



anses

Contamination et adultération des cires d'abeilles : risque pour la santé des abeilles

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Novembre 2025

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 20 novembre 2025

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**relatif à une « évaluation des risques pour la santé des abeilles et de la colonie,
liés aux cires d'abeilles contaminées et/ou adulterées »**

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux, l'évaluation des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des aliments et, en évaluant l'impact des produits réglementés, la protection de l'environnement.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L. 1313-1 du Code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses s'est autosaisie le 15 mars 2022 pour la réalisation de l'expertise suivante : identifier les substances de contamination et d'adultération des cires d'abeilles en France ; identifier les dangers et les risques associés à ces substances pour la santé des abeilles et de la colonie ; proposer des recommandations visant un meilleur contrôle de la situation en France et l'apport d'outils pour la gestion du risque par les apiculteurs.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La survie des colonies d'abeilles (*Apis mellifera*) est importante économiquement (filiale apicole, pollinisation des espèces cultivées), socialement (espèce emblématique) et pour l'ensemble des écosystèmes (espèce clé de voûte, pollinisation des espèces végétales sauvages). Toutefois, depuis les années 2000, un déclin de la santé des abeilles est constaté avec une origine multifactorielle : modification des paysages, usage de produits chimiques (produits phytopharmaceutiques, produits biocides, médicaments), agents infectieux et parasites, comme l'acarien *Varroa destructor*, etc.

La cire, matériau de construction de la ruche produit par les abeilles, est une substance de composition essentiellement lipidique dont les caractéristiques physico-chimiques permettent

la fixation et la diffusion d'un large variété de résidus de substances chimiques. Dans le cadre d'une conduite classique d'élevage apicole, les cires - dites gaufrées - servent de fondation pour la fabrication des cadres de corps et de hausses de la ruche par les abeilles. Les cires gaufrées sont issues du recyclage de cires d'opercules par refonte puis façonnage en feuilles de cire. La cire est donc susceptible d'être réutilisée pendant plusieurs années, pouvant accumuler des résidus divers. Les produits de la ruche (miel, pain d'abeille, etc.), ainsi que le couvain, du fait de leur stockage dans les alvéoles, sont en contact direct avec la cire et peuvent être contaminés, ce qui conduit non seulement à la contamination de denrées alimentaires destinées à la consommation humaine mais aussi à l'exposition des abeilles à des substances néfastes pour leur santé. Ainsi, ces cires contaminées pourraient être un facteur contribuant au déclin observé des abeilles mellifères.

La production de cire d'abeilles est directement liée à la production de miel et les besoins français en cire d'abeilles dépassent la capacité de production nationale, d'où le recours à l'importation de cire dont la quantité et la qualité sont, en 2025, mal connues. Il est estimé que les deux tiers de la cire vendue en France seraient d'origine étrangère, bien qu'il n'existe pas de données officielles. L'utilisation de cire importée rend possible la présence de substances chimiques contaminantes interdites en France. De récents rapports font également le constat de l'adultération de la cire et de ses conséquences sur la santé des abeilles et de la colonie (Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire 2018)¹, (European Food Safety Authority (EFSA) 2020)².

L'exposition chronique par la cire, du couvain et des abeilles adultes à des substances contaminantes, est susceptible d'avoir un impact sur le développement, la santé et la survie des abeilles à leurs différents stades de développement (larves, nymphes et adultes) et par conséquent sur la santé de la colonie. Les effets de l'exposition chronique du couvain et des abeilles pourraient être la conséquence d'effets isolés et spécifiques de ces substances contaminantes et adultérantes, mais aussi de leurs effets combinés, additifs, voire synergiques.

Si la cire en tant qu'additif alimentaire, destinée à l'alimentation humaine, est soumise à une réglementation fixant des limites maximales de résidus (LMR) pour certaines substances chimiques susceptibles d'être contenues dans les produits de la ruche au sens large (règlement (CE) n°396/2005)³, il n'existe pas de réglementation spécifique concernant la teneur en résidus pour la cire en tant qu'intrant de la ruche. Concernant les substances pharmacologiquement actives, provenant de médicaments vétérinaires à destination des abeilles, des LMR sont établies pour le miel uniquement (règlement (UE) n°37/2010⁴). Aucune évaluation de résidus n'est requise pour la cire dans le cadre de l'évaluation des médicaments vétérinaires, ce qui n'encourage pas la mesure et collecte de données relatives au niveau de contamination des cires après traitement et recyclage d'année en année.

Concernant l'adultération des cires en France, l'absence de données officielles n'a pas permis jusqu'alors d'identifier et de caractériser les dangers que représentent les cires adultérées pour la santé de l'abeille et de la colonie.

¹ https://www.favv-afsa.be/comitescientifique/avis/2018/_documents/Avis18-2018_SciCom2016-27_residus_cire_santeabeilles.pdf

² <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/sp.efsa.2020.EN-1859>

³ Règlement (CE) 396/2005 : *il y a lieu de veiller à ce que les niveaux de ces résidus ne présentent pas des risques inacceptables pour les êtres humains et, le cas échéant, pour les animaux. Les LMR devraient être fixées au niveau le plus faible raisonnablement atteignable compatible avec les bonnes pratiques agricoles pour chaque pesticide, afin de protéger les groupes vulnérables, tels que les enfants et les fœtus et embryons.* <http://data.europa.eu/eli/reg/2005/396/oj/fra>

⁴ Règlement (UE) n° 37/2010 relatif à la limite de résidus de substances pharmacologiquement actives dans des aliments d'origine animale : [http://data.europa.eu/eli/reg/2010/37\(1\)/oj/fra](http://data.europa.eu/eli/reg/2010/37(1)/oj/fra)

L'absence de cadre réglementaire relatif aux résidus de substances chimiques ou adultérantes dans les cires a conduit l'Agence à se questionner sur le risque spécifique des cires recyclées et/ou adultérées à travers les questions suivantes :

- quelles sont les données existantes quant aux résidus de contaminants et d'adultérants dans les cires en France hexagonale ?
- Compte tenu des données présentes en France hexagonale, quel est le risque lié aux contaminations des cires d'abeilles par les produits phytopharmaceutiques, les biocides et les médicaments vétérinaires pour la santé des abeilles et de la colonie ?
- Compte tenu des données disponibles, quels sont les dangers liés à l'adultération des cires d'abeilles pour la santé des abeilles et de la colonie (caractérisation des dangers et le cas échéant, risque associé) ?
- Compte tenu des risques évalués et de l'objectif souhaité, quelles sont les recommandations qui permettraient de mieux contrôler la situation en France hexagonale ?

Les DROM (départements et régions d'outre-mer) n'appartiennent pas au périmètre défini pour cette autosaisine. En outre, ces travaux sont circonscrits à la santé des abeilles et de la colonie et ne documentent pas les risques dans le champ de la santé humaine susceptible de résulter des contaminations étudiées.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Janvier 2024) ».

L'Anses a confié au groupe de travail « Cires d'abeilles », rattaché au comité d'experts spécialisé « Santé et bien-être des animaux (CES SABA) » l'instruction de cette saisine. Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis régulièrement au CES, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES. Ces travaux sont ainsi issus de collectifs d'experts aux compétences complémentaires.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES ET DU GT

3.1. Production et fonctions de la cire d'abeilles

Les abeilles sécrètent naturellement de la cire qu'elles utilisent comme matériau de construction pour former les rayons de la ruche composés d'alvéoles. La cire occupe une place centrale dans la vie de la colonie en constituant le berceau du couvain et le contenant pour les réserves de la colonie. Elle est en contact étroit avec les éléments qui assurent la survie de la

colonie : œufs, larves, nymphes et nourriture. Elle assure également l'isolation physique et thermique et un rôle de biosécurité vis-à-vis de certains agents pathogènes. Elle est caractéristique de la colonie par son odeur et le fait qu'elle retrace l'historique de l'exposition de la colonie par l'accumulation de certaines substances chimiques contaminantes au cours des années. Cette accumulation peut lui conférer des propriétés toxiques, mais inversement, la cire joue aussi le rôle de tampon protecteur des produits apicoles (pollen, pain d'abeilles, etc.) par l'absorption et le stockage des produits chimiques lipophiles potentiellement dangereux.

3.2. Composition de la cire d'abeilles et réglementation associée

La cire d'abeilles est caractérisée par ses propriétés physico-chimiques et sa composition fine, notamment en hydrocarbures. Ses propriétés physico-chimiques sont décrites par la Pharmacopée Européenne⁵ dans le cas de son utilisation comme additif alimentaire et ce sont celles qui sont utilisées, en pratique, pour la cire à usage apicole. Elle est composée essentiellement d'esters d'acides gras à longue chaîne et d'esters d'alcools ainsi que de faibles quantités d'hydrocarbures et d'autres substances. Ses propriétés physico-chimiques ainsi que sa composition en hydrocarbures peuvent être utilisées afin d'en évaluer la qualité, et l'éventuelle adultération.

L'adultération de la cire d'abeilles est caractérisée par la présence d'un ou de plusieurs ingrédients n'entrant pas dans la composition naturelle du produit. Comme aucun critère de composition ou de teneur maximale en substances contaminantes ou adultérantes n'a été défini par la réglementation, il n'existe pas de définition de conformité d'une cire à usage apicole et il n'est ainsi pas possible de recourir à des analyses à des fins de contrôles officiels. Les cires sont toutes importées sous forme de pains de cire et doivent répondre à la réglementation applicable aux sous-produits animaux de catégorie 3⁶, quel que soit leur usage à venir. Sans distinction des usages futurs, les contrôles effectués ne peuvent être spécifiques à leur arrivée. Des règles spécifiques sont en revanche prévues par la réglementation européenne pour trois usages auxquels la cire d'abeilles peut être destinée : additif alimentaire, usage cosmétique, usage pharmaceutique.

La cire utilisée comme un matériel d'élevage à usage apicole contrairement à celle destinée à la consommation humaine en tant qu'additif alimentaire (E901), est réglementairement assimilée à un sous-produit d'origine animale de catégorie 3, catégorie de sous-produits animaux présentant le moins de risque pour la santé animale et humaine.

3.3. Utilisations et pratiques apicoles de la cire d'abeilles

L'élevage des abeilles permet à l'apiculteur de récolter du miel, du pollen, de la gelée royale et de la propolis. La cire correspond également à une production, mais non prise en compte dans les données officielles des productions apicoles. Récupérable et recyclable, elle présente pourtant une importante valeur marchande (le prix du pain de cire d'abeilles destiné à un usage apicole en vente directe, se situe entre 13 et 40 € par kilo). Les apiculteurs sont généralement classés en trois catégories : familiaux (1 à 49 colonies), pluriactifs (50 à 149 colonies) et professionnels (plus de 150 colonies) (FranceAgriMer 2024). Les catégories « familiaux » et

⁵ Ph. Eu. 11.0 2528 Cire D'abeille Blanche (01/2008) et Ph. Eu. 11.0 2529 Cire D'abeille Jaune (01/2008))

⁶ 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). <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2009/169/oj/fra>

« pluriactifs » sont regroupées pour cette expertise sous le terme d'apiculteurs de loisir. En France, en 2024, 68 571 apiculteurs déclaraient 1 858 646 colonies, avec une répartition déséquilibrée des colonies selon les profils d'apiculteurs. Ainsi, 4,5 % d'apiculteurs professionnels détiennent 70,9 % des colonies, quand 29,1 % appartiennent à 95,5 % de détenteurs de loisir.

3.3.1. Pratiques apicoles

Les ruches utilisées (généralement type Dadant 10 cadres ; cf. Figure 1) sont constituées d'une partie principale : le corps de la ruche, contenant dix cadres abritant le couvain (œufs, larves et nymphes), la reine et les ouvrières ainsi que les réserves alimentaires de la colonie. Une ou plusieurs hausses peuvent surmonter le corps de ruche en période de miellée, ayant pour fonction le stockage du miel destiné à être récolté (cf. Figure 2). Les deux compartiments (corps et hausse) sont individualisés et la cire de cadres du corps est différenciée de la cire de cadres des hausses. La cire d'opercules des alvéoles contenant le miel dans les cadres de hausse peut être récupérée et destinée au recyclage contrairement aux opercules poreux qui recouvrent le couvain.

Le guide de bonnes pratiques apicoles (GBPA) de l'ITSAP⁷ recommande un recyclage des cires d'opercules uniquement, mais les apiculteurs réutilisent parfois non seulement leurs cires de cadres de hausse, mais aussi celles des cadres de corps. Le GBPA conseille de renouveler annuellement deux à trois cadres, en effectuant une rotation dans le corps de ruche. Pour des raisons de qualité du miel : odeur, débris, transfert de substances, accumulation de substances chimiques, il est également conseillé de remplacer régulièrement les cadres de hausses. Le GBPA précise en outre que les cires d'opercules doivent être fondues séparément des cires de cadres et que pour en éviter toute contamination, les apiculteurs doivent débiter la fonte par les cires d'opercule avant les autres. Les pains de cire issus de la récupération des cires seront identifiés par l'apiculteur en fonction de leur nature (opercules, corps, hausse, ou mélange de cires). Les cires du corps ont contenu du couvain et des réserves et sont souvent de couleur brun foncé à noir, en raison de quantité d'impuretés (cocons, restes de couvain, etc.). Elles ont été exposées à des traitements apicoles acaricides durant plus de deux à trois saisons de production. Selon les bonnes pratiques apicoles (BPA), elles doivent être fondues, décantées et stockées en pains de cire pour être ensuite détruites ou réservées à un usage non apicole. Les cires de cadres de hausse sont de couleur jaune clair à brun clair, mais ont servi durant de nombreuses années. Dans le respect des règles d'utilisation des médicaments vétérinaires apicoles, ces cires n'ont pas été exposées aux traitements acaricides, mais compte tenu de leur ancienneté et conformément aux BPA, elles doivent être fondues, décantées et stockées en pains de cire pour un usage non apicole (cosmétiques, fabrication de bougies, etc.). Seules les cires d'opercules, cires de l'année n'ayant pas été exposées aux traitements acaricides, devraient être, selon les BPA, les seules à pouvoir être recyclées pour une réutilisation en apiculture.

⁷ <https://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/>

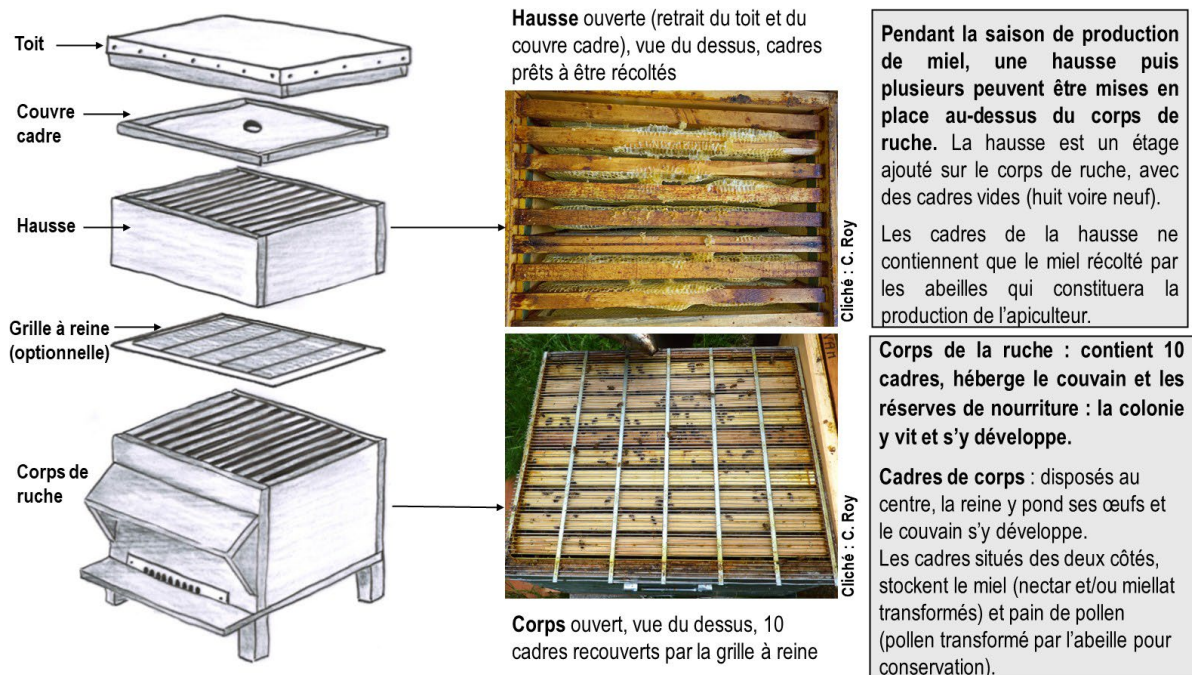


Figure 1 : Représentation d'une ruche Dadant dix cadres (source GT Cires)

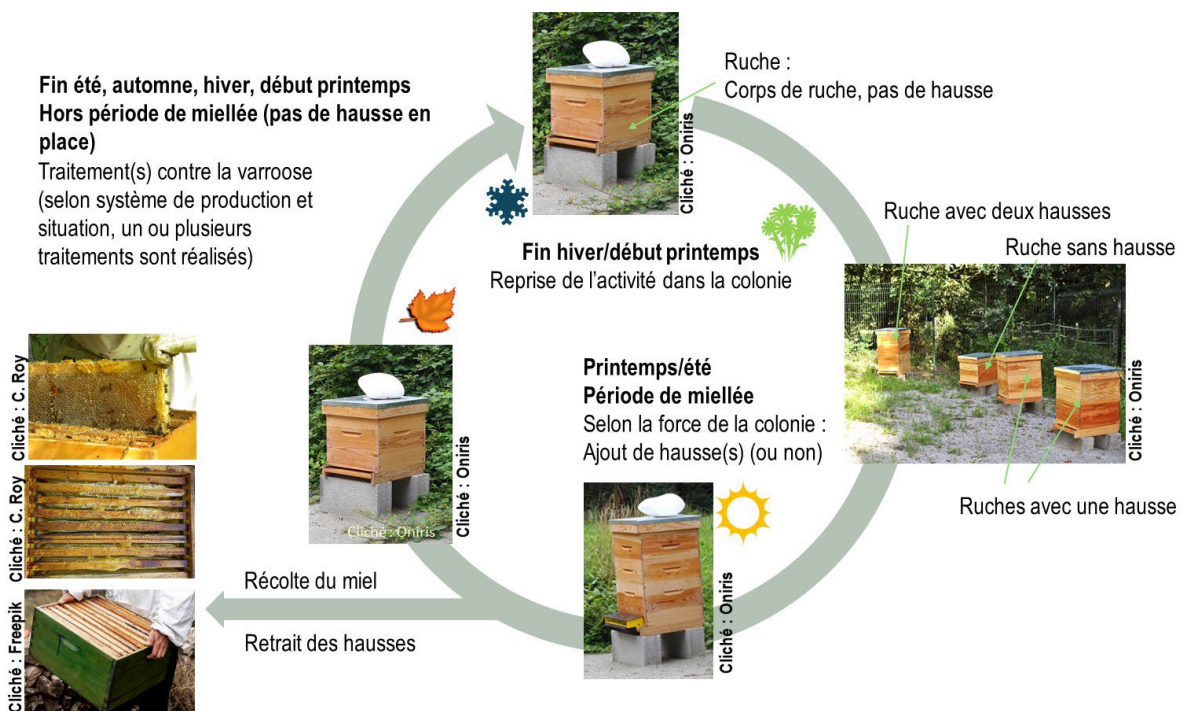


Figure 2 : Évolution de la ruche au cours des saison avec mise en place et retrait des hausses pour la récolte du miel (source GT Cires)

3.3.2. Recyclage de la cire

La première étape du recyclage permettant d'obtenir des pains de cire est réalisée par l'apiculteur, la cire est collectée puis fondue pour former des pains. Les pains de cire destinés à un usage apicole peuvent être transformés en feuilles de cire gaufrée par l'apiculteur lui-même (gaufrage manuel) ; par un professionnel, le cirier (gaufrage d'un lot personnalisé) ; par l'intermédiaire d'un groupement d'apiculteurs ou d'une association (mise en commun de pains de cires de plusieurs apiculteurs) qui pourra décider d'un gaufrage personnalisé ou d'un échange de ces pains contre des feuilles de cires gaufrées vendues par un cirier (gaufrage à façon). Cette transformation des pains de cire en feuilles gaufrées est majoritairement réalisée par les ciriers professionnels. Un minimum de 30 à 50 kg de cire est généralement nécessaire pour réaliser la refonte en cuve puis le gaufrage par le cirier. Outre cette transformation, le cirier peut faire commerce de la cire et vendre des feuilles de cires gaufrées : (1) issues de pains de cire confiés par des apiculteurs, éventuellement organisés en groupements ; (2) issues de pains de cires achetés, en provenance d'Europe par échanges intracommunautaires ; (3) issues de pains de cires achetés, en provenance de pays tiers, par importation ; (4) issues d'un mélange de cires de provenances diverses.

3.4. Marché de la cire d'abeilles

En raison du déficit de production de cires françaises, certains ciriers se procurent, en partie, des pains de cire provenant de l'étranger (conditionneurs, importateurs, etc.). Le prix de la cire varie en fonction de sa présentation et de sa qualité. Lors de l'achat de cire brute, la qualité de la cire est estimée par le cirier en fonction de sa couleur, de son odeur, de sa nature (cire d'opercules ou autres) et du type de production (agriculture biologique (AB) ou conventionnelle). Le circuit des cires tel qu'il existe au moment de la rédaction de cet avis, les intérêts économiques, les niveaux de production sont autant d'éléments qui justifient que soit clairement distingué ce qui devrait être recyclé afin d'être proposé pour un usage apicole. Depuis 2000, la France, produisant annuellement environ 400 tonnes de cire, est le premier pays importateur de cire en Europe, avec presque 1 000 tonnes importées en 2022. Il est estimé qu'environ un tiers des importations annuelles de cire en France est destiné à l'apiculture, les deux autres tiers à l'industrie.

Toute cire importée doit être accompagnée d'un certificat sanitaire comportant des informations relatives à la traçabilité (origine géographique, expéditeur, destinataire, etc.), la quantité, l'attestation de provenance de zones ne faisant pas l'objet de restrictions particulières vis-à-vis de certains dangers sanitaires. Les cires peuvent être soumises à une vérification documentaire du certificat, à laquelle s'ajoute la possibilité de réaliser d'autres contrôles comme des inspections visuelles. Le choix des fournisseurs de cire s'effectue selon des critères de prix et de disponibilité. Une limite importante du système de traçabilité des échanges est l'impossibilité de distinguer la cire de production autochtone par l'État membre, de celle qu'il aurait importée d'un pays tiers.

Pour la France, la traçabilité correspond à l'enregistrement des lots réceptionnés en postes de contrôles frontaliers dans le système européen Traces-NT et à la conservation, par l'acheteur, des certificats sanitaires établis par les vétérinaires officiels. En l'absence de norme associée à la qualité du produit, la législation n'impose aucun contrôle analytique de la cire à usage

apicole, à l'exception des cires conventionnelles susceptibles d'intégrer le circuit AB⁸. Par conséquent, sans normes spécifiques à cet effet, ce sont les ciriers qui définissent le cadre de leurs autocontrôles. Certains grossistes négociants en cire peuvent revendre les cires qu'ils achètent soit pour un usage apicole, soit pour un usage pharmaceutique, cosmétique ou industriel, ce qui augmente la complexité en termes de traçabilité aval d'identification de la destination finale du lot.

3.5. Contamination et adultération de la cire à usage apicole

L'usage important des agents chimiques pour la protection des cultures et les traitements acaricides apicoles ont conduit à une exposition croissante des abeilles à ces deux types de contaminants. L'accumulation de molécules aux propriétés lipophiles dans la cire est supposée dès les années 2000, sans objectivation possible en raison du manque de techniques analytiques. Ces substances lipophiles sont en général chimiquement stables dans la cire et le manque d'élimination et de dégradation spontanée ou active de ces composés se traduit par leur persistance, jusqu'à plusieurs années, avant une éventuelle diminution, sous réserve qu'il n'y ait aucun nouvel apport. La teneur des contaminants chimiques dans la cire est ainsi liée : (1) à la lipophilie des substances utilisées (coefficient de partage octanol/eau : $\text{LogP}_{o/w}$ ⁹) et à leur persistance ; (2) à la présence prolongée de la cire dans la colonie (plusieurs années, selon le taux de renouvellement des cadres) ; (3) au recyclage de la cire et à sa réutilisation pour un usage apicole.

La cire peut également stocker des résidus d'éléments traces métalliques (ETM) issus de l'environnement. Ce terme générique d'ETM désigne des métaux et des métalloïdes pouvant être toxiques. Les principaux ETM émis dans l'atmosphère par les activités humaines sont le Zn (zinc), le Cu (cuivre), le Ni (nickel), le Pb (plomb), le Cr (chrome), l'As (arsenic), le Hg (mercure) et le Cd (cadmium). Ils persistent dans le milieu naturel car ils ne sont pas biodégradables. Des données sur l'exposition des êtres humains aux ETM sont disponibles dans la littérature, mais peu le sont sur l'exposition des colonies d'abeilles et l'impact sur leur santé.

En ce qui concerne l'adultération des cires, les premières anomalies décrites par les apiculteurs datent des années 2000 et correspondent à des constats de non-utilisation par les abeilles de cire nouvellement introduite dans les ruches : les abeilles cirières ne l'étirent pas, ou de façon inégale, et les reines n'y pondent pas, ou de façon irrégulière, quand il ne s'agit pas

⁸ La réglementation en apiculture biologique du règlement (UE) n°2018/848 (http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2018/248/oj/fra) précise les éléments suivants sur la cire :

La cire d'abeilles rentre dans le champ d'application de la réglementation AB et devient donc un produit « certifiable en AB ».

Au cours de la période de conversion, la cire est remplacée par de la cire provenant de l'apiculture biologique.

La cire d'abeilles non biologique peut toutefois être utilisée :

- i) lorsqu'il n'est pas possible de trouver sur le marché de la cire d'abeilles issue de l'apiculture biologique ;
- ii) lorsqu'il a été établi qu'elle n'est pas contaminée par des substances ou produits dont l'utilisation n'est pas autorisée en production biologique ; et
- iii) pour autant qu'elle provienne des opercules des cellules ;

Par dérogation au point 1.3.1, lors du renouvellement des ruchers, 20 % par an des reines et des essaims peuvent être remplacés par des reines et essaims non biologiques dans l'unité de production biologique, à condition que les reines et essaims soient placés dans des ruches dont les rayons ou les cires gaufrées proviennent d'unités de production biologique.

Si un traitement est administré à l'aide de produits allopathiques chimiques de synthèse, y compris des antibiotiques, autres que des produits et des substances dont l'utilisation est autorisée en production biologique conformément aux articles 9 et 24, les colonies traitées sont placées, pendant la période de traitement, dans des ruchers d'isolement et toute la cire est remplacée par de la cire provenant de l'apiculture biologique. Ensuite, la période de conversion de douze mois fixée au point 1.2.2 s'applique à ces colonies.

La cire destinée aux nouveaux cadres provient d'unités de production biologique ;

Seuls des produits naturels tels que la propolis, la cire et les huiles végétales peuvent être utilisés dans les ruches.

⁹ $\text{Log P}_{o/w}$: coefficient de partage octanol/eau (à 20°C) si le $\text{Log P}_{o/w}$ est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement, si le $\text{Log P}_{o/w}$ est négatif cela signifie que la molécule considérée est hydrophile. Un $\text{Log P}_{o/w}$ nul signifie que la molécule est aussi soluble dans un solvant que dans l'autre.

de mauvaise tenue de la cire au cadre suivant son introduction en ruche (affaissement jusqu'à effondrement de la feuille de cire).

En 2016, les apiculteurs ont émis des alertes quant aux risques liés aux cires contaminées et/ou adultérées pour la santé des abeilles et de la colonie. La DGAI (Direction générale de l'alimentation) a en conséquence commandé à la BNEVP (Brigade nationale d'enquête vétérinaire et phytosanitaire) une enquête administrative quant aux cires circulant en France. Des pratiques délictueuses (vis-à-vis du Code de la consommation, article 454-1) ont été constatées et caractérisées, et la DGAI a proposé en 2018 un Plan d'actions cire qui regroupe l'ensemble des décisions prises dans le but d'améliorer la qualité de la cire à usage apicole commercialisée en France. Dix actions constituent ce plan, s'établissant à différents niveaux, d'ordre géographique (international, européen et national), d'ordre sectoriel (collecte, importation, transformation, contrôle, surveillance, recherche, laboratoires) et d'ordre partenarial (DGA, DGCCRF, Anses, filière apicole, ciriers, apiculteurs, etc.). Ce Plan n'est cependant toujours pas publié par le Ministère en charge de l'agriculture au moment de la rédaction de cet avis.

3.6. Évaluation des risques pour l'abeille et la colonie liés à la contamination des cires par des substances chimiques et des éléments traces métalliques

Selon la méthode d'évaluation du risque Afssa (2008)¹⁰, elle-même fondée sur la méthode d'appréciation du risque de l'OIE (2007), le risque s'évalue en estimant : (1) une probabilité d'émission du danger : probabilité de présence de substance(s) contaminante(s) dans les cires ; (2) une probabilité d'exposition de l'individu et/ou de la population au danger ; (3) les conséquences liées au danger sur l'individu et la population.

Le schéma conceptuel synthétisant le processus d'évaluation est représenté en Figure 3.

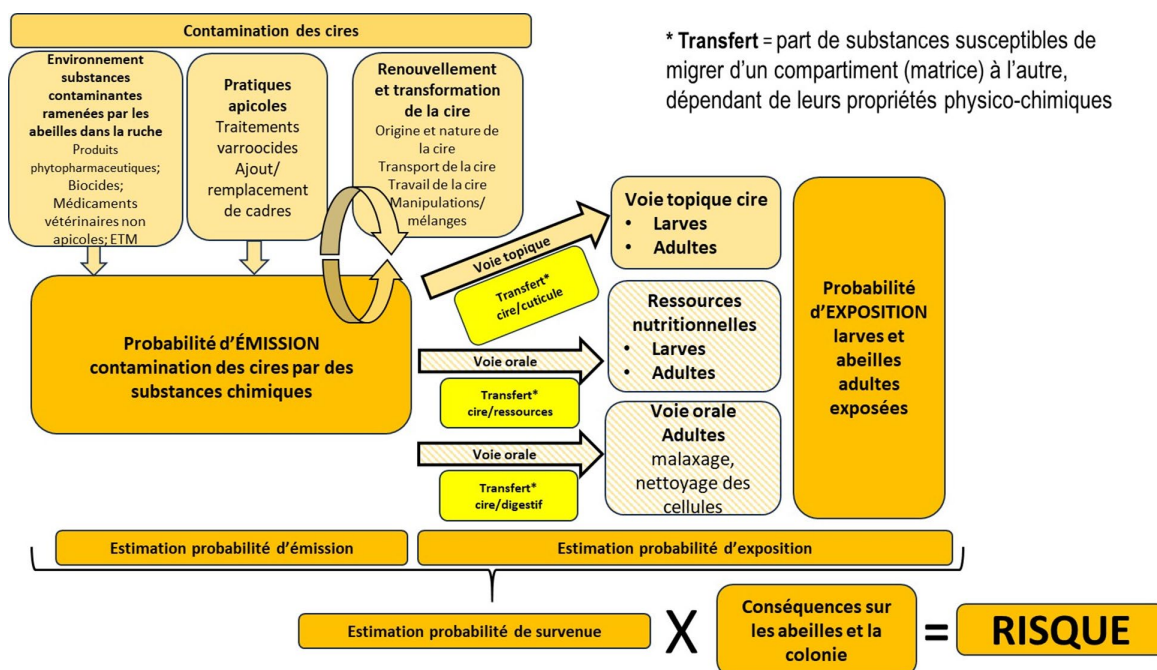


Figure 3 : Schéma conceptuel de l'évaluation des risques pour la santé de l'abeille et de la colonie liés à la contamination de la cire par des substances chimiques et des éléments traces métalliques (ETM) (source : Anses, GT Cires)

¹⁰ <https://www.anses.fr/system/files/SANT-Ra-MethodeRisque.pdf>

3.6.1.Émission : état des lieux de la contamination des cires

➤ État des lieux bibliographique de la contamination des cires

Un bilan bibliographique fondé sur une revue de la littérature a permis de dresser un état des lieux de la contamination des cires circulant en France (cf. chapitre 5.1.1 du rapport associé et son Annexe 4).

Les nombreuses études épidémiologiques descriptives, internationales et européennes révèlent la présence dans les cires (cire brute, cire de corps usagée, cire gaufrée recyclée, etc.) de multiples substances acaricides, dont seulement certaines entrent dans la composition de médicaments vétérinaires apicoles autorisés en France pour la lutte contre *Varroa destructor*. Au regard de la situation d'accumulation et de persistance des substances chimiques dans la cire, de la disparité de statut réglementaire des produits (biocides, médicaments vétérinaires (MV), produits phytopharmaceutiques (PPP)) qui les contiennent, de l'internationalisation du marché de la cire et d'éventuels mésusages de certains produits, la contamination de la cire par des acaricides, qu'ils soient autorisés en France ou non, est systématique. La plupart des auteurs considère que la teneur d'une substance acaricide dans la cire peut être indicateur de la source de contamination : une teneur élevée suggérant un usage thérapeutique varroocide, légal ou illégal, alors qu'une teneur faible résulterait d'une contamination environnementale. Cependant, ce dernier point doit être modulé en fonction de nombreux paramètres, notamment des propriétés physico-chimiques de la substance considérée : solubilité de la molécule dans la cire ($\log P_{ow}$), stabilité, cinétique de dégradation, méthodes d'analyses, etc.

Complexifiant la situation, de nombreuses substances acaricides possèdent également des propriétés insecticides et sont classées comme telles dans les PPP ou biocides, qu'elles soient encore approuvées en Europe ou dorénavant retirées (telles que l'acrinathrine, le bromopropylate ou le chlorfenvinphos). Ces substances insecticides sont donc susceptibles d'entraîner des effets indésirables sur la santé des abeilles et de la colonie.

Seuls les MV apicoles autorisés sont en mesure de garantir une moindre nocivité pour leur santé, au moins en termes de balance bénéfices/risques. Ces acaricides ont été identifiés dans les cires apicoles principalement en Allemagne, Belgique, Espagne, Italie, Suisse, États-Unis et France, dans la mesure où ces pays ont mené des études pour les quantifier contrairement aux cires provenant de autres pays. Cette synthèse bibliographique ne permet donc pas de conclure que seuls ces pays seraient concernés par une contamination de leurs cires à usage apicole. Il semble évident que les cires d'autres pays dans le monde, utilisateurs de substances chimiques de traitement (biocides, MV, PPP), sont également contaminées, mais il n'est pas possible de l'objectiver ni d'en connaître le niveau.

➤ État des lieux de la contamination des cires françaises par des enquêtes de terrain

Pour constituer un état des lieux de la contamination des cires circulant en France, trois sources de données françaises ont été analysées dans le cadre de cette expertise :

- les ciriers français ont été sollicités pour partager leurs données d'autocontrôles sous le couvert de l'anonymat. Cinq ciriers sur 15 ont accepté de partager leurs données et ont envoyé leurs résultats pour un total de 365 échantillons de cires. Il n'a toutefois pas été possible d'obtenir des résultats d'analyses homogènes (différents laboratoires sollicités, différentes limites de détection (LD) et limites de quantification (LQ), différentes listes de

- molécules recherchées) et totalement comparables. Les résultats de cette étude ne sont donc pas représentatifs et doivent être interprétés avec prudence ;
- le réseau des Associations pour le Développement de l'Apiculture (ADA) et l'ITSAP ont réalisé une étude dénommée Cimeqa¹¹, auprès des apiculteurs professionnels français, entre 2021 et 2023, afin de réaliser un état des lieux de la qualité de leurs cires. Un total de 345 échantillons a fait l'objet d'analyses et d'une saisie centralisée dans une base de données. La plupart des apiculteurs répondants sont autosuffisants en cire sur leur exploitation (70,7 %) et l'achat de cire dans le commerce n'est un recours que pour une faible partie d'entre eux (15,7 %), certains achètent aussi leurs cires auprès de collègues apiculteurs (14,6 %) ;
 - une étude, sous la forme juridique d'une convention recherche développement (CRD), a été établie entre l'Anses et l'ITSAP en 2023 pour la présente expertise, dans l'objectif d'étudier la qualité des cires principalement employées par les apiculteurs de loisir et commercialisées par des distributeurs (ciriers, enseignes spécialisées en apiculture, enseignes générales) ou des groupements d'apiculteurs. Cette étude vient compléter l'état des lieux réalisé par Cimeqa, lequel avait principalement pour objet la qualité des cires employées par les apiculteurs professionnels. Un total de 152 échantillons de feuilles de cire gaufrée a pu être analysé. Le rapport complet de cette étude ITSAP/Anses est lié au rapport associé à cet avis et publié sur le site web de l'Agence.

Des résultats des autocontrôles réalisés par les ciriers, il ressort que le nombre de substances chimiques quantifiées par échantillon de cire était compris entre 0 et 34 avec une médiane de 10. Environ 10 % des échantillons de cires étaient exempts des substances chimiques recherchées, mais il est important de rappeler que l'encodage des données ne permettait pas forcément de savoir, en l'absence de détection, si la molécule avait été effectivement recherchée (ou non) (ce qui implique une possible surévaluation de cette part de cires indemnes). L'étude de ces résultats d'analyses d'autocontrôles démontre ainsi la contamination générale des cires par des substances chimiques. Certaines d'entre elles sont particulièrement prévalentes, que ce soit en termes d'occurrence et/ou de teneur (tau-fluvalinate, coumaphos, propargite, etc. cf. Tableau 30 du rapport).

En comparaison des cires qu'emploient les apiculteurs professionnels (données de l'étude Cimeqa), les cires distribuées dans le commerce (données de l'étude ITSAP/Anses) présentent des niveaux de contamination supérieurs (cf. Tableau 1). Il apparaît toutefois que les substances contaminantes les plus fréquemment retrouvées dans ces deux catégories de cires sont globalement les mêmes : le tau-fluvalinate, le coumaphos, le propargite et le PBO (Piperonyl butoxide). Le thymol apparaît en troisième (occurrence) et deuxième (teneur moyenne) positions dans l'étude ITSAP/Anses, mais n'avait pas été recherché dans le cadre de l'étude Cimeqa.

¹¹ Cimeqa : Cires – Méthodes d'évaluation de leur Qualité pour l'Apiculture, piloté par l'ITSAP-Institut de l'abeille. Lauréat de l'appel à projet FranceAgrimer Expérimentation (2021-2023), il réunit les associations de développement apicole de six régions de France (ADA). <https://itsap.asso.fr/articles/dossier-special-projet-cimeqa?fbclid=IwAR3yrQUOZ65mZ2IWWUllg-86NVZyzFSDjxPXerkUQ4W9dRg9dMrr2fAgEJE>

Tableau 1 : Résultats des contaminations des cires des deux études Cimeqa et étude ISTAP/Anses

	Cimeqa	Étude ISTAP/Anses
Nombre d'échantillons	345	152
% d'échantillons contaminés	95,7	100
Nombre de substances moyen par échantillon	4,2	10
Nombre de molécules différentes au total	83	70
Nombre de substances d'activité acaricide et/ou insecticide	31	42
Substances retrouvées dans près de 50 % des échantillons analysés	tau-fluvalinate (65,7 %) coumaphos (62,8 %) propargite (45,7 %)	tau-fluvalinate (92,1 %) coumaphos (86,8 %) thymol (81,6 %) PBO (77,6 %) propargite (76,3 %) fluméthrine (47,4 %) perméthrine (47,4 %)
Substances dont la teneur moyenne était de l'ordre de 0,4 mg/kg ou plus	propargite (0,91 mg/kg) phtalimide (0,51 mg/kg) coumaphos (0,42 mg/kg) pirimiphos M (0,42 mg/kg) tau-fluvalinate (0,38 mg/kg)	propargite (2,21 mg/kg) thymol (1,67 mg/kg) coumaphos (0,86 mg/kg) tau-fluvalinate (0,52 mg/kg) HCH (hexachlorocyclohexane) alpha (0,48 mg/kg)

La présence d'insecticides pyréthrinoïdes (perméthrine et fluméthrine sont retrouvées dans plus de 40 % des échantillons) est plus fréquente dans les cires issues du commerce (cf. colonne étude ITSAP/Anses ; Tableau 1). S'agissant de la qualité des cires en fonction des fournisseurs, le nombre maximum de substances par échantillon est du même ordre (19 et 20, respectivement pour les enseignes générales et spécialisées ; 17 et 18 respectivement pour les ciriers et les groupements). Le nombre minimum de substance(s) présente(s) dans les échantillons varie d'un (ciriers) à cinq (enseignes générales) ; les échantillons issus des groupements et des enseignes spécialisées comportent un minimum de deux substances. Le nombre moyen de substances par échantillon varie également selon les enseignes, avec, par ordre décroissant : enseignes générales (12,8) ; enseignes spécialisées (10,2) ; ciriers (8,7) ; groupements (8,2).

L'origine géographique des cires figurait parmi les données collectées durant les deux études de terrain. L'analyse de cette donnée a montré que les cires d'origine française disponibles dans le commerce sont moins contaminées que celles ayant une origine extraterritoriale (pays de l'UE et hors UE).

S'agissant des ETM, les résultats de l'étude ITSAP/Anses rassemblent un nombre particulièrement élevé d'analyses, rarement atteint dans les études bibliographiques disponibles. Ces résultats montrent que les moyennes, médianes et teneurs maximales des ETM retrouvés sont assez voisines des intervalles de valeurs publiés dans la littérature, voire inférieures. Le zinc et l'aluminium sont les plus fréquemment détectés dans les cires gaufrées vendues en France pour un usage apicole, avec respectivement une présence dans plus de 50 % et de 30 % de cires analysées. Le plomb fait exception car, bien que détecté dans seulement 5,92 % des cas, les valeurs quantifiées moyenne (1,3 mg/kg) et médiane (1,25 mg/kg) sont supérieures à celles de la majorité des études publiées. Toutefois, les résultats de l'étude ITSAP/Anses sont issus d'analyses de feuilles de cires gaufrées neuves tandis que les données bibliographiques intègrent tout type de cires parmi lesquelles des cires noires anciennes et, par nature, plus contaminées. Les résultats de l'étude ITSAP/Anses démontrent donc une contamination des cires à usage apicole pour certains ETM parmi ceux recherchés.

Les trois sources de données françaises analysées dans ce rapport (autocontrôles réalisés par des ciriers, études Cimeqa et ITSAP/Anses) amènent à plusieurs constats. Si certains sont attendus, comme la confirmation de fréquences importantes d'occurrence des substances acaricides apicoles retrouvées dans les cires, actuellement ou auparavant autorisées (tau-fluvalinate, coumaphos, thymol pour la seule étude l'ayant recherché, métabolites de l'amitrazé, fluméthrine), d'autres sont moins prévisibles comme les occurrences du propargite, de la diphénylamine ou de certains insecticides, par exemple des pyréthriinoïdes, des organophosphorés ou des organochlorés.

- *Présence de substances acaricides dont l'usage est autorisé en tant que médicament vétérinaire apicole*

Le **tau-fluvalinate** est l'acaricide apicole le plus fréquemment présent (65,7 % pour l'étude Cimeqa, 74,8 % pour les autocontrôles et 92,1 % pour l'étude ITSAP/Anses), ce qui peut être lié à son utilisation comme acaricide apicole depuis de nombreuses années, ainsi qu'à ses propriétés d'accumulation et de persistance au sein de la cire. Sa fréquence d'occurrence relativement moins élevée dans l'étude Cimeqa pourrait refléter la différence entre les pratiques professionnelles et non professionnelles (autorenouvellement des cires, moindre utilisation du tau-fluvalinate comme varroocide).

L'**amitrazé et ses métabolites** ont une fréquence d'occurrence intermédiaire (de 30 à 50 % environ) avec des teneurs relativement limitées.

Le **thymol** n'a été recherché qu'au cours des analyses réalisées pour l'étude ITSAP/Anses. Il est très fréquemment présent dans les cires échantillonnées, puisque sa fréquence d'occurrence est de 81,5 %. De plus, sa teneur moyenne dans la cire, de 1,669 mg/kg, est considérée très élevée par les experts. Les experts estiment nécessaire de conduire d'autres études dans la cire sur la présence du thymol, acaricide apicole utilisable en production AB. Certaines publications indiquent que la cire représente une matrice favorable au stockage du thymol, avec une dissipation limitée et inférieure à 20 % (Manzano Sánchez et al. 2021).

La **fluméthrine** n'est observée fréquemment que pour les échantillons de l'étude ITSAP/Anses, avec une occurrence de 47,3 % et une teneur moyenne de 0,097 mg/kg. Cette substance a été autorisée plus récemment (2017) que d'autres (telles que tau-fluvalinate, amitrazé) en tant que MV apicole pour lutter contre varroa et son utilisation reste relativement modeste, notamment chez les apiculteurs professionnels, ce qui pourrait expliquer qu'elle ne soit pas aussi fréquemment retrouvée dans les autres études.

- *Présence de substances non autorisées en tant que médicament vétérinaire apicole*

Les substances acaricides retrouvées dans les cires dont l'autorisation est révoquée sont le coumaphos et, dans une moindre mesure, le bromopropylate¹². Ce dernier, dont l'utilisation en tant que PPP a été interdite en 2003 (avant le coumaphos), n'a été retrouvé à une fréquence supérieure à 15 % que dans les données issues des autocontrôles des ciriers (17,8 %).

Le **coumaphos** occupe la deuxième position (Tableau 1) dans les données des trois études, derrière le tau-fluvalinate : 65,2 % pour les autocontrôles, 62,8 % pour l'étude Cimeqa et

¹² Le bromopropylate était jusqu'en 2003 indiqué pour le traitement de l'acapidose, parasitose des trachées de l'Abeille provoquée par *Acarapis woodi*. Inefficace contre *V. destructor*, son autorisation d'utilisation n'a pas été maintenue.

86,8 % pour l'étude ITSAP/Anses. Ces fréquences très importantes s'accompagnent de teneurs moyennes importantes selon les experts, respectivement 0,708 mg/kg, 0,420 mg/kg et 0,857 mg/kg.

Le **propargite**, substance aux propriétés acaricides de la famille des sulfites esters, était autorisé en Europe, en tant que PPP jusqu'en 2011. Pour autant, son occurrence est de 39,5 % pour les autocontrôles, de 45,7 % pour l'étude Cimeqa et de 76,3 % pour l'étude ITSAP/Anses, ce qui en fait une substance plus fréquemment retrouvée que certains acaricides apicoles autorisés (la fluméthrine par exemple). Le fait de retrouver cette substance à une telle fréquence reste une interrogation, son utilisation en tant que PPP n'étant plus autorisée en Europe depuis de nombreuses années. Ces observations pourraient témoigner de son éventuelle persistance dans l'environnement, ou de son hypothétique accumulation et persistance dans la cire. Néanmoins, sa présence, en tant que contaminant d'origine strictement environnementale, est d'autant plus difficile à expliquer que ses teneurs moyennes observées pour les trois études sont particulièrement élevées selon les experts. Avec une teneur moyenne de 1,405 mg/kg pour les autocontrôles des ciriers, le propargite se trouve devant le coumaphos et le tau-fluvalinate. La teneur moyenne du propargite était de 0,906 mg/kg pour l'étude Cimeqa, ce qui le place largement au premier rang de cette étude, et de 2,214 mg/kg pour l'étude ITSAP/Anses, ce qui lui procure également la première position, devant le thymol, le coumaphos et le tau-fluvalinate dans cet ordre.

Même en excluant les deux substances autorisées en tant qu'acaricides apicoles (tau-fluvalinate et fluméthrine), les substances de la famille des **pyréthrinoïdes** sont très présentes dans les cires analysées pour les trois études, tant en termes de fréquences que de teneurs : la deltaméthrine, peu souvent présente mais hautement toxique pour l'abeille, la cyperméthrine (38,4 % des autocontrôles), la perméthrine (47,3 % des cires de l'étude ITSAP/Anses et 37,5 % des cires des autocontrôles), l'acrinathrine (20,3 % des cires des autocontrôles), la tétraméthrine, la bifenthrine, etc.

Parmi les substances les plus fréquemment retrouvées, il convient d'évoquer la présence extrêmement fréquente du PBO (pipéronyl butoxide)¹³ : 33 % des échantillons de Cimeqa, 48,8 % des échantillons des autocontrôles des ciriers et 77,6 % de ceux de l'étude ITSAP/Anses pour une teneur moyenne de 0,152 mg/kg dans cette dernière étude.

Les **organochlorés** comme les isomères du HCH (alpha, bêta, gamma [lindane] et delta-HCH) ou le DDT (Dichlorodiphényltrichloroéthane) sont encore actuellement régulièrement présents dans les cires étudiées, malgré l'arrêt de leur utilisation depuis une trentaine d'années. Respectivement 19,2 % et 16,4 % des cires des autocontrôles des ciriers contiennent du DDT et du lindane (teneurs moyennes de 0,83 mg/kg en bêta-HCH et 0,534 mg/kg en alpha-HCH), et par ailleurs 8,6 % des cires de l'étude Cimeqa sont contaminées par du lindane. En ce qui concerne les échantillons de cires de l'étude ITSAP/Anses, bien que peu fréquemment contaminés, ils le sont à des teneurs non négligeables : 0,483 mg/kg pour l'alpha-HCH et 0,28 mg/kg pour le bêta-HCH, respectivement au 5^{ème} et 6^{ème} rang des teneurs moyennes (juste derrière le coumaphos à 0,857 mg/kg et le tau-fluvalinate à 0,520 mg/kg), et 0,112 mg/kg pour le delta-HCH (au 12^{ème} rang, devant le chlorfenvinphos, la fluméthrine et la perméthrine).

Enfin, il semble que les cires issues de l'étude Cimeqa soient plus fréquemment contaminées par des produits phytopharmaceutiques fongicides voire herbicides, ce qui pourrait être le

¹³ Le PBO (pipéronyl butoxide) est un synergisant inclus dans la plupart des spécialités phytopharmaceutiques contenant des pyréthrinoïdes : il renforce leur efficacité insecticide.

reflet des pratiques apicoles des apiculteurs professionnels et de la conduite de leurs colonies (miellées sur grandes cultures monovariétales, par exemple).

3.6.2. Exposition des abeilles et de la colonie aux substances chimiques contenues dans la cire

L'exposition des individus de la colonie à la cire contaminée par des substances chimiques s'effectue par contact cuticulaire (voie topique), par ingestion directe de la cire (malaxage) ou indirectement par transfert des substances chimiques entre la cire et les ressources nutritionnelles contenues dans les alvéoles.

➤ Exposition liée au transfert de substances chimiques entre matrices

La distribution des résidus d'acaricides dans les matrices de la ruche montre que la cire d'abeilles est plus fortement contaminée que le miel, le couvain ou les abeilles adultes (Albero, Miguel, et García-Valcárcel 2023). Il est admis par la communauté scientifique que les substances chimiques contaminantes s'accumulent dans la cire et migrent ensuite vers d'autres matrices apicoles telles que le pain d'abeilles, le miel et le couvain dans des conditions de terrain réalistes (Alkassab et al. 2022; Murcia Morales et al. 2020). La tendance des contaminants à diffuser, à se disperser ou à s'accumuler dans les matrices autres que la cire est conditionnée par différents facteurs, comme la teneur initiale de ces contaminants dans la cire de fondation, les diverses propriétés physico-chimiques de ces substances (solubilité dans l'eau, pression de vapeur, structure moléculaire, valeur de Log $P_{o/w}$ et lipophilie) (Goss et Schwarzenbach 2001; Shimshoni et al. 2019), les traitements vétérinaires appliqués par les apiculteurs, la durée d'application du traitement varroocide le cas échéant et la température de la colonie. De plus, il est supposé que l'impact des contaminants varie selon le stade de développement de l'abeille (couvain ou adulte) et la voie d'exposition des individus. Le couvain d'abeilles, élevé en conditions naturelles, est ainsi exposé à des PPP, des biocides et des résidus de MV apicoles, que ce soit par contact direct avec l'environnement ou par de la cire contaminée et du pain d'abeilles, même si ces produits n'ont pas été directement appliqués sur la ruche (Piechowicz et al. 2021).

Enfin, les cires sont généralement contaminées par plusieurs résidus et les effets combinés de ces substances nécessitent d'être pris en compte. Le PBO est la seule substance pour laquelle l'effet synergique avec d'autres substances (les pyréthrinoïdes) est connu. Des modèles analytiques, notamment ceux basés sur la fugacité appliquée aux produits chimiques organiques non ionisés, peuvent aider à mieux comprendre la distribution de ces contaminants dans l'écosystème de la ruche (Tremolada et al. 2004). Le GT Cires n'a cependant pas eu accès à ces modèles.

➤ Scénarios d'exposition des abeilles aux substances chimiques contaminantes contenues dans la cire

Dans une première démarche les experts du GT ont exploité les travaux réalisés par le Comité scientifique de l'AFSCA (Wilmart et al. 2021; Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire 2018) qui permettaient à partir de trois scénarios d'exposition, d'établir des teneurs maximales ou teneur acceptable provisoire (TAP) pour chaque substance présente dans les échantillons de cires analysés. Au-delà de telles teneurs, un risque existe pour les abeilles et la colonie. Cette démarche a permis au GT de tester et d'analyser ses données

(cf. chapitre 5.2.3 du rapport associé). Les experts ont finalement retenu une démarche d'évaluation quantitative et additive du risque lié aux substances chimiques en présence, décrite en chapitre 3.6.4. de cet avis.

Le groupe de travail a utilisé les trois scénarios d'exposition définis antérieurement par le Comité scientifique de l'AFSCA :

- scénario n°1 : exposition des larves par contact étroit avec la cire des alvéoles dans lesquelles elles se développent ;
- scénario n°2 : exposition des larves par ingestion de gelée royale et de pain d'abeilles contaminés par la cire lors de leur stockage dans les alvéoles ;
- scénario n°3 : exposition des abeilles adultes par malaxage de la cire lors de la confection des alvéoles dans un scénario maximaliste qui correspondrait à une ingestion de cire.

3.6.3. Conséquences de la présence de substances chimiques dans la cire sur la santé des abeilles et de la colonie

Le corpus bibliographique analysé pour l'étude des conséquences de la contamination chimique de la cire pour la santé des abeilles et de la colonie souligne le manque de connaissances sur la contribution réelle des cires contaminées dans les phénomènes de mortalité et d'affaiblissement des colonies, en particulier lors d'expositions chroniques. Néanmoins, la cire représente un compartiment significatif de contamination des produits de la ruche et d'exposition pour les abeilles, pouvant avoir un impact non négligeable sur la santé globale des colonies. Les effets les plus marqués ont été mesurés à des teneurs en contaminants nettement supérieures (de 10 fois jusqu'à plus de 10 000 fois) aux teneurs moyennes issues des données françaises (autocontrôles de ciriers, études Cimeqa et étude ISTAP/Anses). Néanmoins, quelques résultats très proches des conditions réelles d'exposition relevés dans les études analysées peuvent être retenus :

- une corrélation entre la présence de chlorfenvinphos (0,033 mg/kg en moyenne) dans la cire utilisée par les apiculteurs et une mortalité hivernale accrue des colonies (El Agrebi et al. 2020) ;
- des taux d'éclosion réduits et des anomalies de développement lorsque les larves sont exposées à des teneurs de l'ordre de 30 mg/kg de coumaphos. Au-delà de ce seuil, une mortalité larvaire est observée (Kast et Kilchenmann 2022) ;
- le développement d'un modèle permettant de mettre en évidence les effets délétères de certaines substances (par exemple : chlorpyrifos-éthyl, acrinathrine) sur l'expression de gènes liés à l'immunité et à la détoxification (El Agrebi et al. 2024).

Enfin, il convient de noter que la pression de sélection continue sur *V. destructor* liée à la contamination quasi-généralisée des cires par des acaricides, favorise l'émergence de souches tolérantes aux traitements conventionnels.

3.6.4. Risque pour la santé des abeilles et de la colonie, lié aux cires contaminées par des substances chimiques

Après avoir utilisé une première méthode (calcul de teneurs acceptables provisoires par substance) pour analyser les données de l'étude ITSAP-Anses, dans le cadre d'une évaluation du risque lié à la contamination chimique de la cire pour la santé des abeilles et de la colonie, le GT a opté pour une méthode quantitative et additive des substances présentes dans les

échantillons de cire analysés et tenant compte de leur toxicité intrinsèque. L'évaluation quantitative du risque chimique associé à une cire contaminée repose sur l'utilisation d'indicateurs tels que le quotient de risque (QR), calculé par l'outil Bee Tox wax développé par l'Université de Liège (Belgique) et le rapport exposition/toxicité (ETR, *Exposure Toxicity Ratio*) calculé et utilisé par l'ITSAP. Pour une première approche, en l'absence de modèle tenant compte d'éventuels effets synergiques ou antagonistes des molécules entre elles, les outils utilisés sont fondés sur l'addition des effets toxiques de chacune. L'ETR a été majoritairement utilisé par l'ITSAP pour analyser la base de données Cimeqa, le QR a été utilisé pour les trois bases de données de françaises (autocontrôles des ciriers, études Cimeqa et CRD), c'est donc l'outil Bee Tox Wax qui est présenté ci-après. Les deux outils font l'objet d'une description dans le rapport associé au présent avis (cf. chapitre 5.4.1.2 du rapport).

➤ Outil d'évaluation du risque chimique d'une cire : Bee Tox Wax (Univ. Liège)

Un outil en ligne, Bee Tox Wax¹⁴, permet aux apiculteurs et aux négociants en cires d'estimer la qualité toxicologique d'une cire destinée aux abeilles mellifères. Le calcul repose sur les teneurs en substances chimiques contaminantes présentes dans l'échantillon analysé et rapportées dans les résultats d'analyse de laboratoire, ainsi que les valeurs de DL₅₀ (dose létale médiane aiguë) de chaque substance selon l'Équation suivante :

Équation : formule permettant de calculer le quotient de risque (QR)

$$\text{Quotient de risque (QR)} = ((C_1/D_1) + (C_2/D_2) + \dots + (C_n/D_n)) \times 1\,000$$

C_n = Concentration en mg/kg de la substance n

D_n = Dose létale aiguë de contact (µg/abeille) de la substance n
n substances

Cet outil donne un avis automatisé en temps réel sur la toxicité de la cire analysée et sa possible réutilisation en apiculture fonction de seuils définis dans la littérature scientifique actuelle :

- **QR < 250** : le risque chimique est jugé acceptable et la cire considérée comme étant de bonne qualité ;
- **250 < QR < 5 000** : avec une toxicité significative, la cire est classée dans la catégorie de qualité intermédiaire (Calatayud-Vernich et al. 2019) ;
- **QR > 5 000** : cire à toxicité élevée, considérée comme étant de mauvaise qualité (Traynor et al. 2016).

➤ Risque chimique évalué pour les cires circulant en France

L'analyse des trois sources de données de cires en France (autocontrôles des ciriers, études Cimeqa et étude ISTAP/Anses) met en évidence une moindre qualité toxicologique pour les cires dont la provenance n'est pas française (différence statistiquement significative). Aucune cire issue de mélanges UE/hors UE ne présente une qualité acceptable (QR < 250) pour un usage apicole.

Les analyses des échantillons de cire réalisées pour l'étude Cimeqa et pour l'étude ITSAP/Anses peuvent être comparées car elles reposent sur les mêmes méthodes d'analyses

¹⁴ [Bee Tox Wax: outil de calcul de toxicité des cires \(FMV ULiège\)](#)

de laboratoires (mêmes substances recherchées et même LD¹⁵ et LQ). Le même nombre de substances a été recherché, à l'exception du thymol, qui ne l'a été que pour l'étude ITSAP/Anses.

Les écarts de qualité constatés entre les cires sont en cohérence avec les pratiques des différentes catégories de fournisseurs et avec la réglementation et les pratiques (en cours au moment de la rédaction de cet avis) des pays d'origine concernant les substances toxiques pour les abeilles. Les résultats sont plus favorables pour les cires issues de l'autorenouvellement (différence statistiquement significative). Avec 4,6 % (16/345) des échantillons présentant un score de QR > 5 000, les cires des apiculteurs professionnels de l'étude Cimeqa semblent moins contaminées que celles analysées en autocontrôles par les ciriers et dans le cadre de l'étude ITSAP/Anses, cires pour lesquelles ce seuil de 5 000 est dépassé respectivement dans 35,6 % (21/59) et 38,8 % (59/152) des échantillons. Les cires les moins contaminées sont quant à elles retrouvées essentiellement parmi les cires des apiculteurs professionnels : dans ce groupe, 80,1 % des cires (270/345) ont un score de QR < 250, contre 30,3 % (46/152) seulement des cires provenant de l'étude ITSAP/Anses. Pour les autres voies d'approvisionnement, les meilleurs résultats sont obtenus pour les cires provenant des groupements d'apiculteurs puis des ciriers, en comparaison des cires issues des enseignes spécialisées et générales. Les proportions de cires dépassant le seuil de QR de 5 000 sont de 16 % pour les groupements, de 32 % pour les ciriers, de 45 % pour les enseignes spécialisées et de 70 % pour les enseignes générales. Aucun des échantillons de cire en provenance des enseignes générales n'a été classé dans la catégorie des cires présentant une qualité acceptable (QR < 250), tandis que seulement 20 % des échantillons des enseignes spécialisées se trouvaient dans cette catégorie. En revanche, les proportions de cires présentant un risque acceptable étaient de 41 % pour les ciriers et de 53 % pour les groupements. Pour les cires vendues par les ciriers et les enseignes, en plus de présenter une plus grande diversité de substances et à des teneurs très élevées (notamment pour le thymol), la fréquence d'occurrence de certaines d'entre elles interpelle, en particulier pour le PBO, retrouvé dans tous les échantillons des enseignes générales, même si les teneurs observées sont relativement faibles (proches de 0,5 mg/kg).

Le QR est défavorable aux cires de mélange (mélange cires d'opercules et autres), puisqu'il est 20 fois supérieur à celui des cires d'opercules. De plus, les valeurs de QR calculées pour les échantillons de cires d'opercules se situent presque toutes en dessous du seuil de 250, considéré comme acceptable dans la littérature scientifique, et seules 13 % de ces cires présenteraient un risque chimique élevé (QR > 5 000) en raison de leur forte teneur en contaminants. À l'inverse, seuls 17 % des échantillons de cires de mélanges présentent un QR inférieur au seuil acceptable (QR < 250), tandis que 57 % d'entre elles présenteraient un risque chimique élevé (QR > 5 000) pour les abeilles, lié à leur teneur importante en substances contaminantes. Bien que de meilleure qualité, les cires d'opercules ne sont pas totalement exemptes de contamination, car tous les échantillons de cette catégorie contiennent au moins une substance contaminante. Néanmoins, la diversité des molécules quantifiées dans ces cires est généralement moindre et elles y sont présentes à des teneurs plus faibles que dans les cires de mélange, ces dernières présentant des résultats de QR significativement moins favorables. Les cires d'opercules doivent donc toujours être privilégiées pour le recyclage et le choix de cires gaufrées (tel que recommandé par les BPA) par rapport aux cires de mélange.

¹⁵ LD = limite de détection du laboratoire pour une molécule donnée ; LQ = limite de quantification du laboratoire pour une molécule donnée.

➤ Risque chimique évalué selon le type de substances présentes dans les cires circulant en France

L'analyse des résultats en tenant compte de la part de QR spécifique des MV acarides apicoles présents dans les échantillons rappelle l'importance du respect des bonnes pratiques d'application et de la posologie de ces médicaments. Ainsi, même si le thymol présente une DL_{50} assez élevée, ce qui en fait une substance intrinsèquement peu toxique pour les abeilles, les teneurs importantes, quantifiées pour cette molécule dans plus de 80 % des échantillons de l'étude ITSAP/Anses, montrent que le thymol impacte la qualité toxicologique des cires analysées. La fluméthrine, compte tenu de sa toxicité intrinsèque forte, doit faire l'objet d'une attention particulière quant aux doses d'application, car elle peut être à l'origine d'une dégradation rapide de la qualité de la cire en cas de dépassement des doses autorisées, qui plus est, si elle est associée dans la cire à certains agents synergisants des pyréthrinoïdes comme le PBO. Toutefois, les échantillons pour lesquels les acaricides représentent une part élevée du QR total sont plus fréquemment classés dans la catégorie des cires de bonne qualité, c'est-à-dire celles dont le QR est inférieur ou égal à 250. Autrement dit, de manière globale, le retrait des résidus d'acaricides à usage apicole des cires étudiées n'aura qu'un impact limité sur l'amélioration de leur qualité toxicologique. Il faut toutefois rappeler que l'exposition régulière de *V. destructor* à ces substances acaricides de la cire favorise les résistances.

La présence de substances PPP et biocides met l'accent sur le rôle des pyréthrinoïdes (famille à laquelle appartient la fluméthrine), substances les plus représentatives du risque chimique. Les cinq substances présentant les parts de QR cumulées les plus élevées sont des pyréthrinoïdes pour les deux études Cimeqa et étude ITSAP/Anses. Il s'agit, par ordre décroissant, de la deltaméthrine, de la perméthrine, de la fluméthrine, de la cyperméthrine et enfin, pour l'étude ITSAP/Anses, de l'acrinathrine et, pour l'étude Cimeqa, de la pyréthrine I. En raison des contaminations additionnelles par des PPP ou biocides de la famille des pyréthrinoïdes, qui plus est en cas de présence du PBO, synergisant de ces dernières pour leur activité insecticide, la toxicité des MV apicoles devient élevée. La grande fréquence d'occurrence du PBO dans les cires commerciales, au côté des pyréthrinoïdes également fortement représentés, doit être signalée compte tenu du risque chimique engendré par leur co-occurrence. Il n'est cependant pas possible, au moment de la rédaction de cet avis, de caractériser le risque chimique, d'une cire, contenant à la fois des résidus d'une ou plusieurs substances pyréthrinoïdes (dont par exemple, le tau-fluvalinate et la fluméthrine, acaricides apicoles autorisés en Europe) et des résidus du PBO, même à faible teneur.

3.7. Adulteration de la cire en France : émission, exposition et conséquences pour la santé des abeilles et de la colonie

L'enquête conduite par la BNEVP avait révélé l'utilisation d'auxiliaires technologiques interdits au cours du travail de la cire (cf. 3.5). Ces auxiliaires, correspondant notamment à des cires non apicoles (cires minérales, cires végétales, cires synthétiques, mais aussi acides gras de type palmitique ou stéarique), étaient incorporés aux cires d'origine apicole. Lorsque l'adulteration est volontaire et correspond à un ajout (cf. Figure 4), cette pratique vise souvent un gain économique sur un fondement frauduleux en incorporant des produits comme la paraffine, la stéarine/acide stéarique, des cires végétales, des cires synthétiques, la cire

microcristalline, des huiles et graisses, du suif¹⁶ ou des colorants. Cette adultération de la cire à usage apicole constitue une préoccupation croissante pour la filière, en raison des risques possibles pour la santé des abeilles et de la non-conformité réglementaire de la cire ainsi modifiée, pouvant entraîner une perte de la qualité et/ou de labellisation (label AB, par exemple).

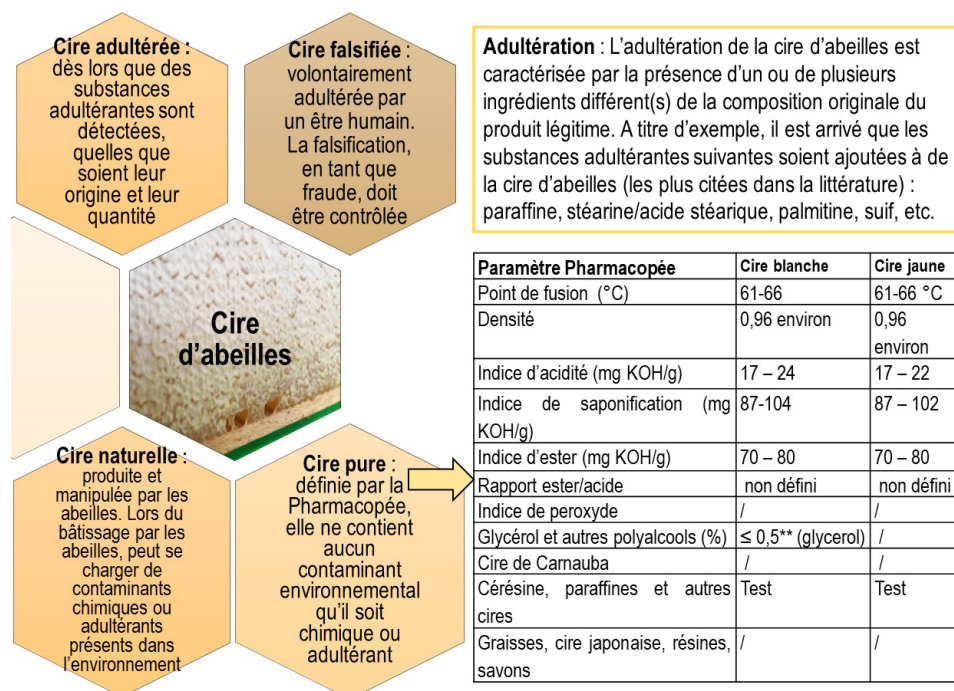


Figure 4 : Définitions du GT attenant à la cire d'abeilles (source GT Cires et Pharmacopée Européenne pour le tableau)

À l'instar de la méthode d'appréciation des risques mise en œuvre pour les substances chimiques contaminantes de la cire (Afssa, 2008), les experts ont rassemblé les données disponibles afin d'estimer le risque lié à la présence de substances adultérantes dans la cire pour la santé des abeilles et de la colonie. Le schéma conceptuel synthétisant le processus d'évaluation est présenté en Figure 5. Les experts ont considéré qu'une adultération était constituée (cf. Figure 4) dès lors que des substances adultérantes sont détectées quelles qu'elles soient leur origine ou leur quantité.

¹⁶Suif : graisse d'animaux herbivores, composée principalement de stéarine et d'oléine.

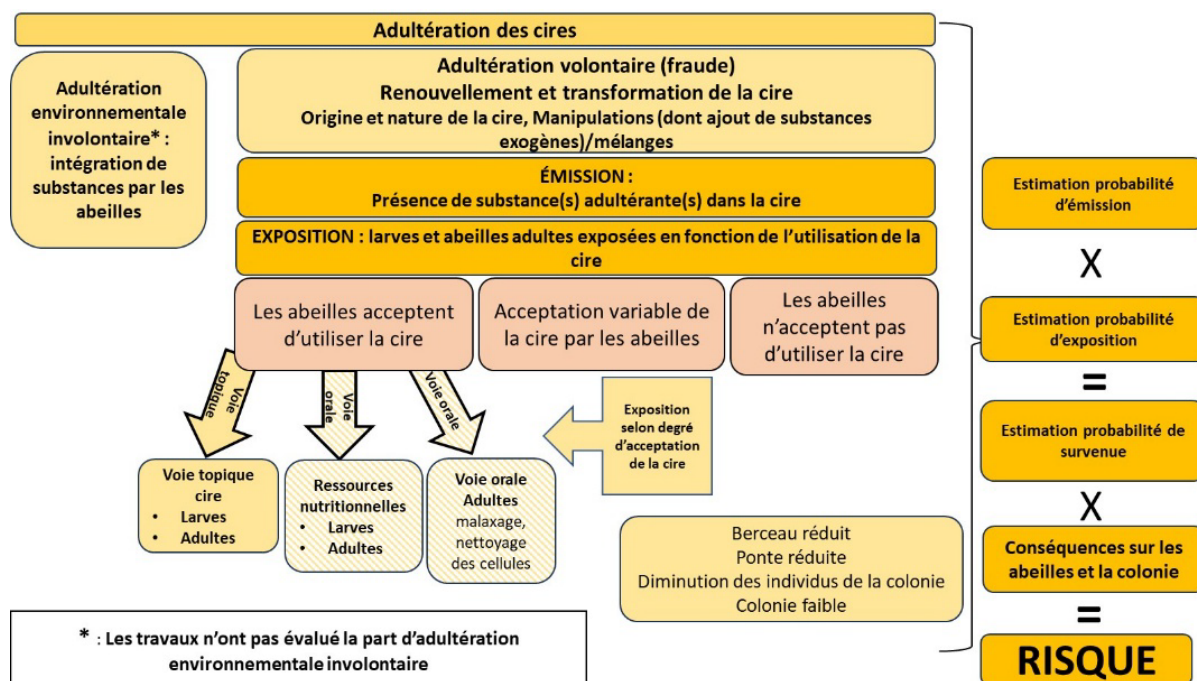


Figure 5 : Schéma conceptuel de l'évaluation des risques pour la santé des abeilles et de la colonie liés aux cires d'abeilles adultérées (source GT Cires)

3.7.1.Émission : état des lieux de l'adultération des cires

➤ État des lieux bibliographique de l'adultération des cires

Les différentes enquêtes publiées, essentiellement en Europe, dressent un état des lieux préoccupant de la qualité des cires à usage apicole : une proportion significative de cires utilisées en Europe semble adultérée, parfois à des niveaux très élevés (comme en Serbie où une adultération jusqu'à 85 % a été démontrée) (Ledjanac et al. 2024). Selon EFSA (2020), les adultérants les plus courants sont la paraffine et, dans une moindre mesure, la stéarine ou l'acide stéarique, la palmitine et le suif. La paraffine est l'adultérant le plus utilisé en raison de ses grandes disponibilités et accessibilités, de son faible prix et de ses propriétés physico-chimiques qui la rendent idéale pour l'adjoindre à de la cire d'abeilles : chimiquement inerte, blanche ou incolore et inodore (Svečnjak et al. 2015). En France, aucune étude publiée ne permet de dresser un état des lieux précis du niveau d'adultération des cires utilisées par les apiculteurs. Toutefois, l'enquête réalisée par la BNEVP a conclu à de fortes suspicions d'adultération intentionnelle par certains ciriers. Les substances en cause incluaient notamment des cires minérales (paraffines et microcristallines), des cires végétales (dont la cire de Sumac), des acides gras produits industriellement (acide stéarique, acide palmitique) ou des cires de type ester combinées avec des hydrocarbures minéraux (cires synthétiques). Le manque de critères de pureté clairement définis, l'absence de contrôles officiels de la qualité (authenticité) et les difficultés d'interprétation des méthodes analytiques (Svečnjak et al. 2021) rendent toutefois la détection des adultérations particulièrement difficile.

➤ État des lieux de l'adultération des cires en France : résultats des enquêtes conduites

Les propriétés physico-chimiques de la cire d'abeilles ainsi que sa composition en hydrocarbures, acides, alcools sont évaluées pour en révéler l'éventuelle adultération. Les

propriétés physico-chimiques d'une cire pure sont définies par la Pharmacopée Européenne (Ph. Eu. 11.0 2528 Cire D'abeille Blanche (01/2008) et Ph. Eu. 11.0 2529 Cire D'abeille Jaune (01/2008)) et regroupent différents critères (cf. Tableau : Paramètres physico-chimiques de la cire d'abeilles, chapitre 2.2.2 du rapport), notamment :

- le point (intervalle) de fusion / point de goutte (°C) : doit être compris entre 61 et 66°C ;
- la densité : 0,96 environ ;
- l'indice d'acidité : compris entre 17 et 24 mg KOH/g ;
- l'indice de saponification : compris entre 87 et 104 mg KOH/g ;
- l'indice d'ester : compris entre 70 et 80 mg KOH/g.

La composition de la cire d'abeilles est complexe, d'autant que des variations quantitatives de certains de ses composants peuvent être observées au fur et à mesure de la réutilisation de la cire par les abeilles ou par les apiculteurs, par une accumulation de cycles de fonte pour son recyclage. La Pharmacopée Européenne indique que la cire naturelle est exempte de cérésine, paraffines et autres cires, de graisses, de cire japonaise, résines, savons. Mais il n'existe aucune référence normative quant aux critères de composition d'une cire d'abeilles pure, s'agissant des quantités d'acides et d'alcools gras ou d'hydrocarbures. Il est alors nécessaire de se tourner vers la littérature pour déterminer des intervalles caractéristiques de ces paramètres. Par exemple, pour le pourcentage d'hydrocarbures¹⁷, selon les références bibliographiques prises en compte, les intervalles sont différents (bien que l'un soit inclus dans l'autre) : [12,3 % – 17,8 %] pour Waś, Szczęsna, et Rybak-Chmielewska (2015) et [13,8 % et 16,7 %] (Tulloch 1973; 1980).

Les trois sources de données présentées pour l'évaluation du risque chimique comportent également des résultats d'analyses visant à déterminer l'éventuelle adultération des échantillons de cires.

Les analyses du jeu de données issues des autocontrôles mettent en avant le fait que les ciriers utilisent le paramètre de pourcentage d'hydrocarbures pour lequel aucune norme n'est définie par la réglementation ou la Pharmacopée Européenne, à l'exception de l'absence d'hydrocarbures de paraffine qui constitue encore une autre analyse permettant de conclure quant à la présence de paraffine dans la cire analysée. Pour confirmer une adultération, des analyses chromatographiques et spectrométriques afin d'identifier et de quantifier les éventuels adultérants présents sont nécessaires. L'analyse d'un seul paramètre physico-chimique, représente un élément de suspicion, mais ne permet pas de confirmer l'adultération. En outre, il n'existe pas de norme ni de seuil pour qualifier une cire d'adultérée ou non. D'après Svečnjak et al. (2021), pour une détection et une quantification fiable d'un adultérant, il est recommandé de compléter au moins deux méthodes physico-chimiques par des méthodes analytiques instrumentales telles que GC-MS, HTGC-FID(MS) et/ou FTIR-ATR¹⁸. Ces dernières méthodes permettent également d'élargir le panel des adultérants recherchés.

Pour les données françaises issues des études Cimeqa et l'étude ITSAP/Anses, la présence de substances adultérantes est fréquente mais à des teneurs inférieures à 1 % Ainsi, la

¹⁷ Un hydrocarbure (HC) est un composé organique constitué exclusivement d'atomes de carbone (C) et d'hydrogène (H). Sa formule brute est de la forme C_nH_m.

¹⁸ GC-MS, *Gas Chromatography – Mass Spectrometry*; chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse ; HTGC-FID(MS), *High-Temperature GC with Flame Ionization Detection* (HTGC-FID), - chromatographie en phase gazeuse à haute température avec détection par ionisation de flamme/spectrométrie de masse éventuellement complétée par MS; et FTIR-ATR, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy- Attenuated Total Reflectance* - spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier - réflectance totale atténuée.

présence de paraffine a été relevée dans 56 % des échantillons de l'étude Cimeqa et 84 % des échantillons de l'étude ITSAP/Anses (limite de quantification = 0,2 %). Les points de fusion des échantillons correspondants se situaient pourtant bien dans la gamme de valeurs telle que définie par la Pharmacopée pour une cire d'abeilles, ce qui s'explique par le fait qu'il est nécessaire d'ajouter de grandes quantités de paraffine (plus de 25 %) pour que la température de fusion ne soit plus conforme à ces valeurs (Svečnjak et al. 2021). Dans la mesure où il en va de même avec la mesure de l'indice de saponification, qui ne sort des gammes acceptables qu'en cas de forte proportion d'adultérant, cela souligne la nécessité d'associer, pour la détection et l'objectivation d'une adultération, plusieurs techniques de mesures des caractéristiques physico-chimiques associées à des techniques de laboratoire plus fines.

La détection de substances adultérantes est fréquente, mais leurs teneurs sont moins élevées que celles observées par le passé (entre 2016 et 2018), ou dans le cadre de l'enquête de la BNEVP : en moyenne les échantillons de l'étude ITSAP/Anses contenaient 0,83 % d'hydrocarbures de paraffine et ceux de l'étude Cimeqa une proportion moyenne de 0,98 % d'hydrocarbures de paraffine. Comme pour les contaminants chimiques, il semble que la présence de substances adultérantes dans les cires à usage apicole soit aujourd'hui devenue un phénomène chronique, quasi systématique, à des teneurs faibles et pour l'instant, sans effet notable sur la santé des abeilles et de la colonie. Ainsi, la cire pure d'abeilles existe plus rarement, ce constat rejoint celui fait lors de l'audition de grossistes en cires qui indiquaient importer de la cire avec un seuil maximum fixé pour les hydrocarbures de paraffine, très proche de zéro mais non nul. Les niveaux d'adultération tels qu'ils ont pu être mis en évidence entre 2016 et 2018 par la BNEVP ne s'observent plus, les suites de cette enquête ont eu des effets bénéfiques pour la filière cire française.

La difficulté, dans le cas de mise en place d'un dispositif de surveillance de l'adultération des cires en France, serait de pouvoir situer un seuil au-delà duquel les cires analysées sont considérées comme adultérées. Ce seuil pourrait difficilement être nul pour les hydrocarbures de paraffine compte tenu :

- de l'existence d'une adultération environnementale naturelle réalisée par les abeilles elles-mêmes (communication personnelle C. Vidau) impliquant que des traces éventuelles d'adultérants soient susceptibles d'être détectées, sans pour autant signifier un ajout intentionnel ;
- des mélanges divers de cires pour le recyclage et de la persistance chronique de faibles teneurs de paraffine et autres substances, sans pour autant, ici encore, signifier un ajout intentionnel.

Pour les autres composants recherchés : acide palmitique, acide oléique, acide stéarique, l'interprétation des résultats analytiques nécessite de connaître les teneurs naturelles de ces acides dans la cire afin d'identifier les situations correspondant à une adultération. Malheureusement, bien que de nombreuses études se soient intéressées à la composition de la cire, peu d'entre elles se sont attachées à identifier et quantifier les acides gras libres qui entrent dans sa composition. Si ces travaux permettent d'affirmer que la cire contient bien de l'acide palmitique, de l'acide oléique et de l'acide stéarique, les résultats concernant leurs teneurs respectives ne sont pas convergents, ce qui ne permet pas de conclure ici non plus.

3.7.2. Exposition des abeilles et de la colonie à des cires adultérées

Les voies d'exposition des abeilles et de la colonie aux substances adultérantes contenues dans la cire sont similaires à celles décrites pour leur exposition aux substances chimiques contaminantes contenues dans la cire (cf. chapitre 3.6.2). Les trois scénarios d'exposition définis antérieurement par le Comité scientifique de l'AFSCA (Wilmart et al. 2021; Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire 2018) sont ainsi repris. Toutefois, il n'est pas envisageable comme ce fut le cas pour les substances chimiques contaminantes de proposer des teneurs acceptables pour les substances adultérantes, notamment parce qu'il n'existe pas de valeurs toxiques de référence permettant d'évaluer la toxicité imputable à leur présence, dès lors qu'elles sont adultérantes. Même si ce système est encore imprécis, la toxicité des substances chimiques pour les abeilles est caractérisée par leur DL₅₀.

3.7.3. Conséquences de l'adultération des cires sur la santé des abeilles et de la colonie

La synthèse de la bibliographie sur les conséquences d'une cire adultérée pour la santé des abeilles et de la colonie met en évidence :

- que la stéarine/acide stéarique a des effets négatifs plus marqués que la paraffine sur la santé des abeilles lorsqu'elle est ajoutée à la cire. Les preuves, mêmes peu nombreuses, apportées par la bibliographie, vont toutes dans le sens d'une toxicité avérée de la stéarine/acide stéarique pour le couvain, dès une faible teneur d'adultération (moins de 3 %), sans pour autant que le mode d'action de la stéarine/acide stéarique ne soit décrit ;
- l'importance de la nature et de la pureté de la paraffine qui définit son impact lorsqu'elle est incorporée à la cire d'abeilles et qui dépend : (1) de son point de fusion, plus le point de fusion est bas plus l'effondrement du bâti est facilité; (2) de la présence d'impureté(s) ; ainsi, l'effet létal des paraffines chlorées sur le couvain a été démontré.

3.7.4. Risque pour la santé des abeilles et de la colonie, lié aux cires adultérées

En l'absence de données fiables et compte tenu (1) de la faible quantité de données disponibles quant à l'exposition et (2) de l'absence de possibilité d'évaluer la toxicité des substances adultérantes pour les abeilles et la colonie au moment de la rédaction de cet avis, le risque représenté par l'incorporation de ces substances dans la cire ne peut pas être évalué. Toutefois, les études de terrain réalisées en France quant à la détection et à la quantification des teneurs de substances adultérantes contenues dans les cires françaises, indiquent une adultération fréquente (plus de 50 % des cires) à faible teneur (inférieure à 1 %).

3.7.5. Incertitudes

Les connaissances sur les effets de la contamination et/ou de l'adultération sur la colonie et les individus qui la composent sont encore très insuffisantes. En outre, tout au long de la méthode d'évaluation du risque les experts ont relevé les manques et imprécisions à l'origine constituent des incertitudes liées à chaque étape de la démarche. Elles sont identifiées et figurent dans des paragraphes dédiés, nécessaires à la compréhension globale de cette expertise. Le chapitre 8 du rapport associé les liste de façon synthétique.

3.8. Recommandations du GT et du CES SABA

Compte tenu des risques évalués des cires d'abeilles contaminées ou adultérées pour la santé des abeilles et de la colonie dans les chapitres précédents, les experts ont proposé des recommandations qui permettraient de mieux contrôler la situation en France hexagonale, répondant ainsi à l'un des objectifs de l'autosaisine. Les experts ont émis 132 recommandations, classées par type d'acteurs et thématiques (cf. rapport associé, chapitre 9). Dix d'entre elles ont été sélectionnées par les experts pour leur importance, leur efficacité supposée et leur impact sur la qualité de la cire (cf. Tableau 2). Elles sont présentées par ordre alphabétique des acteurs concernés. La méthode utilisée pour la sélection de ces dix actions est consultable en Annexe 11 du rapport associé au présent avis.

Tableau 2 : Dix recommandations sélectionnées par les experts comme les plus opérationnelles et ayant un impact potentiellement rapide

Type d'acteur	Recommandation du GT
Apiculteurs	Mettre en œuvre toutes les démarches permettant, à la fois, de proposer au recyclage et de se fournir soi-même en cires apicoles de très bonne qualité : – identifier clairement l'origine de sa cire fondue, opercules d'une part et cires de cadres d'autre part, seule la première catégorie étant conservée pour un usage apicole après recyclage ; – recyclage de lots personnalisés provenant d'opercules (voire de cadres de hausses si les BPA sont respectées) ; – livraison au cirier ou au collectif d'apiculteurs de la cire du même type (opercules ou cadres de hausses si BPA parfaitement respectées)
Apiculteurs	Favoriser les pratiques permettant de récupérer de la cire récemment sécrétée par les abeilles : bâtisse libre (lorsque les ressources sont abondantes), opercules, cire utilisée lors du piégeage de <i>Varroa destructor</i> dans le couvain de mâles, etc.
Apiculteurs	Respecter les BPA, telles qu'elles sont prescrites par l'ITSAP et notamment, renouveler régulièrement les cadres de corps, à raison de 25 à 33 % par an et par ruche ainsi que les cadres de hausses ¹⁹
Apiculteurs Collectifs d'apiculteurs	Dans le cadre de la lutte contre <i>V destructor</i> : – favoriser dans la mesure du possible et des compétences de l'apiculteur les médicaments vétérinaires acaricides qui ne s'accumulent pas dans la cire (acide oxalique et acide formique) et les méthodes biotechniques²⁰ ; – respecter les durées et doses prescrites des autres médicaments vétérinaires apicoles de manière à limiter l'accumulation de résidus dans les cires et éviter une surexposition des colonies ; – éviter les substances varroocides pour lesquelles la toxicité pour les abeilles est élevée (correspondant à une DL₅₀ faible)
Ciriers	Indiquer la provenance géographique de la cire pour tous les lots commercialisés y compris de sa composition relative s'il s'agit d'un mélange de cires

¹⁹ https://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/wp-content/uploads/2018/09/Pages-de-ITSAP-GBPA-MAJ_2018-Fiche_R3-Web.pdf et https://www.ada-aura.org/wp-content/uploads/2024/10/rucher_renouvellement_cadres.pdf

²⁰ https://www.ada-aura.org/wp-content/uploads/2024/10/rucher_lutte_contre_varroa.pdf

Type d'acteur	Recommandation du GT
Gestionnaire	Définir réglementairement la cire à usage apicole au niveau européen et si possible international. Basé sur une analyse de risque de type HACCP, un cadre réglementaire tenant compte de l'existant, permettrait d'agréer la cire à usage apicole
Gestionnaires Apiculteurs	D'une manière générale, surveiller les troubles de santé des abeilles et des colonies afin d'alerter le plus rapidement possible (Observatoire des Mortalités et des Affaiblissements de l'Abeille mellifère (OMAA), vétérinaire, encadrants sanitaires et techniques apicoles) et, plus particulièrement, suivre l'évolution de la colonie (acceptation de la cire, événements de santé, couvain) dans les semaines qui suivent l'introduction de la nouvelle cire
Gestionnaires et ciriers	Établir des seuils toxicologiques au-delà desquels une cire ne peut plus être utilisée en apiculture et, compte tenu des informations disponibles au moment de la rédaction de cet avis, tenir provisoirement compte d'un seuil de QR = 5 000 (correspondant à une cire de qualité intermédiaire) par l'utilisation de l'outil actuellement disponible en ligne (Bee Tox Wax)
Gestionnaires	Définir une obligation d'agrément homogène pour l'ensemble des ciriers de France, comprenant l'exigence d'une parfaite traçabilité ainsi que les responsabilités correspondantes à adapter et encadrer en fonction de la taille de la structure
Gestionnaires	Imposer le recueil d'informations sur les cires importées afin de classer les pains de cires dans une catégorie plus spécifique (destination : cosmétique, apicole, alimentaire, etc.) et réaliser des contrôles frontaliers plus approfondis

3.9. Conclusions et réponses aux questions de l'autosaisine

Les experts proposent les réponses suivantes aux quatre questions de l'autosaisine :

3.9.1. Quelles sont les données existantes quant aux résidus de contaminants et d'adultérants dans les cires en France métropolitaine ?

Depuis 2018, l'ADA AURA (Association pour le Développement de l'Apiculture en Auvergne-Rhône-Alpes) a mis en place un observatoire de la qualité des cires²¹ dont l'objectif est de rendre compte de la qualité des cires utilisées dans les exploitations en collectant des échantillons de leurs adhérents pour élaborer des références. Cet observatoire permet de proposer à ses adhérents un état des lieux toxicologique de la cire introduite dans leurs colonies et de disposer d'une base de données régionale sur la qualité des cires dans les exploitations apicoles chez les professionnels et dans le commerce. Il s'agit de la seule initiative portant sur la surveillance de la qualité des cires au sein de la filière apicole à ce jour. L'état des lieux de la bibliographie permet de faire le constat de contaminations et d'adultérations généralisées de la cire à usage apicole dans le monde. Trois études importantes ont permis l'obtention d'un grand jeu de données qui a été analysé durant ces travaux d'expertise (autocontrôles des ciriers, Cimeqa et étude ITSAP/Anses). Les résultats de ces analyses ont conforté le constat bibliographique et ont permis de caractériser plus précisément la contamination des cires disponibles sur le marché français. Cette contamination s'avère très variable selon son réseau de distribution (lot personnalisé < groupement d'apiculteurs < cirier < commerce spécialisé ou général), sa provenance géographique (France < mélange UE/non UE < pays tiers), sa nature (opercules < mélanges

²¹ <https://www.ada-aura.org/observatoire-de-la-qualite-des-cires/>

divers) et son type de production (AB < conventionnelle). Une part considérable des cires proposées aux apiculteurs français présente des teneurs élevées en contaminants chimiques qui questionnent sur leur qualité et l'impact potentiel sur les colonies d'abeilles et leur équilibre vital.

3.9.2.Compte tenu des données françaises hexagonales, quel est le risque lié aux contaminations des cires d'abeilles par les produits phytopharmaceutiques, les biocides et les médicaments vétérinaires pour la santé des abeilles et de la colonie ?

L'étude bibliographique et l'analyse des résultats obtenus à partir de cires apicoles utilisées en France permettent d'objectiver leur contamination par de nombreuses substances d'origines diverses (médicaments vétérinaires apicoles, PPP, biocides, ETM) et modes d'action variés (acaricides, insecticides, fongicides, herbicides, etc.). Leur présence concomitante dans les cires est alarmante compte tenu des effets combinés et des effets sublétaux supposés qui ne peuvent toujours pas, au moment de la rédaction de ce rapport, être objectivés. Le risque chimique a été évalué à partir d'un indicateur, le quotient de risque (QR), qui tient compte des teneurs de l'ensemble des substances présentes dans l'échantillon de cire analysé et de leur toxicité intrinsèque (DL₅₀). Les cires ayant un QR élevé (QR >5 000) présentent un danger pour l'utilisation en apiculture sont présentes dans moins de 5 % des cires utilisées en autorenouvellement (apiculteurs professionnels majoritairement) et près de 40 % pour les autres sources d'approvisionnement. Toutefois, le risque dépend beaucoup de la source d'approvisionnement et de la nature de la cire : seuls 13 % des cires d'opercules présentent un QR >5 000 alors que près de 60 % des cires de mélanges présentent un QR >5 000. Les analyses des études de terrain françaises démontrent que, lorsque les bonnes pratiques sont respectées (utilisation des cires d'opercules, renouvellement des cadres, etc. cf. Recommandations), avec un fonctionnement préférentiel en autorenouvellement, la qualité des cires s'en trouve nettement améliorée.

La famille de contaminants la plus préoccupante est celle des pyréthrinoïdes, et ce, d'autant plus que l'occurrence du PBO est quasi-constante et renforce leur pouvoir toxique vis-à-vis de l'abeille, même si ses teneurs observées dans la cire sont faibles. Les pyréthrinoïdes sont largement utilisés dans le monde et constituent les principes actifs de nombreux produits : PPP, biocides, MV apicoles et non apicoles.

De manière concordante avec l'état des lieux bibliographique au niveau européen, les substances varroocides des médicaments vétérinaires autorisés en Europe sont très présentes dans les cires qui ont été étudiées par le GT mais n'ont qu'un impact mineur sur la santé de la colonie. Néanmoins, le cas de la fluméthrine (acaricide apicole autorisé en Europe) doit être examiné avec attention compte tenu de son niveau de toxicité pour les abeilles.

La fréquence d'occurrence et à des teneurs élevées de certains contaminants dans les cires étudiées pose la question de leur(s) origine(s) et de leur persistance, tant dans la cire elle-même que dans l'environnement : acaricides apicoles qui ne sont plus autorisés en Europe ou qui ne l'ont jamais été, PPP interdits d'usage en Europe de longue date, etc. Le maintien de leurs usages dans certains pays tiers, voire leurs usages détournés et mésusages en France ou ailleurs dans le monde, amène à souligner la nécessité de contrôler efficacement la provenance réelle et la qualité des cires apicoles disponibles sur le marché français, quelle que soit leur origine géographique connue.

La tendance des contaminants chimiques à diffuser, à se disperser ou à s'accumuler dans les matrices apicoles est conditionnée par différents facteurs : quantité initiale de ces

contaminants dans la cire de fondation, propriétés physico-chimiques des substances (solubilité dans l'eau, pression de vapeur, structure moléculaire, valeur de Log $P_{o/w}$ et lipophilie), traitements vétérinaires appliqués et durée d'application du traitement. Le niveau d'exposition des abeilles aux contaminants de la cire dépend à la fois de leur stade de développement (adulte ou immature), pour les voies topique et orale, et de la nature de leur alimentation (pollen, miel, pain d'abeille contaminés par la cire) pour la seule voie orale. Les conséquences de cette exposition varient en fonction du stade de développement de l'abeille (adulte ou immature). Des colonies d'abeilles exposées à un risque lié à la cire sont également exposées simultanément à d'autres matrices potentiellement contaminées, comme le nectar ou le pollen. Les effets combinés de ces différentes sources et substances nécessiteraient d'être pris en compte, mais aucun modèle ne le permet au moment de la rédaction de ce rapport. L'analyse du corpus scientifique disponible a mis en évidence la difficulté d'établir des corrélations entre la contamination des cires apicoles et le constat d'effets, tant sur les individus que pour les colonies.

3.9.3. Compte tenu des données disponibles, quels sont les dangers liés à l'adultération des cires d'abeilles pour la santé des abeilles et de la colonie (caractérisation des dangers et le cas échéant, risque associé) ?

Comme pour les contaminants chimiques, la présence de substances adultérantes est devenue quasi systématique, mais à de faibles teneurs. L'absence de critères de pureté clairement définis, couplée à l'absence de contrôles officiels de la qualité (authenticité) et aux difficultés d'interprétation des méthodes analytiques utilisées pour la détection de l'adultération compliquent la mise en évidence de l'adultération des cires. L'adultérant le plus présent dans les cires apicoles est la paraffine. Les cires issues des circuits en autorenouvellement présentent une fréquence de quantification des hydrocarbures de paraffine de 56 % alors que ce même critère est évalué à 84 % pour les cires des autres sources d'approvisionnement. Les lots de cires présentant des volumes insuffisants pour être pris en charge par les ciriers pourraient être mis en commun par des regroupements d'apiculteurs afin de réaliser et généraliser le gaufrage à façon, alternative à l'achat de cire dans le commerce pour lesquelles les plus hautes teneurs en hydrocarbures de paraffine ont été identifiées. Bien que cette adultération soit généralisée, sa teneur globale est faible (en moyenne < 1 %), ce qui conduit à supposer que son impact sur les colonies est à l'heure actuelle moins important qu'il n'a pu l'être par le passé. *A contrario*, la stéarine/acide stéarique, bien que peu présente dans les cires étudiées, possède des effets néfastes sur la santé du couvain. Ainsi, une exposition à des concentrations croissantes de stéarine/acide stéarique induit une augmentation de la mortalité du couvain (LOAEL : 3 %) et stimule l'expression des certains gènes de l'immunité et de détoxification des nymphes (El Agrebi et al. 2024). Malgré ce constat de faibles teneurs de substances adultérantes, il convient de noter que chaque année des signalements sont effectués par les apiculteurs auprès de leurs référents sanitaires et techniques ainsi que d'OMAA dans les régions en disposant.

3.9.4. Compte tenu des risques évalués et de l'objectif souhaité, quelles sont les recommandations qui permettraient de mieux contrôler la situation en France ?

S'il est notable que l'alerte sur les effets de cires contaminées et/ou adultérées sur la santé des colonies a été donnée en premier lieu par des acteurs de la filière, il est nécessaire qu'aujourd'hui la prise de conscience soit générale, par l'ensemble des acteurs du secteur

apicole, tant au niveau national qu'eupéen, afin de permettre la nécessaire et constante amélioration de la qualité des cires à usage apicole proposées aux apiculteurs français. Pour répondre à cet objectif, le GT propose à chacun des acteurs identifiés un panel de recommandations dont la mise en œuvre sollicite la responsabilisation de chacun (voir Chapitre 9 du rapport).

3.9.5.Éléments de réflexion/prospective des experts

Le constat de la dégradation de la qualité des cires proposées aux apiculteurs repose sur des manques majeurs, notamment de cadre réglementaire définissant une cire à usage technique apicole par sa composition précise et l'adjonction de seuils éventuels pour certaines substances à ne pas dépasser ou dont l'occurrence même pourrait être interdite. L'encadrement technique proposé pour la filière apicole française est récent, ce qui peut également expliquer ce phénomène par un manque de connaissances et de formation des acteurs sur des bonnes pratiques en lien avec la cire. Compte tenu de l'état des lieux de la contamination et de l'adultération des cires françaises, des actions sont recommandées dans le rapport associé au présent avis, qui permettront d'assainir la filière cire, comme ce fut le cas pour les substances adultérantes dans les cires à la suite de l'enquête conduite par la BNEVP. Il a été nécessaire, compte tenu de l'absence de données disponibles, de circonscrire le périmètre de cette autosaisine à la santé des abeilles et des colonies de la France hexagonale. Il conviendrait de conduire un état des lieux similaire de la qualité des cires dans les départements et régions d'outre-mer français, et de mettre en œuvre, dès lors, les recommandations proposées par les experts pour ces territoires français.

L'autosaisine de l'Anses a pour unique objet la cire à usage apicole, les autres destinations et usages de la cire d'abeilles n'ont pas été traités. Si la cire à destination pharmaceutique ou de la chaîne alimentaire (E901) est soumise à des contrôles, pour de nombreuses autres utilisations (miel en rayons, films alimentaires, pâte à modeler, bougies, encaustiques, etc.), l'absence de contrôle (de ces cires probablement contaminées et adultérées au même titre que la cire à usage apicole, voire plus, puisqu'elle peut utiliser les cires d'abeilles considérées impropres pour un usage apicole) conduit à s'interroger en termes de santé publique.

Compte tenu de l'état des lieux des cires en France, il convient de rappeler l'importance de dispositifs limitant l'exposition des abeilles aux PPP (plan Écophyto, par exemple) qui devraient avoir leurs pendants dans le domaine des biocides. Les recommandations émises conduisent à consolider encore l'état des lieux réalisé par la recherche de molécules aujourd'hui interdites en France, par exemple, les antibiotiques. D'autres substances non prises en compte dans cet état des lieux devraient également faire l'objet d'une recherche de leur présence : dangers chimiques (dioxines, HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques), par exemple) et dangers physiques (radionucléides, nanoparticules, microplastiques, par exemple).

La contamination des cires relève de la contamination générale de l'environnement et doit être prise en compte dans la démarche *One Health* – Une seule santé. À ce titre, comme les plans qui ont été mis en place pour l'environnement et la santé publique : Écoantibio, (ciblant les résistances aux antimicrobiens et aux antiparasitaires), Écophyto, etc., il est urgent de publier le « Plan d'Actions cire », élaboré au sein de la DGA. La contamination des cires françaises contribue au stress environnemental global auquel sont soumises les abeilles et participe à la perte annuelle des colonies sans qu'il soit possible au moment de la rédaction de ce rapport de quantifier ce phénomène. Il est donc important de réduire globalement l'exposition des

abeilles aux différentes substances chimiques : médicaments, biocides, produits phytopharmaceutiques, dans tous leurs usages.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Dans un contexte général de déclin des populations de pollinisateurs et plus particulièrement des abeilles domestiques *Apis mellifera*, le travail mené visait à apporter des réponses aux questions que soulèvent les apiculteurs depuis les années 2000, à savoir la contribution, parmi d'autres facteurs, de la composition des cires d'abeilles à ce constat.

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) endosse les conclusions du GT Cire d'abeilles et du CES SABA relatives à l'expertise menée sur les conséquences pour la santé des abeilles et de la colonie, des cires d'abeilles contaminées et/ou adultérées. Dans le cadre du présent avis, le terme :

- contamination est utilisé pour désigner la présence dans la cire de toute substance chimique potentiellement nocive, d'origine exogène, (produit phytopharmaceutique, médicament vétérinaire, biocide) qu'elle soit synthétique et/ou naturelle ;
- adultération correspond à la présence d'un ou de plusieurs ingrédient(s) différent(s) de la composition originale du produit légitime. Une cire est dite adultérée dès lors que des substances adultérantes sont détectées, quelles que soient leur origine et leur quantité.

Au cours du processus d'expertise, de nombreuses lacunes de connaissances et incertitudes ont été identifiées : des valeurs toxicologiques des substances actives pour les larves ou les valeurs de toxicité chronique pour les abeilles adultes et les larves ne sont pas définies, connues ou partagées par les acteurs, les effets combinés des substances entre elles ne sont pas encore être étudiés et il n'a pas été possible de quantifier un effet sur la santé des abeilles et des colonies, directement lié à la contamination de la cire par des substances chimiques. Enfin, en l'absence de référence - tant pour l'adultération que pour la contamination -, les auto-contrôles ou contrôles sont dépourvus de cibles auxquelles confronter les résultats des mesures.

Malgré les difficultés rencontrées, l'analyse de la revue de la littérature ainsi que des enquêtes de terrain qui ont été conduites en France met en lumière un niveau de contamination des cires élevé et hétérogène (ou variant) selon leur provenance et leur nature. De ce fait, l'Agence recommande à l'ensemble des acteurs de la filière de se tourner autant que possible vers des cires d'opercules, d'origine française, et d'en pratiquer l'auto-renouvellement.

L'analyse des risques par type de contaminant soutient la nécessité de respecter les bonnes pratiques apicoles (BPA) fournies par l'ITSAP (Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation), ainsi que les durées et doses prescrites des médicaments vétérinaires apicoles pour le traitement des colonies. Dans le cas du respect de ces BPA, les médicaments vétérinaires apicoles prennent une part mineure dans le risque chimique lié aux cires.

L'observation de ces recommandations doit permettre à un apiculteur de ne pas exposer ses abeilles à des cires de mauvaise qualité (QR > 5000).

Au-delà, le constat de polycontaminations implique de nombreuses substances d'origines diverses (résidus de produits phytopharmaceutiques ou biocides, éléments traces métalliques) et aux

modes d'action variés (acaricides, insecticides, fongicides, herbicides, etc.), dont certaines sont interdites en France ou en Europe : ceci met l'accent sur la nécessaire traçabilité à mettre en œuvre dans le circuit de commercialisation des cires en France. Pour améliorer la traçabilité, condition nécessaire de l'amélioration de la qualité des cires françaises, des actions sont recommandées pour chacun des acteurs : apiculteurs, encadrants sanitaires et techniques, ciriers, laboratoires et gestionnaires.

Cependant, l'absence de définition partagée de la cire d'abeilles à usage apicole en Europe et dans le monde constitue un manque patent et dommageable : en conséquence, l'Anses recommande de formuler et d'adopter réglementairement, idéalement au niveau européen, une définition afin qu'une surveillance et des contrôles spécifiques puissent être mis en œuvre.

Les enquêtes conduites pour la détection et la quantification de substances adultérantes dans les cires françaises font le constat de la présence systématique bien qu'à faible teneur d'hydrocarbures de paraffine. Sur ce volet de l'adultération, les lacunes de connaissance et incertitudes sont encore plus nombreux qu'en matière de contamination : en premier lieu, il n'existe pas de référence officielle quant à la composition exacte en quantités d'acides et d'alcools gras ou d'hydrocarbures d'une cire d'abeilles (une seule étude bibliographique a été prise en compte pour l'expertise datant de 1980). S'agissant des risques ou de l'impact sanitaire de cette adultération, l'Agence n'a pas identifié de données toxicologiques permettant de l'évaluer. Néanmoins, la définition réglementaire que l'Anses recommande d'élaborer devrait également intégrer le volet adultération en vue de faire le tri entre des situations relevant d'une action volontaire d'ajout d'ingrédients, et celles relevant d'une adultération fortuite (recyclages, apports naturels, ...).

Différentes recommandations auxquelles l'Agence souscrit ont été formulées à l'attention des différents acteurs dont certaines sont opérationnelles et de nature à apporter une amélioration rapide de la situation.

L'Anses recommande la poursuite de travaux de recherche sur le sujet de la contamination et de l'adultération de la cire d'abeilles et leurs conséquences sur la colonie et les individus qui la composent, ainsi que la publication du « Plan d'actions cire » de la DGAL enrichi par la prise en compte des recommandations proposées dans cet avis et le rapport associé.

La question de la contamination et de l'adultération des cires s'inscrit dans une démarche *One Health* - une seule santé, pour laquelle il convient de poursuivre les efforts réalisés pour la réduction des substances chimiques environnementales (notamment portées par différents Plans nationaux, tels que : Écoantibio ; Écophyto). Le mandat confié aux experts n'incluait cependant pas la prise en compte des impacts en santé publique. A cet égard, et compte tenu de l'évolution des pratiques de consommation ou d'utilisation de produits à base de cires, l'Agence souligne que les éléments identifiés sur l'adultération, et surtout la contamination de certaines cires apicoles questionne en particulier son usage sans aucun encadrement, en particulier comme aliment (type gomme à mâcher, par exemple dans le cas du miel en rayon) ou en contact avec les aliments (par exemple, films alimentaires réutilisables en cire d'abeilles).

Gilles Salvat

MOTS-CLÉS

Cire d'abeilles ; contamination ; adultération ; traitement de la cire ; circuits de la cire ; danger ; risques

Beeswax ; contamination ; adulteration ; wax processing ; wax circuits ; danger ; risks

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2025). Évaluation des risques pour la santé des abeilles et de la colonie, liés aux cires d'abeilles contaminées et/ou adultérées (autosaisine 2022-AUTO-0050). Maisons-Alfort : Anses, 32 p.

Évaluation des risques pour la santé des abeilles et de la colonie, liés aux cires d'abeilles contaminées et/ou adultérées

Cires d'abeilles

Saisine « n°2022-AUTO-0050 Cires d'abeilles »

Saisines liées : « 2013-SA-0050 Hiérarchisation des dangers sanitaires d'intérêt présents ou susceptibles d'être introduits dans les DROM chez les abeilles mellifères »

« 2013-SA-0049A hiérarchisation des dangers sanitaires exotiques ou présents en France métropolitaine chez les abeilles »

« 2012-SA-0176 co-expositions des abeilles aux facteurs de stress »

RAPPORT d'expertise collective

« Comité d'experts spécialisé Santé et bien-être des animaux (CES SABA) »

« GT Cires d'abeilles »

Septembre 2025

Citation suggérée

Anses (2025). Évaluation des risques pour la santé des abeilles et de la colonie, liés aux cires d'abeilles contaminées et/ou adultérées (autosaisine 2022-AUTO-0050). Avis de l'Anses. Maisons-Alfort : Anses, 32 p.

Anses. (2025). Évaluation des risques pour la santé des abeilles et de la colonie, liés aux cires d'abeilles contaminées et/ou adultérées (autosaisine 2022-AUTO-0050). Rapport de l'Anses. Maisons-Alfort : Anses, 316 p.

Mots clés

Cire d'abeilles ; contamination ; adultération ; traitement de la cire ; circuits de la cire ; danger ; risques

Beeswax ; contamination ; adulteration ; wax processing ; wax circuits ; danger ; risks

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE DE TRAVAIL

Président

Mme Carole PEROZ – Maître de conférences, VetAgro Sup – Infectiologie, maladies réglementées, approche intégrée de la santé animale

Membres

M. Frédéric DELBAC – Professeur de microbiologie, Université Clermont Auvergne / Laboratoire Microorganismes Génome et Environnement – Microbiologie, pesticides, écotoxicologie, interactions toxiques- pathogènes, abeilles, microbiote

M. Lionel GRISOT – Vétérinaire praticien, Clinique vétérinaire des Tourbières – Abeilles ; médecine vétérinaire ; médicaments vétérinaires

M. Yves LE CONTE – Directeur de recherche, INRAE d'Avignon, – Apidologie, abeilles, pesticides, pathogènes, interactions, communication chimique

Mme Monique L'HOSTIS – Professeur retraitée de Oniris – Parasitologie, abeilles

Mme Anne-Claire MARTEL – Chargée de projet scientifique "Contaminants Chimiques" / Responsable du LNR associé sur les "Pesticides dans les denrées alimentaires d'origine animale et produits à forte teneur en matière grasse", Anses Laboratoire de Sophia Antipolis – Chimie analytique, méthodes de laboratoires, pesticides, médicaments vétérinaires

Mme Freddie-Jeanne RICHARD – Directrice de Recherche, INRAE, unité Abeilles et environnement, Avignon – Abeilles, comportement, effets sublétaux, pesticides, physiologie, phéromones

M. Christophe ROY – Vétérinaire praticien, Clinique Vétérinaire des Mazets – Abeilles ; médecine vétérinaire ; écotoxicologie

M. Claude SAEGERMAN – Professeur, Université de Liège, Faculté de médecine vétérinaire – Épidémiologie, évaluation des risques sanitaires, abeilles et cire

M. Cyril VIDAU – Ingénieur en agriculture, ITSAP – Apidologie, toxicologie, évaluation du risque, écotoxicologie

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- CES Santé et bien-être des animaux (SABA) – Dates : 2022-2026

Président

Gilles MEYER – Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - Virologie, immunologie, vaccinologie, maladies des ruminants

Membres

Catherine BELLOC – Professeur, Oniris - École Vétérinaire de Nantes - Infectiologie, approche intégrée de la santé animale, maladies des monogastrique

Stéphane BERTAGNOLI – Professeur, École Nationale Vétérinaire de Toulouse - Virologie, immunologie, vaccination, maladies des lagomorphes

Alain BOISSY – Directeur de Recherche, INRAE Clermont-Ferrand – Theix - Bien-être animal

Séverine BOULLIER – Professeur, École Nationale Vétérinaire de Toulouse – Immunologie, vaccinologie

Henri-Jean BOULOUIS – Retraité, École Nationale Vétérinaire d'Alfort - Bactériologie, diagnostic de laboratoire, immunologie, vaccinologie

Aurélie COURCOUL – Directrice de la Recherche et des Etudes Doctorales, Oniris – École Vétérinaire de Nantes - Épidémiologie, appréciation des risques (modélisation), réglementation

Alice DE BOYER DES ROCHES – Maître de conférences, VetAgro Sup - Bien-être animal, animaux de rente, douleur, comportement, zootechnie

Barbara DUFOUR – Professeur émérite, École Nationale Vétérinaire d'Alfort - Épidémiologie, maladies infectieuses, analyse du risque, zoonoses, lutte collective

Emmanuelle GILOT-FROMONT – Professeur, VetAgro Sup – Épidémiologie quantitative, évaluation de risque, interface faune sauvage-animaux domestiques, maladies réglementées

Etienne GIRAUD – Chargé de recherche, INRAE Toulouse – Microbiologie, antibiotiques, antibiorésistance, environnement, écologie microbienne

Lionel GRISOT – Vétérinaire libéral - Médecine et chirurgie vétérinaire, médicament vétérinaire, maladies des ruminants, des équidés et des animaux de compagnie, sécurité sanitaire des aliments

Claire GUINAT – Chargée de recherche, INRAE Toulouse - Épidémiologie, génétique (analyses phylodynamiques), maladies infectieuses

Nadia HADDAD – Professeur, École Nationale Vétérinaire d'Alfort - Infectiologie, maladies réglementées, zoonoses

Karine HUBER – Directrice de recherche, INRAE - Entomologie médicale et vétérinaire, maladies vectorielles, épidémiologie

Elsa JOURDAIN – Chargée de recherche, INRAE Clermont-Ferrand - Theix - Zoonoses, épidémiologie, interface faune sauvage-animaux domestiques

Hervé JUIN – Ingénieur de recherches, INRAE Centre Poitou-Charentes – Bien-être animal, physiologie et nutrition des volailles

Sophie LE BOUQUIN-LENEVEU – Cheffe d'Unité Adjointe, Unité Épidémiologie, Santé et Bien-Être (EPISABE), Anses Ploufragan-Plouzané-Niort - Épidémiologie, évaluation de risque, approche intégrée de la santé animale

Caroline LE MARÉCHAL – Chargée de projet - Responsable LNR Botulisme aviaire, Unité d'Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins (HQPAP), Anses Ploufragan-Plouzané-Niort - Bactériologie, diagnostic de laboratoire, zoonose, botulisme aviaire, clostridies

Sophie LE PODER – Maître de conférences, École Nationale Vétérinaire d'Alfort - virologie, immunologie, vaccinologie

Yves MILLEMANN – Professeur, École Nationale Vétérinaire d'Alfort – Pathologie des ruminants, infectiologie, antibiorésistance, médicament vétérinaire

Pierre MORMÈDE – Directeur de recherche émérite, INRAE - Bien-être animal, stress

Carole PEROZ – Maître de conférences, VetAgro Sup – Infectiologie, maladies réglementées, approche intégrée de la santé animale

Céline RICHOMME – Chargée de projets scientifiques, Anses-Laboratoire de la rage et la faune sauvage de Nancy - Épidémiologie, faune sauvage, interface faune sauvage-animaux domestiques, écologie

Claude SAEGERMAN – Professeur, Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège – Épidémiologie, évaluation de risque

Jean-François VALARCHER – Professeur, Swedish university of agricultural sciences (SLU) – Pathologie des ruminants, infectiologie, Immunologie, épidémiologie

Isabelle VALLÉE – Chef de l'unité BIPAR, Responsable LNR Parasites transmis par les aliments, Anses Maisons-Alfort – Parasitologie, zoonoses, immunologie, diagnostic

Agnès WARET-SZKUTA – Maître de conférences, École Nationale Vétérinaire de Toulouse – Pathologie porcine, épidémiologie

Natacha WORONOFF-REHN – Directrice, laboratoire vétérinaire départemental du Doubs – Infectiologie, parasitologie immunologie, biologie moléculaire, diagnostic

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Caroline BOUDERGUE – Adjointe à la cheffe d'unité – Anses Direction de l'évaluation des risques (DER), Unité d'évaluation des risques liés au Bien-être, à la Santé et à l'Alimentation des Animaux et aux Vecteurs (UBSA2V)

Mme Julie CHIRON – Cheffe de projet scientifique – Anses DER, UBSA2V

M. Thomas QUINTAINE – Chef de projet scientifique – Anses DER, Unité de phytopharmacovigilance (UPPV) de septembre 2022 à septembre 2023.

Secrétariat administratif

M. Régis MOLINET – Anses

AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES

ADA France - ADA AURA

Mme Marion GUINEMER – Coordinatrice technique

DGAI (poste occupé au jour de l'audition)

M. Fayçal MEZIANI – Référent national en apiculture pour les problématiques sanitaires. Direction générale de l'alimentation

M. Cédric SOURDEAU – Référent national en apiculture pour les problématiques phytosanitaires, coordination des observatoires en lien avec des troubles de santé des abeilles rapportés du terrain. Direction générale de l'alimentation

M. Jean-Blaise DAVAINÉ – Directeur adjoint BNEVP, Brigade Nationale d'Enquêtes Vétérinaires et Phytosanitaires, Direction générale de l'alimentation

M. Jean-Philippe CARLIER – Enquêteur pôle phytosanitaire, Brigade Nationale d'Enquêtes Vétérinaires et Phytosanitaires, Direction générale de l'alimentation

Mme Anne LÉBOUCHER – Référent National Produits animaux non AH/SPAN-ABP, DRAAF Bretagne, Direction générale de l'alimentation

Le CARI

M. Étienne BRUNEAU – Président honoraire et conférencier du CARI

Entreprise CERESINE

M. Philippe ZICHERT – Directeur Général Délégué

M. Richard ROSSO – Directeur industriel

Mme. Audrey CHAUDANSON – Responsable du laboratoire

Entreprise ICKOWICZ

Mme Céline AMMARI – Directrice supply chaîne chez Ickowicz apiculture, directrice qualité

M. Aurélien DEQUILLAC – chef d'atelier encadre tous les ateliers de production dont celui de la cire

M. Pierre ICKOWICZ – Président d'Ickowicz apiculture

Entreprise ROUTE D'OR

M. Bertrand FRESLON – Ancien cirier et ancien Président du syndicat des ciriers – Route d'Or – Pays de la Loire

Université de Liège

Mme Noémie EL AGREBI – Chercheuse en « épidémiologie et analyse des risques » à la faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Liège, au sein du service du Professeur Saegerman. Ses travaux sont axés sur les cires d'abeilles – Université de Liège

CONTRIBUTIONS EXTÉRIEURES AU(X) COLLECTIF(S)

Ciriers français – Données d'autocontrôles quant à la qualité de leurs cires

CRD – ITSAP - Anses – Sarah Moreau (ITSAP) collecte de données sur les cires gaufrées commerciales

DEPR – Vanessa MAZEROLLES et Sébastien LAMBIN (Anses DEPR) – données d'évaluation des dossiers de produits phytopharmaceutiques (PPP)

DGAI – Données Traces NT données importations et exportations françaises de cires d'abeilles

DGAI – Données OMAA (Observatoire des Mortalités et des Affaiblissements de l'Abeille mellifère)

ITSAP – Données Cimeqa (Cires – Méthodes d'Évaluation de leur Qualité pour l'Apiculture) - collecte de données sur les cires gaufrées des apiculteurs professionnels

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	13
Liste des tableaux	15
Liste des figures.....	19
Glossaire.....	24
1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise	31
1.1 Contexte.....	31
1.2 Objet de la saisine	32
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.	33
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts	34
2 La cire d'abeilles	35
2.1 Production et caractéristiques de la cire	35
2.1.1 Les abeilles	35
2.1.2 Composition et propriétés physico-chimiques de la cire d'abeilles..	36
2.2 Réglementation	40
2.2.1 Réglementation européenne.....	41
2.2.2 Statut et règles applicables à la cire destinée à un usage apicole	43
2.3 La cire dans la colonie	47
2.3.1 Cire : production, manipulation, construction par l'abeille	47
2.3.2 Fonctions de la cire dans la ruche	47
3 La cire d'abeilles en France	51
3.1 La cire au sein de la filière apicole française.....	51
3.1.1 Abeilles et apiculteurs	52
3.1.2 Production de miel	53
3.1.3 Modification du climat et impact sur l'apiculture	54
3.1.4 Utilisation et recyclage de la cire par les apiculteurs	54
3.2 Circuits des cires	58
3.2.1 Le recyclage de la cire par l'apiculteur.....	58
3.2.2 Le recyclage de la cire par le cirier professionnel.....	62

3.2.3	Le gaufrage de la cire	64
3.3	Pratiques d'approvisionnement en cire.....	67
3.3.1	Approvisionnement des ciriers en cire brute.....	67
3.3.2	Fourniture des apiculteurs en feuilles de cires gaufrées	68
3.4	Marché de la cire, échanges et importations	69
3.4.1	Production et importations de cire (tous usages) par la France ..	71
3.4.2	Contrôles des cires importées	73
3.5	Prise en compte de la contamination et de l'adultération des cires d'abeilles en France	76
3.5.1	Les constats des apiculteurs.....	76
3.5.2	L'enquête administrative de la Brigade Nationale d'Enquêtes Vétérinaires et Phytosanitaires sur la « filière cire apicole »	76
3.5.3	Le Plan d'actions cire de la DGAI	78
4	Contaminations et adultérations de la cire à usage apicole.....	83
4.1	Contamination des cires par des substances chimiques et des éléments traces métalliques.....	83
4.1.1	Historique	83
4.1.2	Types de substances chimiques.....	84
4.2	Adultération de la cire	87
4.2.1	Historique	87
4.2.2	Composition chimique de la cire et adultération	88
5	Évaluation des risques pour l'abeille et la colonie liés à la contamination des cires par des substances chimiques et des éléments traces métalliques	91
5.1	Émission : état des lieux de la contamination des cires	91
5.1.1	État des lieux bibliographique de la contamination chimique des cires	92
5.1.2	Méthodes de laboratoire pour la recherche de substances chimiques dans la cire	123
5.1.3	État des lieux de la contamination des cires en France : résultats des enquêtes conduites.....	133
5.1.4	Discussion quant à l'état des lieux de terrain de la contamination des cires en France hexagonale.....	156

5.1.5	Limites et incertitudes de l'état des lieux de la contamination des cires en France	158
5.2	Exposition.....	159
5.2.1	Transfert de substances chimiques contaminantes entre matrices.	160
5.2.2	Scénarios d'exposition des abeilles aux substances chimiques contaminantes contenues dans la cire en vue d'estimer des teneurs acceptables provisoires	164
5.2.3	Application des scénarios d'exposition aux résultats obtenus par l'étude sur les cires distribuées en France	170
5.3	Conséquences de la présence de substances chimiques dans la cire sur la santé des abeilles et de la colonie.....	171
5.3.1	Étude bibliographique : effets de la contamination des cires par des substances chimiques sur la santé des abeilles et de la colonie	171
5.3.2	Bilan quant aux conséquences de la contamination de la cire sur les abeilles et la colonie	178
5.3.3	Limites et incertitudes de la revue bibliographique quant aux conséquences de la contamination chimique de la cire sur la santé des abeilles et de la colonie	179
5.4	Risque pour la santé des abeilles et de la colonie, lié aux cires contaminées par des substances chimiques	179
5.4.1	Outils disponibles pour l'évaluation du risque chimique d'une cire..	180
5.4.2	Bilan des outils disponibles pour évaluer le risque chimique d'une cire	182
5.4.3	Limites et incertitudes liés aux outils informatiques d'évaluation du risque chimique.....	182
5.4.4	Risque chimique évalué pour les cires circulant en France.....	183
5.4.5	Bilan quant au risque chimique des cires circulant en France...	201
5.4.6	Limites et incertitudes quant à l'évaluation du risque chimique des cires circulant en France.....	202
6	Adultération de la cire en France : émission, exposition et conséquences pour la santé des abeilles et de la colonie	204
6.1	État des lieux de l'adultération des cires	205
6.1.1	État des lieux bibliographique de l'adultération des cires	205

6.1.2	Méthodes de laboratoire pour la recherche d'adultération de la cire	207
6.1.3	État des lieux de l'adultération des cires en France : résultats des enquêtes conduites.....	212
6.1.4	Discussion sur l'état des lieux de l'adultération des cires françaises	221
6.1.5	Limites et incertitudes de l'état des lieux des cires françaises ..	222
6.2	Exposition des abeilles et de la colonie à des cires adultérées	223
6.3	Conséquences des cires adultérées sur la santé des abeilles et de la colonie	224
6.3.1	Effets de l'adultération de la cire par de la paraffine sur la santé des abeilles et la colonie	224
6.3.2	Effets de l'adultération de la cire par de la stéarine/acide stéarique sur la santé des abeilles et de la colonie	225
6.3.3	Bilan de la revue de la littérature sur les effets d'une cire adultérée pour la santé des abeilles et de la colonie	226
6.4	Bilan sur le risque pour la santé des abeilles et de la colonie, lié aux cires adultérées	226
7	Observations et cas cliniques de terrain	227
7.1	Un cas clinique d'adultération.....	227
7.1.1	Anamnèse et commémoratifs	227
7.1.2	Examen clinique.....	228
7.1.3	Hypothèses diagnostiques.....	229
7.1.4	Examens complémentaires.....	229
7.1.5	Interprétation des résultats d'analyse	229
7.2	Un cas clinique de contamination.....	229
7.2.1	Anamnèse et commémoratifs	229
7.2.2	Examen clinique.....	230
7.2.3	Hypothèses diagnostiques.....	231
7.2.4	Examens complémentaires.....	231
7.2.5	Interprétation des résultats d'analyse	232
7.2.6	Discussion et difficultés diagnostiques	234
8	Incertitudes	236

9	Recommandations du groupe de travail	245
9.1	Recommandations de bonnes pratiques pour les apiculteurs.....	245
9.2	Recommandations de bonnes pratiques pour les collectifs d'apiculteurs	247
9.3	Recommandations de bonnes pratiques pour les ciriers.....	248
9.4	Recommandations de bonnes pratiques pour les encadrants sanitaires et techniques apicoles	250
9.5	Recommandations pour les laboratoires	251
9.6	Recommandations de gestion à destination de l'Autorité compétente.....	251
9.7	Recommandations relatives aux substances à rechercher et à quantifier pour évaluer la qualité des cires	255
9.8	Recommandations relatives aux données écotoxicologiques et leur centralisation	256
9.9	Recommandations de recherches	257
9.10	Recommandation pour une veille sanitaire internationale	258
9.11	Dix recommandations pour une amélioration rapide de la qualité de la cire sélectionnées par les experts du GT Cires	259
10	Conclusions du groupe de travail	261
11	Bibliographie	266
11.1	Publications.....	266
11.2	Législation et réglementation	280
Annexe 1 : Lettre de saisine		285
Annexe 2 : Méthode de fonte de la cire		289
Annexe 3 : Certificat sanitaire accompagnant les cires à l'import, issu du règlement CE (142/2011)		290
Annexe 4 : Analyse de la bibliographie		292
Annexe 5 : Familles chimiques d'appartenance des substances relevées dans la revue de la littérature, activités associées par ordre d'occurrence décroissant.....		299
Annexe 6 : Analyses des contaminants chimiques présents dans la cire : protocoles et sources d'erreurs		301
Annexe 7 : Évaluation du protocole de broyage.....		309

Annexe 8 : Méthodologie d'évaluation des méthodes d'analyse pour la détection de l'adultération de la cire d'abeilles (Svečnjak et al., 2021).....	311
Annexe 9 : Analyses complémentaires réalisées pour l'analyse des adultérants par autocontrôles.....	316
Annexe 10 : Arbres de régression réalisés pour l'établissement de groupes de fréquence d'occurrence et de concentration moyenne substances détectées par les analyses des données des autocontrôles et des études Cimeqa et CRD	318
Annexe 11 : Méthode de sélection des dix recommandations les plus importantes pour une amélioration rapide de la qualité des cires en France	321

Sigles et abréviations

AB	: Agriculture Biologique
ADA	: Associations pour le Développement de l'Apiculture
AFSCA	: Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire
BNEVP	: Brigade Nationale d'Enquêtes Vétérinaires et Phytosanitaires
BPA	: Bonnes Pratiques Apicoles
Cimeqa	: Cires – Méthodes d'Evaluation de leur Qualité pour l'Apiculture
CCD	: <i>Colony Collapse Disorder</i> , Syndrome d'effondrement de colonies d'abeilles
CE	: Communauté Européenne
CES	: Comité d'Experts Spécialisé
CNOPSAV	: Conseil National d'Orientation de la Politique Sanitaire Animale et Végétale
CRD	: Convention Recherche et Développement
CSP	: Code de la Santé Publique
CPVADAAA	: Comité Permanent des Végétaux, des Animaux, des Denrées Alimentaires et de l'Alimentation Animale
DAR	: Projet de rapport d'évaluation (DAR) concernant une substance active transmis par un Etat membre rapporteur à l'EFSA
DD(CS)PP	: Directions Départementales de la Cohésion Sociale et de la Protection des Populations
DDETSP	: Directions Départementales de l'Emploi, du Travail, des Solidarités et de la Protection des Populations
DGAI	: Direction Générale de l'Alimentation
DGS	: Direction Générale de la Santé
DMPF ; DMF ; DMA	: Produits de dégradation de l'amitraz, N-(2,4-diméthylphényl)-N'-méthylformamidine (DMPF) ; N-(2,4-diméthylphényl)formamide (DMF) ; 2,4-diméthylaniline (DMA)
EM	: État Membre
ETM	: Éléments Traces Métalliques (métaux lourds)
FNCA	: Fédération Nationale des Coopératives Apicoles
FNOSAD	: Fédération Nationale des Organisations Sanitaires Apicoles Départementales
FTIR-ATR	: (<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy- Attenuated Total Reflectance</i>) spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier - réflectance totale atténuée
GC-MS	: (<i>Gas Chromatography – Mass Spectrometry</i>) chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
GDS	: Groupement de Défense Sanitaire
GDSA	: Groupement de Défense Sanitaire Apicole
GSTC	: Groupe Surveillance Toxicologie et Cofacteurs
HAP	: Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
HCH	: Hexachlorocyclohexane
HP	: Hydrocarbures de paraffine
HTGC-FID(MS)	: (<i>High-Temperature GC with Flame Ionization Detection (HTGC-FID)</i> , éventuellement complété par MS) chromatographie en phase gazeuse à haute température avec détection par ionisation de flamme/spectrométrie de masse
ITSAP	: Institut Technique et Scientifique de l'Abeille et de la Pollinisation
LD	: Limite de détection d'une substance par un laboratoire
LQ	: Limite de quantification d'une substance par un laboratoire
LOAEC	: <i>Lowest Observed Adverse Effect Concentration</i>

LMR	: Limites Maximales de Résidus
MMA	: Mortalités Massives Aiguës
MASA	: Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire
MES	: Matières En Suspension
MV	: Médicament Vétérinaire
NOAEC	: Dose maximale sans effet néfaste observé (<i>no observed adverse effect level</i> en anglais)
NOEC	: Dose maximale sans effet observé (<i>no observed effect level</i> en anglais)
NC	: Nomenclature Combinée
OCDE	: Organisation de coopération et de développement économiques
OMAA	: Observatoire des Mortalités et des Affaiblissements de l'Abeille mellifère
PBO	: Pipéronyl-butoxyde
PFAS	: Per- et polyfluoroalkylées
POP	: Polluants Organiques Persistants
PPP	: Produit phytopharmaceutique
PSE	: Programme sanitaire d'élevage
PSPC	: Plans de Surveillance et Plans de Contrôle
PVC	: Polychlorure de vinyle
RAR	: Rapport d'évaluation de renouvellement (RAR) concernant une substance active transmis par un Etat membre rapporteur à l'EFSA
SA	: Substance Active
SIVEP	: Service d'Inspection Vétérinaire et Phytosanitaire aux Frontières
SPA	: Sous-Produit Animal
TAP	: Teneur Acceptable Provisoire
TSA	: Technicien Sanitaire Apicole
UE	: Union Européenne
VTR	: Valeur Toxicologique de Référence

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composants de la cire d'abeilles <i>Apis mellifera</i> (Source : Tulloch 1980).....	38
Tableau 2 : Composition chimique relative des hydrocarbures dans les extraits des cires de rayons d' <i>A. mellifera carnica</i> de différents âges (Fröhlich et Riederer 2000)	38
Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques de la cire selon les textes en vigueur (European Food Safety Authority (EFSA) 2020), plages des paramètres physico-chimiques reportées dans la littérature pour la cire d'abeilles authentique (non adultérée).....	40
Tableau 4 : Paramètres physico-chimiques de la cire d'abeilles définis par différents textes réglementaires ou normes en Europe et en France (adapté d'après (European Food Safety Authority (EFSA) 2020)	46
Tableau 5 : Pourcentages minimaux d'adultération détectés pour différentes substances adultérantes dans la cire d'abeilles par la mesure de paramètres physico-chimiques de référence (Bernal et al. 2005).....	47
Tableau 6 : Quelques chiffres d'évolution du nombre d'apiculteurs et de colonies déclarées entre 1994 et 2024 (Source : ADA France).....	52
Tableau 7 : Nombre d'apiculteurs en France, répartition des ruches et volume de miel produit par type d'apiculteurs ; données 2023 (FranceAgriMer 2023).....	53
Tableau 8 : Extrait du règlement CE n°2021/632.....	70
Tableau 9 : Dispositions prévues concernant les cires importées ou en transit (extrait du tableau 2 de l'annexe XIV du règlement UE n°142/2011).....	71
Tableau 10 : Quantité de cire produite par la France de 2007 à 2017 (d'après FAOSTAT, 2025)	72
Tableau 11 : Extraction de TRACES-NT des importations de cires d'abeilles par la France de 2020 à 2023 provenant de pays hors UE, en kg (Source : DGAI)	73
Tableau 12 : Extraits des Résumés des Caractéristiques du Produit (RCP) des médicaments vétérinaires acaricides utilisables en France et quantités appliquées dans les ruches*	84
Tableau 13 : Critères définissant la fraude appliquée à l'adultération de la cire d'abeilles (EU Food Fraud Network 2019).....	89
Tableau 14 : Répartition des publications en fonction des zones géographiques et de la période	93
Tableau 15 : Fréquence de détection et intervalle des teneurs moyennes pour l'ensemble des contaminants chimiques (par ordre alphabétique) issus de la revue de la bibliographie	95
Tableau 16 : Données extraites de l'étude El Agrebi et al. (2020) comparant différentes natures de cires	101
Tableau 17 : Substances acaricides autorisées en France et exemples de substances non autorisées en France.....	102
Tableau 18 : Fréquence de détection, intervalle des teneurs moyennes et nombre de références identifiées pour différentes substances acaricides à usage apicole (en France et dans le monde).....	102
Tableau 19 : Familles chimiques d'appartenance des substances relevées dans la revue de la littérature, activités associées, par ordre d'occurrence décroissant	109

Tableau 20 : Organophosphorés retrouvés dans les cires à usage apicole selon la revue de la littérature	110
Tableau 21 : Pyréthriinoïdes retrouvés dans les cires à usage apicole selon la revue de la littérature	111
Tableau 22 : Organochlorés retrouvés dans les cires à usage apicole selon la revue de la littérature	114
Tableau 23 : Sulfites esters retrouvés dans les cires à usage apicole selon la revue de la littérature	115
Tableau 24 : Relevé des teneurs (exprimées en mg/kg) en ETM dans les publications retenues par la recherche bibliographique (LD : Limite de détection ; LQ : limite de quantification ; N/A : non disponible).....	120
Tableau 25 : Caractéristiques lipophiles de quelques contaminants chimiques (Sources : <i>Pesticides Properties DataBase</i> (PPDB), <i>Veterinary Substances DataBase</i> (VSDB), <i>Biopesticides DataBase</i> (BPDB) https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/) classés par ordre décroissant de lipophilie	123
Tableau 26 : Classification des contaminants chimiques d'après leurs propriétés physico-chimiques et leur stabilité dans la cire (Wallner 1999; Calatayud-Vernich et al. 2019).....	125
Tableau 27 : Points à surveiller pour la préparation des échantillons de cire en vue du dosage des contaminants chimiques (Source : GT Cires).....	128
Tableau 28 : L'analyse par ICP (<i>Inductively Coupled Plasma</i>).....	130
Tableau 29 : Caractéristiques lipophiles des HAP, PFAS, dioxines et furanes (Sources : <i>Pesticides Properties DataBase</i> (PPDB), <i>Veterinary Substances DataBase</i> (VSDB), <i>Biopesticides DataBase</i> (BPDB) https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)	130
Tableau 30 : Classement des quinze premières substances chimiques retrouvées dans les analyses des autocontrôles par rang d'occurrence et de teneur moyenne.....	136
Tableau 31 : Classement des quinze substances chimiques retrouvées dans les analyses de l'étude Cimeqa par occurrence et teneur moyenne	140
Tableau 32 : Classement des quinze premières substances chimiques retrouvées dans les analyses de l'étude CRD par occurrence et teneur moyenne	145
Tableau 33 : Synthèse des résultats des trois études françaises.....	149
Tableau 34 : Tableau comparatif des rangs d'occurrence des quinze premières molécules selon les études de terrain conduites en France.....	150
Tableau 35 : Tableau comparatif des teneurs moyennes des vingt premières molécules selon les études de terrain conduites en France	150
Tableau 36 : Fréquences d'apparition des combinaisons de deux substances retrouvées dans plus de 10 % des échantillons de l'étude Cimeqa.....	154
Tableau 37 : Fréquences d'apparition des combinaisons de deux substances retrouvées dans plus de 10 % des échantillons de l'étude CRD	155
Tableau 38 : Molécules dont la teneur dans les échantillons de cire dépasse la TAP calculée pour la CRD	171
Tableau 39 : Effectifs des échantillons de cires des études Cimeqa et CRD en fonction de leur QR (calculé par l'outil Bee Tox Wax) et des seuils de QR définis dans la littérature scientifique	185

Tableau 40 : Nombre d'échantillons appartenant aux trois catégories définies par les seuils de 250 et 5 000 d'après leur QR (Bee Tox Wax)	192
Tableau 41 : Changement de catégories des échantillons après retrait des acaricides autorisées pour un usage apicole dans le calcul du QR (Bee Tox Wax).....	193
Tableau 42 : Synthèse, pour les études CRD et Cimeqa, des QR moyens et des médianes de QR pour les quatre acaricides à usage apicole	195
Tableau 43 : Moyenne des QR des pyréthrinoïdes dans les études CRD et Cimeqa (seuls les échantillons positifs ont été pris en compte). Les valeurs de DL ₅₀ ainsi que les usages des différentes molécules sont rappelées	197
Tableau 44 : Méthodes de contrôle des caractéristiques physico-chimiques de la cire d'abeilles	208
Tableau 45 : Méthodes chimiques de détection des adultérations de la cire d'abeilles précisées dans les normes	209
Tableau 46 : Résultats des analyses de recherche d'adultérants des 345 échantillons de l'étude Cimeqa	218
Tableau 47 : Bilan des mesures de point de fusion	219
Tableau 48 : Résultats des analyses de recherche d'adultérants des 152 échantillons de l'étude CRD.....	220
Tableau 49 : Récapitulatif des recherches d'adultérants dans les échantillons des études de terrain françaises.....	221
Tableau 50 : Résultats d'analyses des quatre lots échantillonnés lors des investigations conduites dans le cadre d'OMAA	232
Tableau 51 : Incertitudes à prendre en compte pour l'évaluation du risque pour les abeilles et la colonie, lié à la contamination de la cire par des substances chimiques	236
Tableau 52 : Incertitudes à prendre en compte pour l'évaluation du risque pour les abeilles et la colonie lié à l'adultération de la cire	240
Tableau 53 : Recommandations destinées aux apiculteurs	245
Tableau 54 : Recommandations destinées aux collectifs d'apiculteurs.....	247
Tableau 55 : Recommandations destinées aux ciriers.....	249
Tableau 56 : Recommandations destinées aux encadrants sanitaires et techniques apicoles	250
Tableau 57 : Recommandations destinées aux laboratoires d'analyse.....	251
Tableau 58 : Recommandations destinées à l'Autorité compétente.....	252
Tableau 59 : Recommandations relatives aux substances à rechercher et à quantifier pour évaluer la qualité des cires	255
Tableau 60 : Recommandations relatives aux données écotoxicologiques et leur centralisation	256
Tableau 61 : Recommandations de recherches.....	257
Tableau 62 : Dix recommandations sélectionnées par les experts comme les plus opérationnelles et ayant un impact potentiellement rapide	259
Tableau 63 : Profil de recherche bibliographique.....	292

Tableau 64 : Éléments de classement des articles visant leur utilisation pour la rédaction des différentes parties du rapport et évaluation de la qualité des articles	294
Tableau 65 : Classement des substances par fréquence d'occurrence décroissante et mode d'action selon IRAC, FRAC ou HRAC	299
Tableau 66 : Exemples de protocoles d'analyses des résidus de contaminants chimiques dans la cire	301
Tableau 67 : Exemples de protocoles d'analyses des résidus d'ETM dans la cire	306
Tableau 68 : Sources d'erreur à envisager dans la préparation de la prise d'essai et dans l'analyse	307
Tableau 69 : Technique de dosage préférentiellement appliquée selon la substance chimique étudiée	308
Tableau 70 : Résultats d'analyses du broyat analysé en décuplicat	310
Tableau 71 : Méthodes d'analyses physico-chimiques et avancées retenues	311
Tableau 72 : Inventaire des méthodes analytiques pour la détection de la paraffine dans la cire d'abeilles (utilisées comme données d'entrée pour la grille d'évaluation)	312
Tableau 73 . Inventaire des méthodes analytiques pour la détection de la stéarine/acide stéarique dans la cire d'abeilles (utilisées comme données d'entrée pour la grille d'évaluation)	314

Liste des figures

Figure 1 : Cadres et feuilles de cire gaufrée aux formats corps et hausse de ruche (Source : GT Cires).....	25
Figure 2 : Définitions attenantes à la cire d'abeilles (Source : GT Cires et Pharmacopée Européenne pour le tableau)	26
Figure 3 : Représentation d'une ruche Dadant dix cadres (Source : GT Cires).....	29
Figure 4 : Évolution de la ruche au cours des saison avec mise en place et retrait des hausses pour la récolte du miel (Source : GT Cires).....	29
Figure 5 : Organisation des galettes de cires et œufs dans les alvéoles.....	36
Figure 6 : Écailles de cires, face ventrale de l'abdomen d'une ouvrière (Source : Musée de l'agriculture et de l'alimentation du Canada).....	37
Figure 7 : Domaines d'utilisation de la cire d'abeilles (d'après FAO 2005).....	41
Figure 8 : Législation européenne régissant les différents usages de la cire	42
Figure 9 : Exemple d'un cadre contenant du couvain operculé au centre (flèche blanche) et des alvéoles de miel operculés en périphérie (flèche noire). Différence de composition entre les opercules (rôles différents) visible à l'œil nu (crédit photo : Christophe Roy).....	48
Figure 10 : Acteurs de la filière apicole, (d'après ADA France 2024).....	51
Figure 11 : Constitution d'une ruche Dadant 10 cadres (Source : GT Cires).....	55
Figure 12 : La grille à reine entre le corps de ruche et les hausses, élément fréquemment utilisé, permet d'éviter la ponte de la reine dans les alvéoles des cadres de hausse (crédit photo : Christophe Roy).....	55
Figure 13 : Circuits des cires et différents intervenants (Vidau et al. 2023).....	58
Figure 14 : Exemple d'un cadre de corps de la ruche ayant contenu du couvain et des réserves (pollens, pain d'abeilles, miel de réserve) et dont la cire est usagée (crédit photo : Christophe Roy)	59
Figure 15 : Exemple d'un cadre de corps de hausse après extraction du miel (crédit photo : Christophe Roy)	60
Figure 16 : Obtention de pains de cire d'opercules (crédit photos : Christophe Roy).....	60
Figure 17 : Pains de cire d'opercules de couleur jaune clair à brun clair (au-dessus) et pain de cire de corps, de couleur noirâtre (en-dessous) (crédit photo : Christophe Roy).....	61
Figure 18 : Pain de cire destiné à être recyclé en cire gaufrée, la traçabilité est assurée par le numéro d'enregistrement sanitaire et le numéro de lot (crédit photo : Christophe Roy)	63
Figure 19 : Réception des pains de cire par le cirier : un premier tri en fonction de la couleur et de l'odeur peut être effectué (crédit photo : Christophe Roy).....	64
Figure 20 : Impression des alvéoles sur le ruban de cire (crédit photo : Christophe Roy)	65
Figure 21 : Découpage des feuilles de cires gaufrées prêtes à être emballées et commercialisées (crédit photo : Christophe Roy).....	65
Figure 22 : Voies d'approvisionnement possibles en cire d'abeilles, pour un cirier (Source : GT Cires)	67

Figure 23 : Voies d'approvisionnement des apiculteurs en feuilles de cire gaufrée (Source : GT Cires)	68
Figure 24 : Organisation du dispositif OMAA (Plateforme ESA 2024).....	80
Figure 25 : Le tableau périodique des éléments regroupant les métaux, les métalloïdes et les ETM (Source : GT Cires).....	87
Figure 26 : Schéma conceptuel de l'évaluation des risques pour la santé de l'abeille et de la colonie liés à la contamination de la cire par des substances chimiques et des éléments traces métalliques (ETM) (Source : GT Cires).....	91
Figure 27 : Nombre d'occurrences reportées dans le tableau des données extraites de la bibliographie parmi les 69 publications	99
Figure 28 : Comparaison des teneurs moyennes (A) et maximales (B) de substances détectées en fonction de l'origine de la cire parmi les 69 études (pour celles qui en faisaient mention)	100
Figure 29 : Évolution des teneurs en acaricides dans les cires commerciales suisses après obtention d'une AMM (d'après Kast, Kilchenmann, et Charrière 2021).....	105
Figure 30 : Les différentes étapes de l'analyse de résidus de contaminants chimiques (Source : GT Cires).....	126
Figure 31 : Les différents modes d'ionisation en chromatographie couplée à la spectrométrie de masse et leurs applications selon la polarité des substances chimiques analysées (Source : GT Cires).....	128
Figure 32 : Description du processus analytique en vue du dosage d'un contaminant dans la cire d'abeilles (Source : GT Cires)	131
Figure 33 : A gauche : teneur moyenne en mg/kg des substances chimiques trouvées dans 82 échantillons de cire d'abeilles. A droite : teneur médiane en mg/kg trouvés dans 48 échantillons de cire d'abeilles (Source : données d'autocontrôles réalisés par les ciriers en France).....	134
Figure 34 : Représentation des cinq zones géographiques définies dans le cadre de la CRD. Les lots (A à E) ont été définis afin que les effectifs (en nombre de colonies) soient à peu près équivalents entre eux	142
Figure 35 : Pourcentage de détection de chaque ETM recherché parmi les cires analysées (n=152).....	146
Figure 36 : Teneurs médianes (en mg/kg) des ETM retrouvés dans les cires (seuls les échantillons dans lesquels des ETM ont été détectés par les analyses apparaissent sur cette figure).....	147
Figure 37 : Nombre d'ETM quantifiés par échantillon de cire.....	148
Figure 38 : Distribution des échantillons de cire en fonction du nombre de substances par échantillon selon l'étude Cimeqa ou CRD (avec retrait de la substance thymol pour la CRD)	152
Figure 39 : Pourcentage d'échantillons en fonction du nombre de substances par échantillon selon l'étude Cimeqa ou CRD (avec retrait de la substance thymol pour la CRD)	152
Figure 40 : À gauche : comparaison du nombre de substances (acaricides inclus) par échantillon entre les études Cimeqa et CRD ; à droite : comparaison du nombre de substances (acaricides exclus) par échantillon entre les études Cimeqa et CRD	153

Figure 41 : À gauche : comparaison du nombre de substances avec ou sans les acaricides apicoles (CRD) ; à droite : comparaison du nombre de substances avec ou sans les acaricides apicoles (Cimeqa)	153
Figure 42 : À gauche : relation entre le nombre d'acaricides apicoles et le nombre total de substances dans les mélanges retrouvés dans l'étude CRD ; à droite : relation entre le nombre d'acaricides apicoles et le nombre total de substances dans les mélanges retrouvés dans l'étude Cimeqa	154
Figure 43 : Schéma des voies d'exposition des abeilles et de la colonie aux substances chimiques contaminantes contenues dans la cire (Source : GT Cires)	160
Figure 44 : Représentation schématisée du scénario d'exposition n°1 (Source : GT Cires)	166
Figure 45 : Schéma du scénario d'exposition n°2 (Source : GT Cires)	168
Figure 46 : Capture d'écran de la page Bee Tox Wax avec choix de la langue et exemples de substances telles qu'elles apparaissent selon leur toxicité (basée sur la DL ₅₀). Amitraze, fluméthrine, tau-fluvalinate et thymol correspondent à des acaricides autorisés en France pour un usage apicole	180
Figure 47 : Capture d'écran de l'outil Bee Tox Wax montrant les messages fournis lors de la saisie des teneurs en contaminants dans l'échantillon analysé	181
Figure 48 : Densité de probabilité du QR des cires analysées (n = 59) par des ciriers français calculée à l'aide de l'outil Bee Tox Wax (Saegerman, communication personnelle)	184
Figure 49 : QR des échantillons de cires analysés dans le cadre de l'étude CRD (à gauche) et de l'étude Cimeqa (à droite)	185
Figure 50 : Proportion d'échantillons de l'étude CRD appartenant aux différentes catégories de cires définies selon leur QR, en fonction de l'origine géographique	186
Figure 51 : Comparaison des QR pour les échantillons de cires de l'étude CRD en fonction de leur origine géographique (France, UE, UE ou hors UE et hors UE).....	187
Figure 52 : Distribution des QR des cires analysées dans l'étude Cimeqa en fonction de leur provenance en France telle que définie en Figure 34	187
Figure 53 : Niveau de toxicité (ETR) des échantillons de cires de l'étude Cimeqa selon le circuit d'approvisionnement	188
Figure 54 : Fréquence de chaque type de cire (défini par son QR) pour chacun des quatre distributeurs échantillonnés dans le cadre de la CRD (groupements d'apiculteurs, ciriers, enseignes spécialisées, enseignes générales).....	189
Figure 55 : Niveau de toxicité (ETR) des cires de l'étude Cimeqa, en fonction de la nature de la cire utilisée	189
Figure 56 : Répartition des échantillons de cires prélevés dans le cadre de la CRD en fonction de la nature des cires ayant été utilisées (opercules ou mélanges) pour confectionner les feuilles de cire	190
Figure 57 : ETR en fonction du mode de production de la cire d'opercules : AB à gauche et conventionnel à droite	190
Figure 58 : Niveau de toxicité (ETR) des cires en fonction du mode de production apicole (étude Cimeqa).....	191
Figure 59 : QR (Bee Tox Wax) des cires analysées dans le cadre de l'étude CRD, en fonction du système de production : AB à gauche, conventionnel à droite	191

Figure 60 : A : distribution de la part représentée par les acaricides apicoles autorisés en France (amitraze et métabolites, fluméthrine, tau-fluvalinate, et pour la CRD, thymol) dans le QR total des échantillons de cires (Cimeqa et CRD). B : la part représentée par les acaricides dans le QR des échantillons est similaire entre les deux études (CRD et Cimeqa).....	192
Figure 61 : QR avec (à gauche du graphique) et sans (à droite du graphique) prise en compte de la part de QR des acaricides autorisés pour un usage apicole. Présentation des échantillons dont la qualité passe de mauvaise (QR>5 000) à intermédiaire (QR<5 000) en cas de retrait du QR lié aux acaricides apicoles (31 échantillons issus de la CRD et 5 échantillons issus de Cimeqa).....	193
Figure 62 : Part de QR de chaque acaricide à usage apicole autorisés en France dans le QR des acaricides autorisés dans les échantillons des études Cimeqa et CRD	194
Figure 63 : Part du QR des pyréthrinoïdes dans le QR total des cires des études CRD et Cimeqa.....	199
Figure 64 : QR du propargite dans les études Cimeqa et CRD.....	200
Figure 65 : Schéma conceptuel de l'évaluation des risques pour la santé des abeilles et de la colonie liés aux cires d'abeilles adultérées	204
Figure 66 : Définitions : Cire adultérée ; cire falsifiée	205
Figure 67 : Densité de probabilité estimée en fonction du point de fusion de la cire d'abeilles (source : données d'autocontrôles réalisés par les ciriers en France).....	213
Figure 68 : Pourcentage d'adultérant retrouvé dans la cire d'abeilles analysée dans le cadre des autocontrôles réalisés par les ciriers en France	214
Figure 69 : Densité de probabilité estimée en fonction du pourcentage d'hydrocarbures retrouvés dans la cire d'abeilles	214
Figure 70 : Indice d'acide (mg de KOH/g de cire) mesuré sur 253 échantillons de cires de l'étude Cimeqa	216
Figure 71 : Voies d'exposition aux substances adultérantes contenues dans la cire pour les abeilles et la colonie (source : GT Cires)	223
Figure 72 : Cadres de cires filés et récemment gaufrés stockés en entrepôt et présentant des feuilles de cires qui se sont effondrées, formant un agglomérat au pied des cadres (Crédit photo : Christophe Thénault).....	228
Figure 73 : Cadres de cires filés, récemment gaufrés et introduits dans des ruches peuplées et présentant des affaissements de cires à l'origine de zones lacunaires, d'une construction irrégulière et de nouvelles bâtisses libres par les ouvrières cirières (Crédit photo : Christophe Thénault).....	228
Figure 74 : Couvain en mosaïque sur le cliché de droite (crédit photographique : OMAA)..	230
Figure 75 : Diagramme Prisma de la revue de la bibliographie réalisée pour l'évaluation des risques pour les abeilles et la colonie lié à la contamination et à l'adultération de la cire	297
Figure 76 : Présentation de la méthodologie d'évaluation des méthodes d'analyse pour la détection de l'adultération de la cire d'abeilles (Svečnjak et al. 2021).....	312
Figure 77 : Densité de probabilité estimée en fonction de l'indice de saponification de la cire d'abeilles (source : données d'autocontrôles réalisés par certains ciriers en France)	316
Figure 78 : Densité de probabilité estimée en fonction de l'indice d'acidité de la cire d'abeilles (source : données d'autocontrôles réalisés par certains ciriers en France).....	316

Figure 79 : Densité de probabilité estimée en fonction de l'indice d'ester de la cire d'abeilles (source : données d'autocontrôles réalisés par les ciriers en France).....	317
Figure 80 : Densité de probabilité estimée en fonction du rapport ester/acide de la cire d'abeilles (source : données d'autocontrôles réalisés par certains ciriers en France)	317
Figure 81 : Arbres de régression pour l'établissements des groupes de fréquences d'occurrence (à gauche) et de concentration (à droite) des substances détectées pour les analyses des autocontrôles de certains ciriers en France.....	318
Figure 82 : Arbres de régression pour l'établissements des groupes de fréquences d'occurrence (à gauche) et de concentration (à droite) des substances détectées pour les analyses lors de l'étude Cimeqa	319
Figure 83 : Arbres de régression pour l'établissements des groupes de fréquences d'occurrence (à gauche) et de concentration (à droite) des substances détectées pour les analyses lors de la CRD	320

Glossaire

Dans le cadre de ce rapport d'expertise, les termes ci-dessous ont la définition suivante :

Acceptation : l'acceptation de la cire par les abeilles correspond à l'appropriation et l'utilisation par les abeilles de la cire gaufrée des cadres mis en place dans la ruche et servant d'amorce à la construction des alvéoles par les ouvrières cirières. Lorsque la cire introduite n'est pas utilisée, on parle de non-acceptation, ou rejet.

Adultération : l'adultération de la cire d'abeilles est caractérisée par la présence d'un ou de plusieurs ingrédient(s) n'entrant pas dans la composition originale du produit légitime. A titre d'exemple, les substances suivantes (les plus citées dans la littérature) peuvent être ajoutées en tant qu'adultérants de la cire d'abeilles : paraffine, stéarine/acide stéarique, palmitine, suif, etc. **Adultération (selon la définition de la Commission Européenne)** : « Dans le contexte des denrées alimentaires, la fraude signifie que la description de l'origine des denrées alimentaires, de leur composition et de la manière dont elles ont été obtenues et/ou préparées doit être véridique, c'est-à-dire que rien de ce qui a une valeur économique moindre ne doit être ajouté, ou supprimé s'il s'agit d'une valeur économique supérieure. Si les denrées alimentaires sont mal décrites, c'est-à-dire que les informations sur l'origine, la composition, etc. fournies aux clients ne sont pas véridiques et si cette description erronée est faite dans l'intention de tromper le client en vue d'un gain financier, il y a fraude alimentaire - également connue sous le nom **d'adultération** pour des raisons économiques ». https://knowledge4policy.ec.europa.eu/food-fraud-quality/topic/food-fraud_en

Biocides : les substances actives (SA) et les préparations contenant une ou plusieurs SA (présentées sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur) qui sont destinées à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de tout autre manière, par une action chimique ou biologique (par exemple, rodenticides, fongicides, insecticides, molluscicides, etc.).

Cadre : il s'agit de la structure qui, dans la plupart des modèles de ruches, permet de maintenir la cire gaufrée (cf. Figure 1). Les cadres sont mobiles dans la plupart des modèles de ruches utilisés aujourd'hui en France, permettant de les sortir facilement en vue de leur examen, ou bien lors de l'extraction du miel (pour les cadres de hausse).

Cadres cirés : les feuilles de cire gaufrée sont fixées sur les cadres par l'intermédiaire de fils métalliques disposés au travers du cadre (cf. Figure 1). Les abeilles construisent alors les cellules de façon régulière sur les cadres, ceci permet ensuite une extraction plus facile dans les centrifugeuses. Il existe également dans le commerce des cadres en plastique, prêts à bâtir. L'expertise conduite a pour objectif d'évaluer un risque lié à la cire et ne s'intéressera donc pas à ces cadres en plastique.

Cadre de corps : cadre placé dans le corps de la ruche. Les abeilles y forment des alvéoles pour recevoir les stades immatures (œufs, larves, nymphes), ou certaines réserves de nourriture comme le pollen ou le miel (cf. Figure 1 ; Figure 3 ; Figure 4).

Cadre de hausse : cadre destiné à recevoir les rayons contenant le miel. Ces cadres sont positionnés au-dessus du corps de la ruche (cf. Figure 1 ; Figure 3 ; Figure 4).



Figure 1 : Cadres et feuilles de cire gaufrée aux formats corps et hausse de ruche (Source : GT Cires)

Carnauba : cire issue de feuilles de palmier. Généralement sous la forme de copeaux, cassants, très odorants. La cire est obtenue par le battage des feuilles, suivi d'un raffinage.

Cellule : alvéole des rayons de cire dans laquelle les abeilles déposent la nourriture ou la reine pond les œufs.

Cérésine : mélange d'hydrocarbures, généralement obtenu lors du processus de purification de l'ozokérite (argile naturelle).

Cire : mélange composé d'ester d'acides gras et d'alcools gras, pouvant être d'origine naturelle (animale, végétale ou minérale) ou artificielle.

Cire adultérée (cf. Figure 2) : dans le cadre de cette expertise, prend en compte toute situation aboutissant à la présence d'adultérant dans la cire sans la restreindre à la fraude, et diffère de celle de la Commission européenne, rappelée ci-dessus.

Cire d'abeilles : sécrétion d'un composé organique lipidique (cire naturelle, cf. Figure 2) par quatre paires de glandes cirières des abeilles pour la fabrication des alvéoles. La production de cire par l'abeille ouvrière débute principalement le 9^e jour après l'émergence de l'abeille adulte et atteint son maximum du 12^e au 18^e jour. Cette production de cire nécessite beaucoup d'énergie : on estime qu'une colonie d'abeilles doit consommer de 4 à 10 kilogrammes de miel pour produire un kilogramme de cire. Cette sécrétion est naturelle (Hepburn et al. 1986).

Cire d'abeilles jaune (*Cera flava*) : selon la dénomination et la définition de la **Pharmacopée Européenne** : cire obtenue par fusion, à l'aide d'eau chaude, des parois des alvéoles construites par l'Abeille domestique *Apis mellifera* L. et élimination des matières étrangères.

Cire blanche (*Cera alba*) : selon la dénomination et la définition de la **Pharmacopée Européenne** : cire obtenue par blanchiment artificiel de cire d'abeilles jaune.

En apiculture, ces qualifications (cire jaune et cire blanche) ne sont pas utilisées.

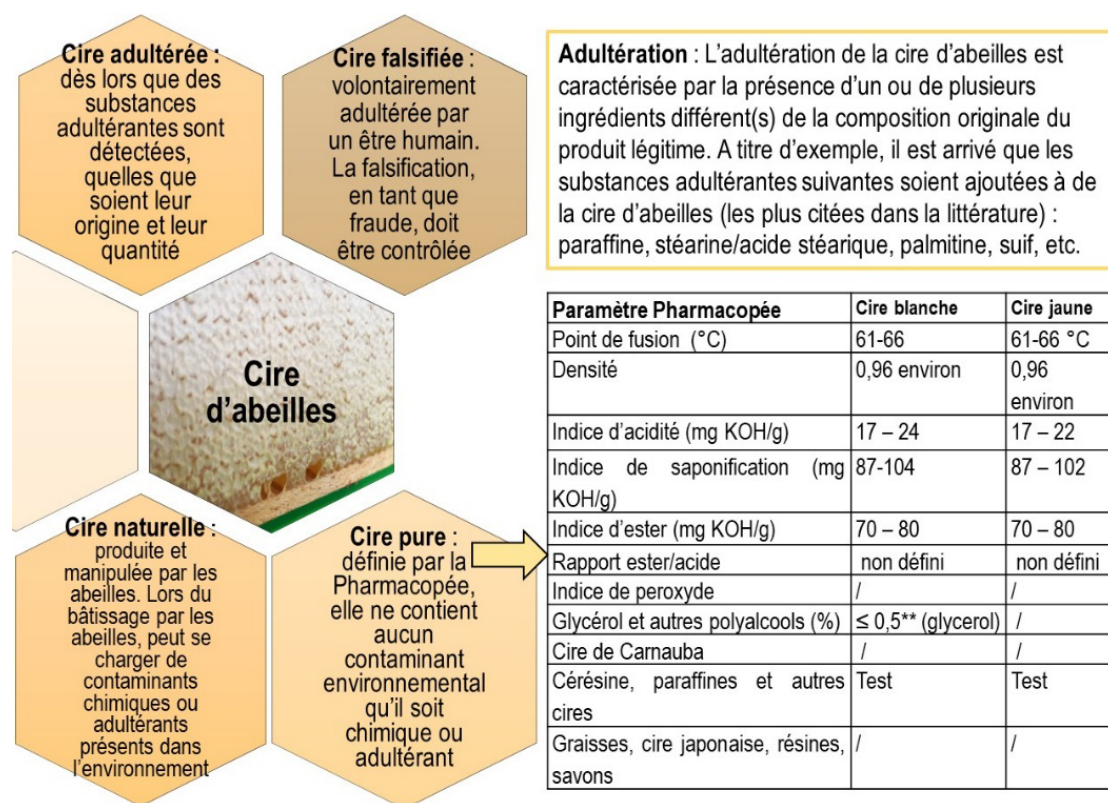


Figure 2 : Définitions attenantes à la cire d'abeilles (Source : GT Cires et Pharmacopée Européenne pour le tableau)

Cire de brèche : usuellement ce sont des fragments naturels de rayons de miel découpés au couteau mais, dans ce rapport, les cires de brèches correspondent à des fragments de cire issu de la ruche (qu'elle soit de hausse ou de corps).

Cire brute : cire recyclée après fonte et solidification constituant les pains de cire.

Cire gaufrée : plaque de cire préformée emboutie (la forme des alvéoles y a été imprimée) que l'on fixe sur les cadres de corps ou de hausse et qui permettent aux abeilles de bien structurer leurs rayons.

Colonie d'abeilles : animal formé d'une communauté d'abeilles elle-même constituée d'une reine et de plusieurs milliers d'abeilles, et, pendant une partie de l'année, de mâles (faux bourdons) ; les abeilles vivent ensemble sous forme d'unité sociale, la colonie, qui représente un superorganisme.

Contaminant chimique de la ruche ou substance chimique contaminante : un contaminant chimique correspond à toute substance chimique potentiellement nocive, d'origine exogène, (produit phytopharmaceutique, médicament vétérinaire, biocide) qu'elle soit synthétique et/ou naturelle, susceptible de se retrouver dans les produits de la ruche. L'origine du contaminant chimique peut être : une contamination de l'environnement, une contamination accidentelle au cours de la production, de la transformation ou de la conservation des produits de la ruche ou résulter de l'application de traitements aux colonies.

Corps de ruche : partie de la ruche dans laquelle l'apiculteur fait développer la colonie d'abeilles (cf. Figure 3 ; Figure 4).

Couvain : ensemble des formes immatures de l'abeille (œufs, larves et nymphes d'une colonie) que les nourrices (jeunes ouvrières d'abeilles) sont chargées d'entretenir et de protéger. Les premiers stades immatures (œufs et larves) constituent le couvain dit ouvert (les cellules ne sont pas fermées) et accessibles pour les abeilles nourricières. Les cellules sont

par la suite fermées par un opercule de cire (couvain dit fermé ; cf. ci-dessous). La nymphose a lieu dans ces alvéoles operculées.

Couvain operculé (ou fermé) : couvain dont les alvéoles ont été obturées par les abeilles avec de la cire et qui abritent les nymphes jusqu'à l'éclosion.

Couvain ouvert : couvain non operculé dans lequel on trouve les œufs (moins de 3 jours) et les larves. On peut noter que l'operculation d'une cellule d'abeille ouvrière a lieu le 9^e jour après la ponte de l'œuf par la reine.

Falsifier : action d'altérer, de dénaturer volontairement quelque chose pour tromper (Dictionnaire Larousse). Dans le présent rapport seront notamment évoquées des « cires falsifiées » (cf. Figure 2).

Fond de cuve : reliquat de cires et déchets obtenu dans le fond de cuve à la fin du processus de fonte.

Force de la colonie : la force d'une colonie s'évalue en tenant compte du nombre d'abeilles, de cellules de couvain operculé et non operculé et de la surface occupée par les ressources nourricières (miel - nectar, pollen - pain d'abeille). La cinétique de développement de la colonie et son activité générale sont également des éléments souvent pris en compte.

Gaufrage : technique de pressage et d'impression d'empreintes de cellules sur les feuilles de cire d'abeilles.

Gaufrage à façon : ce terme regroupe plusieurs pratiques. Il peut s'agir :

- d'un échange de cire brute apportée par un apiculteur contre des feuilles de cires dites gaufrées à façon, c'est-à-dire aux dimensions souhaitées. Dans ce cas, les feuilles de cires ne proviennent pas de la transformation de la cire apportée par l'apiculteur et seule la prestation de transformation est rémunérée (mais pas la matière première qu'est la cire) ;
- de la transformation (fonte, laminage et gaufrage) par un cirier d'un lot de cire brute personnel apporté par l'apiculteur (ou groupement d'apiculteurs). Dans ce cas, l'apiculteur (ou le groupement) récupère sa propre cire sous forme de cire gaufrée (fonctionnement en circuit fermé). Ce système est également qualifié de « gaufrage d'un lot personnalisé ».

Glandes cirières : glandes localisées sur la face inférieure de l'abdomen d'une ouvrière entre les quatrième, cinquième, sixième et septième anneaux, qui sécrètent de la cire. La cire apparaît liquide et transparente, se solidifie en écaille sur les **plaques cirières** ou **miroirs à cire**.

Grille à reine : il s'agit d'une grille dont les dimensions permettent aux abeilles ouvrières de circuler librement au travers tandis que la reine et les mâles qui sont plus gros ne le peuvent pas. L'usage d'une telle grille, en la positionnant entre les cadres de corps et de hausse, permet à l'apiculteur de confiner la reine dans le corps de ruche et donc d'éviter la ponte dans les cadres de hausse et séparer strictement les cadres de couvain des cadres de hausse destinés uniquement à la récolte du miel.

Hausse : partie supérieure d'une ruche, située au-dessus du corps de ruche. Elle a une fonction de grenier à miel (cf. Figure 3 et Figure 4).

Insecticides : substances actives ayant la propriété de tuer les insectes, leurs larves et/ou leurs œufs.

Médicament : toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'être humain ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou

modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique (par exemple pour les médicaments antiparasitaires, les acaricides, les insecticides, les acaricides/insecticides).

Operculation : fait de recouvrir une cellule par de la cire. Les abeilles operculent les cellules par une pellicule de cire lorsque ces dernières contiennent soit :

- du miel (cadres de hausses, cadres de corps) : le nectar rapporté à la ruche est stocké dans des alvéoles (sous forme de miel). Lorsque la teneur en eau est suffisamment réduite, les alvéoles sont recouvertes par les abeilles d'un opercule de cire qui les protège de l'humidité. L'apiculteur récolte donc uniquement les miels operculés, garantie d'une bonne conservation du miel, le miel non operculé étant *a priori* plus humide et susceptible de fermenter ;
- du couvain : lorsque les larves atteignent un certain âge, les nourrices referment les alvéoles où les larves continuent leur développement (nympheose), jusqu'à leur émergence (couvain fermé ou operculé).

Opercule : c'est le bouchon de cire. Son aspect visuel et sa composition sont différents selon qu'il s'agit d'un opercule de couvain ou d'un opercule de miel. Les opercules faisant l'objet d'un recyclage par les apiculteurs sont les opercules récupérés lors de la récolte du miel.

Ouvrière : catégorie d'abeilles femelles, remplissant successivement plusieurs fonctions : nettoyeuse, nourricière, magasinnière, cirière, maçonne, ventileuse, gardienne et enfin butineuse. Elles peuvent vivre environ 45 jours en été et six mois en hiver.

p : la valeur de « p » correspond à la probabilité de se tromper ; le seuil de significativité utilisé pour ces travaux correspond à celui communément admis par la communauté scientifique de $p < 0,05$.

Pain de cire : bloc de cire obtenu après fonte, filtrage et solidification de la cire d'abeilles dans un moule.

Paraffine : cire artificielle minérale issue de la pétrochimie.

Pesticide : ce terme a été évité dans le rapport. En cas d'utilisation, c'est à son sens anglais qu'il fait référence, c'est-à-dire : qui regroupe les produits phytopharmaceutiques (produits de protection des plantes) et les biocides (c'est-à-dire tous les produits de lutte contre les organismes nuisibles), et les médicaments. Dans la suite du texte, le terme *pesticide* est utilisé par défaut lorsqu'il n'a pas été possible de le préciser, dans ce cas, il sera écrit en italique.

Produits phytopharmaceutiques : ce sont des produits chimiques (d'origine naturelle ou de synthèse) utilisés pour soigner, protéger, aider à la croissance des végétaux ou encore pour en prévenir les maladies. Ce mot désigne des produits utilisés pour contrôler des plantes (herbicides), des insectes ou acariens (insecticides/acaricides), des champignons (fongicides).

Propolis : substance résineuse récoltée par les abeilles entre autres sur les bourgeons des arbres, en particulier ceux des peupliers et des conifères. Cette résine, mélangée avec de la cire, devient la propolis et leur sert à colmater les interstices des parois de la ruche et à moduler la taille de l'ouverture par laquelle elles vont et viennent (Svetikienė et al. 2024; Vidal-Naquet 2015).

Résidu : dans le cadre des médicaments vétérinaires et des produits phytopharmaceutiques, ce terme est habituellement utilisé pour qualifier les substances actives et leurs métabolites qui se retrouvent dans les denrées alimentaires. Dans le cadre de la saisine, le terme résidu sera utilisé pour les SA et leurs métabolites et produits de dégradation qui peuvent être retrouvés dans n'importe quel compartiment de l'environnement.

Ruche : structure d'élevage abritant la colonie d'abeilles domestiques (exemple ci-après Figure 3, d'une ruche Dadant 10 cadres).

Rucher : ruche ou ensemble de ruches sur un même emplacement.

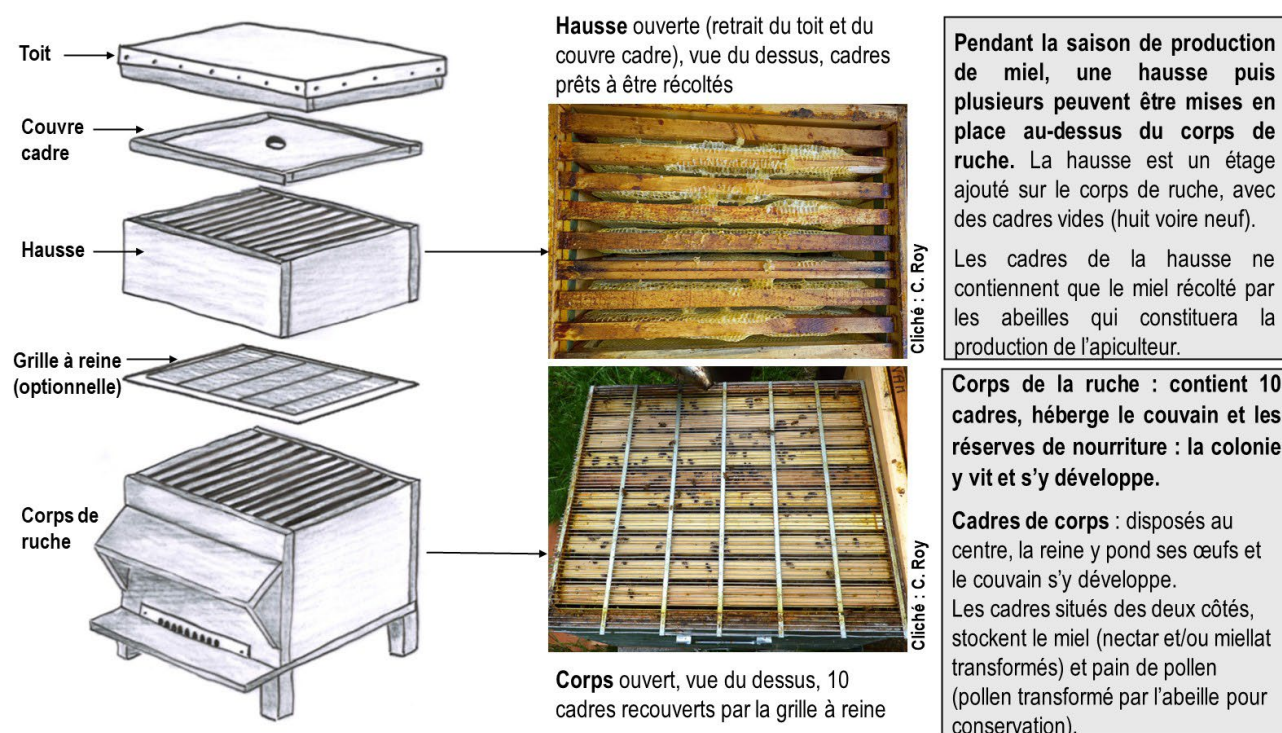


Figure 3 : Représentation d'une ruche Dadant dix cadres (Source : GT Cires)

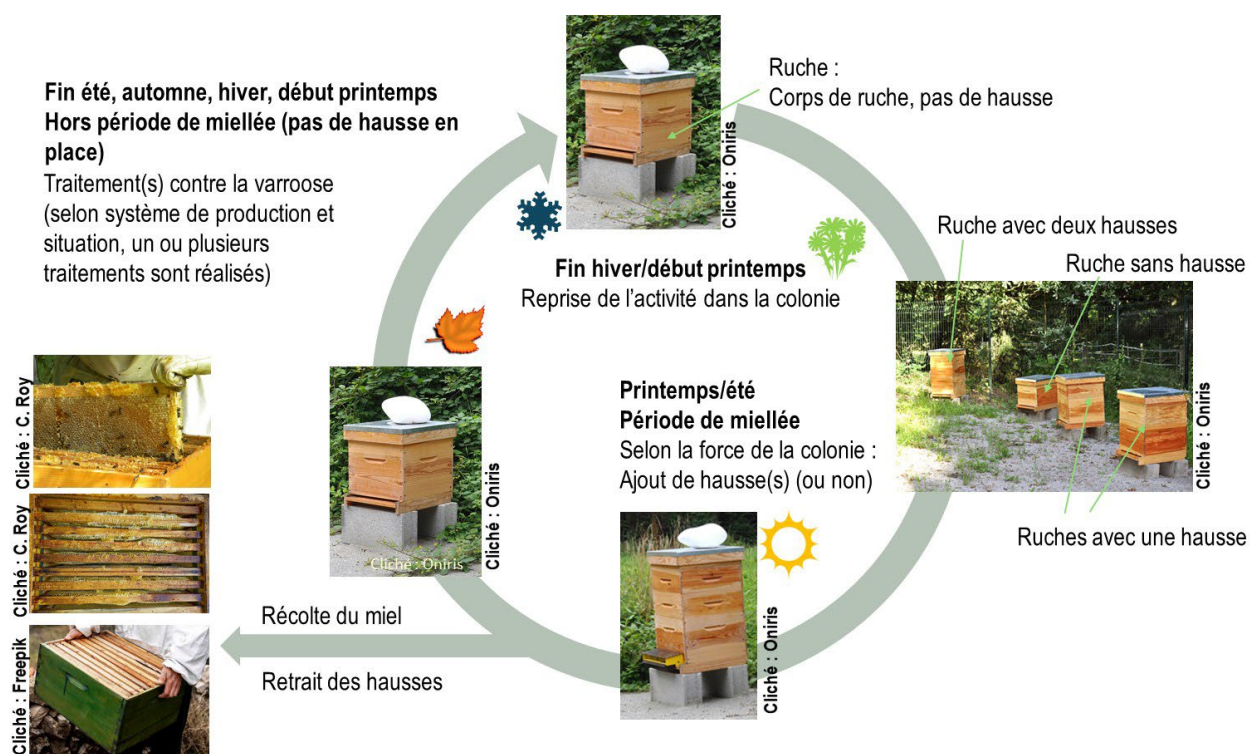


Figure 4 : Évolution de la ruche au cours des saisons avec mise en place et retrait des hausses pour la récolte du miel (Source : GT Cires)

Stéarine : triglycéride estérifié par des acides gras dont des acides stéariques. La tristéarine est un triglycéride estérifié par trois acides stéariques. Selon les publications et les méthodes de laboratoire mises en œuvre, il n'est pas possible de distinguer si la substance prise en compte correspond à la stéarine ou à l'acide stéarique, le rapport mentionnera ainsi indifféremment stéarine/acide stéarique. L'effet toxique de l'un ou de l'autre est similaire selon les publications.

Synergisant : substance qui, lorsqu'elle est ajoutée à une autre substance, augmente son efficacité ou son effet.

Traces-NT : *Trade control and expert system – New Technology* : plateforme de certification de l'UE, utilisée pour les certificats harmonisés, négociés par la CE pour les pays tiers, pour les 27 EM de l'UE.

1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

1.1 Contexte

L'Abeille domestique ou mellifère (*Apis mellifera*) est une espèce animale vivant en colonie. Pour cette espèce, contrairement aux autres espèces animales domestiques, la santé et les maladies s'apprécient essentiellement au niveau de la colonie et non de l'individu. La colonie peut être assimilée à un superorganisme, qui maintient, dans une société complexe, une structure permettant la survie indéfinie du groupe, alors que les individus n'ont qu'une vie éphémère. Une colonie d'abeilles domestiques compte entre 40 000 et 60 000 individus durant la belle saison et chute à 15 000 voire 5 000 en hiver.

Depuis bientôt trois décennies, nous assistons à un déclin d'origine multifactorielle de la santé des abeilles : modification des paysages, usage de produits chimiques (produits phytopharmaceutiques, produits biocides, médicaments), agents infectieux et parasitaires, comme l'acarien *Varroa destructor*, etc. La survie des colonies d'abeilles (*Apis mellifera*) est importante à plusieurs niveaux : économique (filière apicole, pollinisation des espèces cultivées), social (espèce emblématique) et écosystémique (espèce clé de voûte, pollinisation des espèces végétales sauvages).

La cire, matériau de construction produit par les abeilles, est une substance de composition essentiellement lipidique dont les caractéristiques physico-chimiques permettent la fixation et la diffusion d'un grand nombre de résidus de substances chimiques. Dans le cadre d'une conduite classique d'élevage apicole, les cires dites gaufrées servent de fondation pour la fabrication des cadres de corps et de hausses de la ruche (cf. glossaire et Figure 5) par les abeilles. Ces cires gaufrées sont issues du recyclage (par refonte puis façonnage en feuilles de cire) de cires d'opercules. Ce sont les opercules de cire recouvrant les alvéoles de miel qui sont recyclés, la cire des opercules recouvrant le couvain (cire poreuse) ne l'est pas. Le guide de bonnes pratiques apicoles de l'ITSAP¹ recommande un recyclage des cires d'opercules uniquement, mais les apiculteurs réutilisent parfois, non seulement leurs cires de cadres de hausse, mais aussi celles des cadres de corps (ITSAP Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation 2018a). La cire est donc susceptible d'être recyclée et réutilisée pendant plusieurs années, pouvant accumuler des résidus divers. Les produits de la ruche (miel, pain d'abeille, etc.) ainsi que le couvain (operculé ou non), du fait de leur stockage dans les alvéoles, sont en contact direct avec la cire et peuvent être contaminés, ce qui conduit non seulement à la contamination de denrées alimentaires destinées à la consommation humaine mais aussi à l'exposition des abeilles elles-mêmes à des substances néfastes pour leur santé. Ainsi, ces cires contaminées pourraient être un facteur supplémentaire participant au déclin des abeilles mellifères.

Les bonnes pratiques apicoles d'utilisation et de recyclage des cires sont décrites dans le guide de bonnes pratiques apicoles (ITSAP Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation 2018a).

La littérature scientifique européenne et internationale fait état de la contamination et de l'accumulation de résidus de différentes substances chimiques (issues de l'agriculture, de l'apiculture, voire d'autres sources, par exemple : entretien des voiries, usages par les

¹ <https://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/>

particuliers et tout autre contaminant environnemental) dans la cire d'abeilles, le pain d'abeille, le miel, le couvain. Ces études font état de niveaux de contamination de la cire importants et réguliers, notamment des cires commerciales recyclées, par des résidus de substances actives entrant dans la composition de médicaments vétérinaires apicoles (autorisés en France ou dans d'autres pays membres de l'UE), de produits phytopharmaceutiques et de biocides.

Par ailleurs, les besoins français en cire d'abeilles dépassent la capacité de production nationale, d'où le recours à l'importation de cire dont la quantité et la qualité sont aujourd'hui inconnues. La production de cire d'abeilles est directement liée à la production de miel. La France se situe parmi les 20 premiers pays producteurs mondiaux de miel², loin derrière la Chine, premier producteur mondial (FranceAgriMer 2024b)³. Il est supposé que les deux tiers de la cire vendue en France seraient d'origine étrangère, bien qu'il n'existe pas de données officielles. L'importation de la cire rend probable la présence de substances chimiques contaminantes interdites en France. De récents rapports font le constat de l'adultération de la cire et de ses conséquences sur la santé des abeilles et de la colonie (Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire 2018)⁴, (European Food Safety Authority (EFSA) 2020⁵). L'exposition chronique par la cire, du couvain et des abeilles adultes à des substances de contamination et d'adultération, est susceptible d'avoir un impact sur le développement, la santé et la survie des abeilles à leurs différents stades (larves, nymphes et adultes) et par conséquent sur la santé de la colonie. Ces effets pourraient être la conséquence d'effets isolés et spécifiques de ces substances, mais aussi de leurs effets combinés additifs, voire synergiques.

En France, le risque pour la santé des abeilles et de la colonie en lien avec la contamination des cires ou leur adultération peut être exploré sur la base de données d'analyses de contamination et d'adultération des cires françaises métropolitaines. Ces données sont issues des contrôles réalisés par :

- des ciriers français, correspondant à des autocontrôles sur la base du volontariat ;
- la DGAI, sous forme d'enquêtes ciblées menées par la BNEVP (Brigade Nationale d'Enquêtes Vétérinaires et Phytosanitaires). Actuellement, il n'existe pas de dispositif de surveillance dédié à la cire géré par la DGAI, mais les dispositifs de surveillance événementielle OMAA (Observatoire des Mortalités et des Affaiblissements de l'Abeille mellifère) et MMAAA (Mortalités Massives Aiguës d'Abeilles Adultes) peuvent parfois conduire à des analyses de cire.

Le suivi de la qualité des cires fait toutefois l'objet de programmes de surveillance ou de recherche, en lien avec l'état sanitaire des colonies d'abeilles en France (ITSAP - Institut de l'abeille, ADA - Associations pour le Développement de l'Apiculture [régionales]).

1.2 Objet de la saisine

Si la cire en tant qu'additif alimentaire, destinée à l'alimentation humaine, est soumise à une réglementation fixant des seuils pour certaines substances chimiques contenues dans les

² 19 802 tonnes produites en 2021 (France Agrimer, 2023)

³ FranceAgriMer est l'établissement national des produits de l'agriculture et de la mer, c'est un office agricole français ayant pour mission d'appliquer, en France, certaines mesures prévues par la Politique Agricole Commune (PAC), et de réaliser certaines actions nationales en faveur des différentes filières agricoles : https://www.franceagrimer.fr/content/download/70547/document/DP_SIA_2023.pdf

⁴ https://www.favv-afscab.be/comitescientifique/avis/2018/_documents/Avis18-2018_SciCom2016-27_residus_cire_santeabeilles.pdf

⁵ <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/sp.efsa.2020.EN-1859>

produits de la ruche au sens large (règlement (CE) n°396/2005)⁶, il n'existe pas de réglementation spécifique pour la cire en tant qu'intrant de la ruche concernant ces teneurs en résidus. Pour les substances pharmacologiquement actives, provenant de médicaments vétérinaires à destination des abeilles, des limites maximales de résidus (LMR) ne sont établies que pour le miel (règlement (UE) n° 37/2010⁷). Aucune évaluation de résidus n'est requise pour la cire dans le cadre de l'évaluation des médicaments vétérinaires, impliquant que le niveau de contamination des cires après traitement et recyclage d'année en année, ne peut être connu.

Concernant l'adultération des cires en France, l'absence de données officielles n'a pas permis jusqu'alors d'identifier et de caractériser les dangers que représentent les cires adultérées pour la santé de l'abeille et de la colonie.

L'absence de cadre réglementaire relatif aux résidus de substances chimiques dans les cires apicoles conduit l'Agence à se questionner sur le risque spécifique pour les cires d'abeilles recyclées et/ou adultérées (cf. Annexe 1) :

- Quelles sont les données existantes quant aux résidus de contaminants et d'adultérants dans les cires apicoles en France hexagonale ?
- Compte tenu des données de la France hexagonale, quel est le risque lié aux contaminations des cires d'abeilles par les produits phytopharmaceutiques, les biocides et les médicaments vétérinaires pour la santé des abeilles et de la colonie ?
- Compte tenu des données disponibles, quels sont les dangers liés à l'adultération des cires apicoles pour la santé des abeilles et de la colonie (caractérisation des dangers et le cas échéant, risque associé) ?
- Compte tenu des risques évalués et de l'objectif souhaité, quelles sont les recommandations qui permettraient de mieux contrôler la situation en France hexagonale ?

Les DROM (départements et régions d'outre-mer) n'appartiennent pas au périmètre défini pour cette autosaisine. En outre, ces travaux sont circonscrits à la santé des abeilles et de la colonie et n'interviennent pas dans le champ de la santé humaine.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au groupe de travail « Cires d'abeilles », rattaché au comité d'experts spécialisé « Santé et bien-être des animaux (CES SABA) » l'instruction de cette saisine. Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis régulièrement au CES, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES. Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires. L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (mai 2003) ».

⁶ Règlement (CE) 396/2005 : *il y a lieu de veiller à ce que les niveaux de ces résidus ne présentent pas des risques inacceptables pour les êtres humains et, le cas échéant, pour les animaux. Les LMR devraient être fixées au niveau le plus faible raisonnablement atteignable compatible avec les bonnes pratiques agricoles pour chaque pesticide, afin de protéger les groupes vulnérables, tels que les enfants et les fœtus et embryons.* <http://data.europa.eu/eli/reg/2005/396/oj/fra>

⁷ Règlement (UE) n° 37/2010 : [http://data.europa.eu/eli/reg/2010/37\(1\)/oj/fra](http://data.europa.eu/eli/reg/2010/37(1)/oj/fra)

1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

Dans le rapport d'expertise qui suit, les chapitres 2 à 4 sont consacrés à une contextualisation générale, biologique, réglementaire, historique et pratique de la cire.

Les connaissances nécessaires sont ainsi développées avant l'abord des chapitres 5 à 9 dédiés à l'évaluation des risques pour la santé des abeilles et de la colonie en lien avec la cire.

2 La cire d'abeilles

2.1 Production et caractéristiques de la cire

Parmi les nombreux insectes pollinisateurs qui occupent une place fondamentale dans nos écosystèmes naturels ou anthropisés, seules certaines espèces appartenant aux groupes des *Bombini* (bourdons, genre *Bombus*), des *Meliponini* (abeilles sans dard dont les genres *Melipona* et *Trigona*), et des *Apini*, (abeilles mellifères, unique genre, *Apis*) vivent en colonies (eusociétés) et construisent un nid constitué d'une cire produite par la colonie.

2.1.1 Les abeilles⁸ et la colonie

Les abeilles seraient apparues il y a plus de soixante millions d'années concomitamment avec les plantes à fleurs, la domestication d'*Apis mellifera* datant de plus de 10 000 ans. En Europe, seule l'Abeille domestique ou Abeille mellifère, *Apis mellifera* (Abeille *sensu stricto*) vit en colonie pérenne et est élevée (apiculture) pour ses qualités d'amassage de réserves qui permettent à l'être humain (apiculteur) de prélever une partie des récoltes (miel, pollen, etc.). *Apis mellifera*, d'origine afro-européenne et du Moyen-Orient, est, à ce jour, présente sur tous les continents, y compris en Asie du Sud-Est, dans les aires d'origine d'autres espèces (genre *Apis* telles que *A. cerana*, *A. florea* ou *A. dorsata*). L'isolement géographique de l'espèce *A. mellifera* dans certaines régions du monde et le travail de sélection opéré par les apiculteurs depuis des décennies permettent de distinguer de nombreuses sous-espèces ou « races géographiques », chacune ayant des qualités d'élevage, de production et de comportements différentes. Au sens de la réglementation⁹, seules les abeilles du genre *Apis* sont qualifiées de domestiques. Dans la suite du document (sauf mention particulière), seule *Apis mellifera*, sa biologie, son habitat, ses produits, sa cire, etc. seront étudiés.

Le cycle biologique d'*A. mellifera* comporte quatre stades : œuf, larve, nymphe et imago (adulte). C'est un insecte social. La colonie est un superorganisme¹⁰, dont chacun des individus qui le compose est dépendant des autres pour sa propre survie. La division du travail dans la colonie relève du polyéthisme¹¹ lié à l'âge. La colonie regroupe des individus de trois castes différentes : la reine, unique mère de la colonie, les ouvrières (environ 20 000 à 70 000 en fonction de la force de la colonie et de la saison) et les mâles ou faux-bourdons (entre 1 000 et 4 000, uniquement durant la belle saison). Quelques jours après son émergence, la jeune reine est fécondée par environ une dizaine de faux bourdons lors de son vol nuptial, et revient dans sa colonie d'origine, sa spermathèque contenant de cinq à sept millions de spermatozoïdes lui permettant d'assurer sa descendance durant plusieurs années (jusqu'à cinq ans).

La reine pond ses œufs dans des alvéoles de cire disposées en galettes verticales. L'ensemble de ces constructions de cire constitue le nid de la colonie (cf. Figure 5). Les stades immatures (œufs, larves et nymphes) qui se développent dans ces alvéoles constituent le couvain, ouvert

⁸ Le texte de ce paragraphe est majoritairement issu des travaux de l'Anses sur la co-exposition des abeilles aux facteurs de stress : <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2012sa0176Ra.pdf>

⁹ Arrêté du 11 août 2006 fixant la liste des espèces, races ou variétés d'animaux domestiques (<https://www.legifrance.gouv.fr>)

¹⁰ Superorganisme : organisme composé de nombreux individus, organisés en société (colonie), où les individus isolés ne sont pas aptes à vivre par eux-mêmes. Chaque individu est au service de la société, la cohésion entre tous les constituants du groupe social est assurée par un système de communication élaboré, en particulier la communication chimique basée sur des phéromones nombreuses.

¹¹ Polyéthisme : division du travail et spécialisation des individus au sein de la société.

dans un premier temps, puis fermé par un opercule de cire poreux permettant les échanges gazeux (couvain operculé) pour la phase de nymphose avant l'émergence (*i.e.* naissance) des adultes. Les durées d'évolution des stades immatures varient selon les castes : 16 jours pour la reine, 21 jours pour une ouvrière et 24 jours pour un mâle. La dynamique de la colonie est variable en fonction de la période de l'année, du fait des variations saisonnières d'abondance des ressources alimentaires d'origine végétale (nectar ou miellat, pollen, gomme végétale). A l'état naturel, la colonie d'*A. mellifera* se reproduit par division naturelle (essaimage), la reine quittant le nid avec une partie des ouvrières pour s'installer aux alentours, tandis qu'une nouvelle reine est élevée dans la colonie originelle. Les essaims naturels peuvent s'installer dans une cavité naturelle et subsister à l'état sauvage, ou être cueillis par les apiculteurs et être mis en ruche.



La cire est organisée en galettes verticales : cliché A, vue de dessous d'une construction naturelle de colonie sauvage, sert à stocker des réserves de nourriture (nectar, miel, pollen). Les alvéoles servent aussi pour l'élevage du couvain, la reine pondant ses œufs (cliché B, détail d'une ruche d'élevage) dans des zones dédiées (crédit photo : Christophe Roy)

Figure 5 : Organisation des galettes de cires et œufs dans les alvéoles

2.1.2 Composition et propriétés physico-chimiques de la cire d'abeilles

Les abeilles utilisent la cire qu'elles produisent comme matériau de construction pour leurs rayons composés d'alvéoles. Les rayons de construction verticale constituent la structure solide du nid et permettent le maintien de la colonie et des réserves.

C'est entre le 12^e et le 18^e jour après leur émergence que les glandes cirières atteignent leur développement maximal chez les ouvrières. Chez les abeilles plus âgées, l'activité des glandes cirières diminue ; cependant, dans des situations d'urgence, la production de cire peut être réactivée (Bogdanov 2004).

La synthèse de cire s'effectue au niveau des glandes cirières situées sur la face ventrale de l'abdomen des ouvrières. Au nombre de huit, ces glandes sont réparties par paires sur les segments 4, 5, 6 et 7. La cire liquide et transparente est sécrétée par ces glandes et se solidifie immédiatement au contact de l'air pour former de fines écailles de cire blanche, au niveau de plaques cirières, également appelées miroirs à cire (cf. Figure 6).



Figure 6 : Écailles de cires, face ventrale de l'abdomen d'une ouvrière (Source : Musée de l'agriculture et de l'alimentation du Canada¹²)

Chaque écaille pèse environ 1 mg. La couleur de la cire d'abeilles fraîchement produite est blanche ; par la suite elle prend une teinte jaune. Cette couleur jaune provient des substances colorées contenues dans la propolis et les pollens. La cire d'abeilles a une odeur caractéristique, provenant des abeilles, du miel, de la propolis et du pollen (Bogdanov 2004). Les glucides, et en particulier les sucres du miel tels que le fructose, le glucose et le saccharose, sont les principales matières premières qu'utilisent les abeilles pour la production de la cire. Le processus de production de la cire est coûteux en miel consommé (cf. glossaire). Plus la colonie est forte, plus le rapport diminue et plus la production de cire est économique pour la colonie (Hepburn 1986).

La production de cire et la construction des rayons sont saisonnières et dépendantes du développement et des besoins de la colonie (ponte de la reine, augmentation du nombre d'œufs et besoin d'accueil du couvain, nécessité de stockage des réserves), eux-mêmes dépendants des facteurs environnementaux (température extérieure, ressources florales ou miellat, périodes de forte pollinisation, forte miellée) (Bogdanov 2004). Les plus grandes quantités de cire sont donc produites pendant la phase de croissance des colonies d'abeilles mellifères, au cours des mois d'avril à juin dans les climats tempérés de l'hémisphère nord.

La cire d'abeilles est une sécrétion de l'abeille, un produit naturel, constitué majoritairement de lipides, mais de composition en réalité extrêmement complexe et contenant plus de 300 substances différentes. Elle se compose principalement d'esters d'acides gras à longue chaîne et d'esters d'alcools. Outre les esters, la cire d'abeilles contient de petites quantités d'hydrocarbures, d'acides et d'autres substances (cf. Tableau 1). De plus, une cinquantaine de composants aromatiques a été identifiée. Le caractère éminemment complexe de sa composition fine fait de la cire d'abeilles un produit particulièrement délicat à définir de manière précise sur le plan analytique. La cire produite par différentes sous-espèces d'*A. mellifera* est de composition proche, même si certains de ses composants s'y retrouvent dans des proportions différentes (Bogdanov 2004). Les différences de composition s'accroissent entre les trois espèces d'abeilles mellifères : *Apis florea*, *Apis cerana* et *Apis mellifera*.

¹² <https://bees.techno-science.ca/francais/les-abeilles/la-ruche-et-la-colonie/faconnage-cire.php>

Tableau 1 : Composants de la cire d'abeilles *Apis mellifera* (Source : Tulloch 1980)

Composés	Fraction de chaque composé dans la composition totale (en %)	Nombre de composés dont la teneur est supérieure à 1 %	Nombre de composés dont la teneur est inférieure à 1 %
Hydrocarbures	14	10	66
Monoesters	35	10	10
Diesters	14	6	24
Triesters	3	5	20
Hydroxy monoesters	4	6	20
Hydroxy polyesters	8	5	20
Esters d'acide	1	7	20
Polyesters d'acide	2	5	20
Acides libres	12	8	10
Alcools libres	1	5	Non connu
Composés non identifiés	6	7	Non connu
TOTAL	100	74	> 210

Au cours de leur travail de la cire, notamment au moment de la construction, les abeilles y incorporent diverses substances (Perret-Maisonnette 1928), faisant de la cire d'abeilles un matériau hétérogène et évolutif, tant du point de vue de sa composition que de ses propriétés physico-chimiques. Depuis l'écaille formée sur les plaques ventrales des ouvrières cirières, jusqu'après son incorporation dans les rayons, la cire est additionnée de différentes substances qui modifient sensiblement les teneurs de plusieurs de ses constituants. L'incorporation de substances dans la cire peut résulter du transfert involontaire ou de l'incorporation intentionnelle par l'abeille de substances issues de son environnement. Davidson et Hepburn (1986) ont par exemple montré que la proportion de diacylglycérol était divisée par deux entre l'écaille de cire et la cire constituant les rayons. La proportion de monoacylglycérol varie quant à elle en sens inverse. Elle est le double dans la cire constituant les rayons par rapport à une cire fraîchement sécrétée. Ces auteurs attribuent ces changements à l'activité lipolytique d'enzymes rajoutées par les abeilles lorsqu'elles mastiquent la cire (Kurstjens et al. 1985). D'autres différences entre la cire formant les écailles et celle retrouvée dans les rayons ont été mises en évidence par Fröhlich et Riederer (2000). La proportion d'alcane diminue, alors que celles des alcènes, des alcadiènes et des alcanes ramifiés ont tendance à augmenter (cf. Tableau 2).

Tableau 2 : Composition chimique relative des hydrocarbures dans les extraits des cires de rayons d'*A. mellifera carnica* de différents âges (Fröhlich et Riederer 2000)

Classes de substances	Moyennes des quantités relatives de masses (%) +/- 95 % d'intervalle de confiance*			
	Écailles de cire (n = 6)	Cire neuve (n = 6)	Cire d'âge moyen (n = 6)	Cire ancienne (n = 6)
Alcanes	75 +/- 1,2	67 +/- 0,9	60 +/- 0,3	50 +/- 0,6
Alcènes	24 +/- 1,1	31 +/- 0,7	35 +/- 0,2	40 +/- 0,5
Alcadiènes	0,38 +/- 0,071	1,2 +/- 0,03	2,9 +/- 0,05	7,0 +/- 0,09
Alcanes ramifiés	0,05 +/- 0,048	1,0 +/- 0,31	1,8 +/- 0,05	3,3 +/- 0,08

* : Les fractions 1-3 résultent de l'extraction en phase solide des extraits de cire brute et ont été soumises à une chromatographie en phase gazeuse. Les valeurs indiquées se rapportent à la masse totale des fractions 1 à 3 des extraits ; la limite de détection était de 0,01 %.

Hepburn et al. (1991) ont comparé les teneurs en acides gras libres entre la cire des écailles et celle des rayons et ont montré que cette dernière contenait de plus grandes quantités d'acides gras libérés à partir d'esters, en particulier ceux contenant des acides palmitiques (16:0) et lignocériques (24:0). D'après Svečnjak, Chesson, et al. (2019), ces changements confèrent à la cire des rayons une plus forte rigidité.

De plus, des variations quantitatives de certains de ses composants peuvent être observées au fur et à mesure de la réutilisation de la cire par les abeilles ou par les apiculteurs (par une accumulation de cycles de fonte pour son recyclage). Au cours du temps, la cire est susceptible d'accumuler différentes substances chimiques en particulier lipophiles, naturelles (pigments polliniques par exemple) ou anthropiques, mais est aussi susceptible d'être contaminée par des agents microbiens (Bogdanov 2004). L'accumulation de substances lipophiles, favorisée par la composition propre de la cire, explique les contaminations durables et de plus en plus répandues de celle-ci (cf. 5.1.1) (Wallner 1999; Calatayud-Vernich et al. 2019).

Les propriétés physico-chimiques de la cire d'abeilles peuvent être utilisées afin d'en évaluer la qualité, et l'éventuelle adultération. L'adultération de la cire d'abeilles est caractérisée par la présence d'un ou de plusieurs ingrédients n'entrant pas dans la composition originale du produit authentique. A titre d'exemple, les substances suivantes (les plus citées dans la littérature) sont ajoutées en tant qu'adultérants de la cire d'abeilles : paraffine, stéarine/acide stéarique, palmitine, suif, etc. Ces substances étant moins onéreuses que la cire d'abeilles, leur ajout permet d'augmenter artificiellement le volume de cire en cas de pénurie ou pour augmenter les marges bénéficiaires des opérateurs.

La cire d'abeilles est un matériau relativement malléable dont la souplesse augmente avec la température. Sa température de fusion est ainsi l'un des critères permettant de détecter l'éventuel ajout ou mélange avec d'autres cires, notamment minérales. L'examen des caractéristiques sensorielles (par exemple, l'odeur et la couleur) de la cire d'abeilles permet un contrôle de qualité simple et rapide mais peu discriminant. En effet, l'adultération de la cire d'abeilles ne peut être véritablement détectée que par la mise en œuvre cumulative de différentes méthodes analytiques concernant ses propriétés physico-chimiques (cf. 4.2). Les caractéristiques sensorielles et physico-chimiques de la cire d'abeilles sont présentées en Tableau 3.

Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques de la cire selon les textes en vigueur (European Food Safety Authority (EFSA) 2020), plages des paramètres physico-chimiques reportées dans la littérature pour la cire d'abeilles authentique (non adultérée)

Référence dans la littérature	Point de fusion (°C)	Indice d'acidité (mg KOH/g)	Indice de saponification (mg KOH/g)	Indice d'ester (mg KOH/g)	Rapport ester/acide	Indice de peroxyde (mM H ₂ O ₂ /kg)	Indice d'iode (g d'iode pour 100 g de cire)
Bennett (1944)	61-65	16-23	85-101	72-79	3,6-4,3	/	4-12
Tulloch and Hoffman (1972)	63,4-65,1	17,4-21,8	/	70,3-75,4	3,38-4,12	/	/
Tulloch (1973)	/	19,1	/	73,5	3,84	/	/
Serra Bonvehí (1990)	61,9-64,1	17,4-19,8	90,1-90,8	70,3-79,0	3,54-4,34	/	9,6-17,3
Puleo and Rit (1992)	61-65	17-24	87-104	70-80	/	/	7-12
Bernal et al. (2005)	64-66	17,1-21,9	82,8-147,1	62,7-74,8	3,09-7,08	<0,01	/
Serra Bonvehí and Orantes Bernejo (2012)	61,9-64,1	/	90,1-98,3	/	/	/	/
Maia and Nunes (2013)	63-67,3	14,4-23,0	65,5-124,2	/	/	/	/
Svečnjac et al. (2015)	60-65	20,7-30,2	57,5-134,0	31,1-112,2	1,18-5,14	/	/
Svečnjac et al. (2015)	/	/	/	46,4-103,3	2,3-5,3	0-19,9	5,9-14,3

/ : test non réalisé dans la publication, absence de résultat

2.2 Réglementation

Aucun critère de qualité de la cire d'abeilles à usage apicole n'est défini dans la réglementation. Seules les propriétés physico-chimiques de la cire sont décrites par la Pharmacopée Européenne¹³ (cf. Tableau 4) dans le cas de son utilisation comme additif alimentaire. Faute d'autres données ou de critères officiels, ce sont ceux qui sont utilisés en pratique.

En plus de son usage apicole correspondant à un tiers des volumes de cires importés par la France, la cire est aussi utilisée comme additif alimentaire (E901) et peut entrer dans la composition de nombreux produits du quotidien des consommateurs : produits pharmaceutiques, cosmétiques, encaustiques, emballages alimentaires, pâtes à modeler, etc. (cf. Figure 7).

¹³ Ph. Eu. 11.0 2528 Cire D'abeille Blanche (01/2008) et Ph. Eu. 11.0 2529 Cire D'abeille Jaune (01/2008))

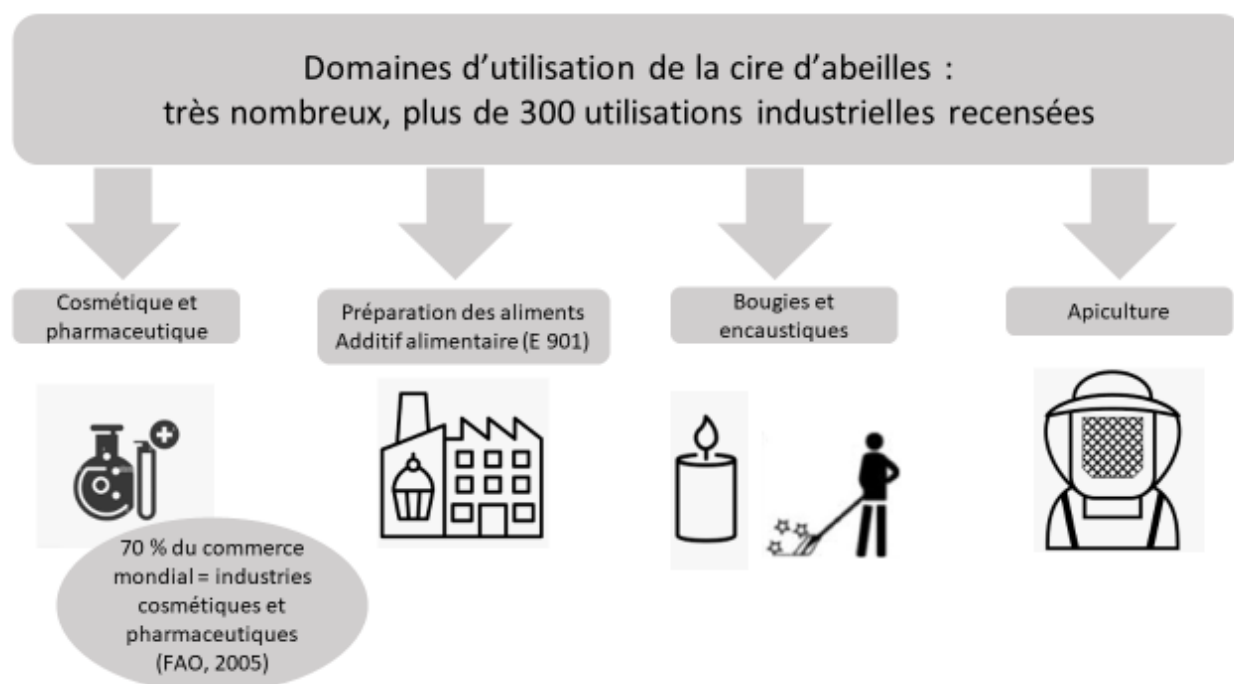


Figure 7 : Domaines d'utilisation de la cire d'abeilles (d'après FAO 2005)

2.2.1 Réglementation européenne

Des règles spécifiques sont prévues par la réglementation européenne selon l'usage pour lequel la cire est destinée (additif alimentaire, usage cosmétique, usage pharmaceutique, etc.) (cf. Figure 7). Par la suite, seules les règles applicables à la cire considérée comme un matériel d'élevage à usage technique apicole seront développées dans le texte (cf. Figure 8).

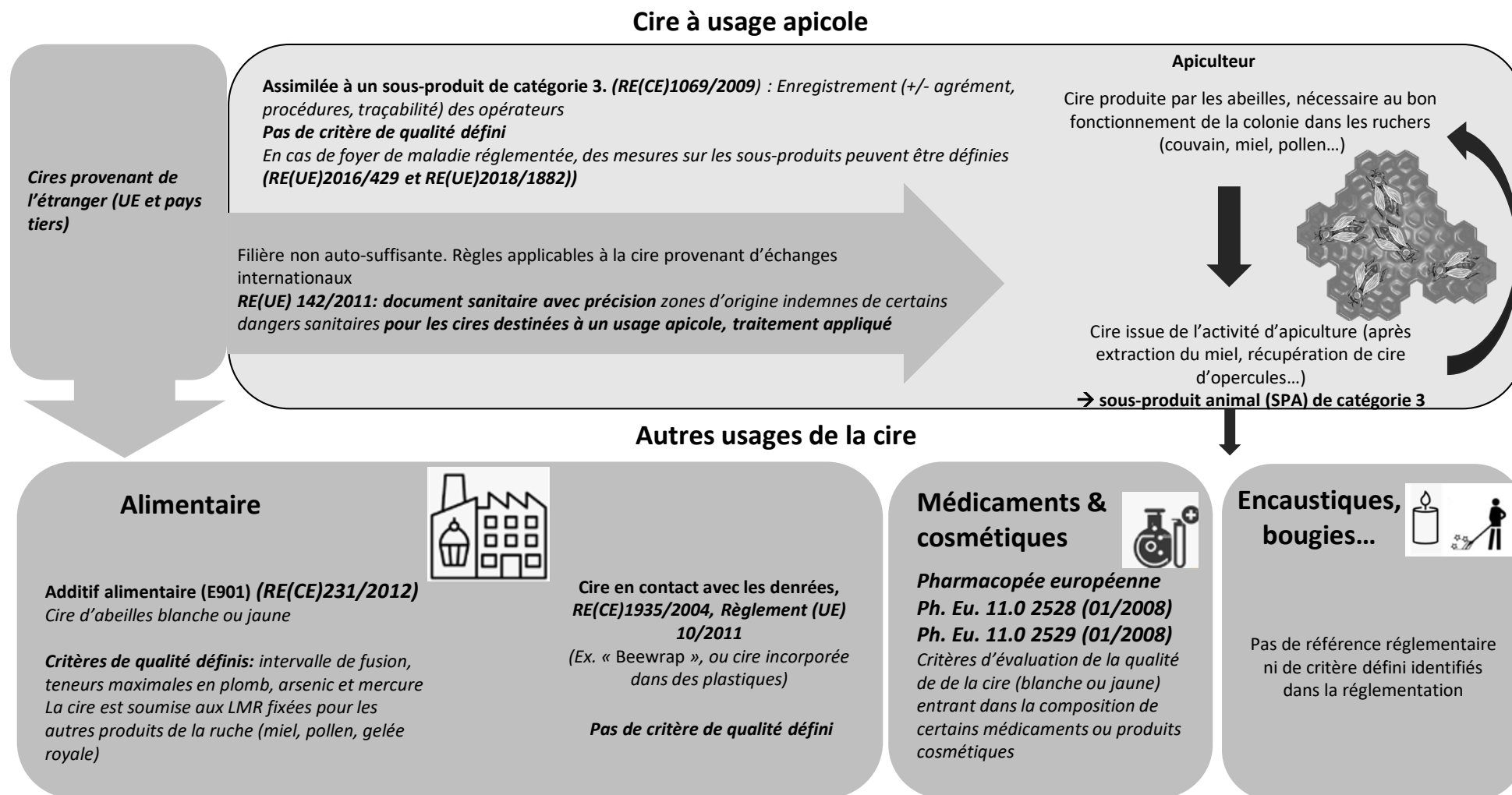


Figure 8 : Législation européenne régissant les différents usages de la cire

2.2.2 Statut et règles applicables à la cire destinée à un usage apicole

Les seuls critères de qualité imposés dans la réglementation européenne concernent la cire utilisée en tant qu'additif alimentaire ou qui entre dans la composition des produits pharmaceutiques (cf. Tableau 4). En dehors de ces usages, la cire est considérée par la réglementation comme un sous-produit d'origine animale (SPA)¹⁴.

Dans la réglementation européenne, le devenir possible des SPA, ainsi que les règles applicables aux opérateurs les produisant ou les manipulant, ont été définis en fonction des risques que ces SPA représentent pour la santé publique et/ou animale, ceci afin de sécuriser la chaîne de production des denrées alimentaires à destination humaine et les aliments pour animaux (règlement (CE) n° 1069/2009)¹⁵.

Trois catégories de SPA ont ainsi été définies dans ce règlement en fonction du niveau de risque. La première catégorie, considérée comme celle présentant le plus de risques (principalement en lien avec les agents des encéphalopathies spongiformes transmissibles), fait l'objet de mesures strictes. Le produit classé dans cette catégorie ne peut en aucun cas entrer dans la chaîne de consommation et est en général destiné à la destruction, avec ou sans valorisation. La deuxième catégorie concerne les SPA présentant un risque sanitaire (hors agents responsables d'encéphalopathies). Enfin, la troisième catégorie constitue celle qui présente le moins de risques pour la santé animale ou la santé publique. La cire, en tant que produit issu de l'activité apicole (dont l'objectif principal est de produire du miel) et non destiné à la consommation humaine en tant que denrée alimentaire, appartient à cette dernière catégorie¹⁵. En France, la cire d'abeilles n'est pas considérée comme un aliment et n'est donc pas soumise aux règles établies dans le règlement (CE) n° 178/2002¹⁶ (audition A. Le Boucher, référente nationale sous-produits animaux). Néanmoins, ce règlement précise « qu'aux fins du présent règlement, il est entendu par « *denrée alimentaire* » (ou « *aliment* »), toute substance ou produit, transformé, partiellement transformé ou non transformé, destiné à être ingéré ou raisonnablement susceptible d'être ingéré par l'être humain. Ce terme recouvre les boissons, les gommes à mâcher et toute substance, y compris l'eau, intégrée intentionnellement dans les denrées alimentaires au cours de leur fabrication, de leur préparation ou de leur traitement ». Ainsi, l'EFSA (European Food Safety Authority (EFSA) 2020), considère que la cire peut être consommée, lorsqu'elle se présente sous forme de rayons de cire, et que la quantité de cire ainsi ingérée peut atteindre jusqu'à quatre grammes par jour. Cette information est reprise dans un article consacré à une évaluation du risque pour le consommateur lié à l'ingestion de produits de la ruche (Wilmart et al. 2016).

Les opérateurs produisant, manipulant ou transportant des SPA, quelle que soit la catégorie à laquelle ils appartiennent, doivent respecter certaines règles et obligations qui dépendent de cette catégorisation. En ce qui concerne les cires d'abeilles, les opérateurs doivent avoir déclaré leur activité en vue de leur enregistrement auprès de l'autorité compétente départementale : directions départementales de l'emploi, du travail, des solidarités et de la protection des populations (DDETSP) (Arrêté du 8 décembre 2011)¹⁷. Ainsi, en France :

¹⁴ Règlement (CE)1069/2009« Sous-produits animaux : 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, le sperme »). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=legisum:sa0025>

¹⁵ Plusieurs types de SPA font partie de la catégorie 3, notamment « les sous-produits animaux issus de la fabrication de produits destinés à la consommation humaine, (y compris les os dégraissés, les cretons et les boues de centrifugeuses ou de séparateurs issues de la transformation du lait) »

¹⁶ Règlement (CE) n° 178/2002 : <http://data.europa.eu/eli/reg/2002/178/oj/fra>

¹⁷ Arrêté du 8 décembre 2011 : <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000025056078>

- les apiculteurs doivent déclarer leurs ruchers par courrier ou téléprocédure (<https://agriculture-portail.6tzen.fr/default/requests/Cerfa13995/>) (audition DGAI) ;
- les autres opérateurs (notamment les ciriers ou d'autres intermédiaires éventuels) doivent déclarer leur activité et fournir des informations relatives aux sites d'activité et aux opérations réalisées sur les cires. Ils doivent par ailleurs être en mesure de fournir les éléments relatifs à la traçabilité des cires qu'ils importent, manipulent, transportent ou commercialisent.

Une demande d'agrément peut aussi être imposée aux opérateurs manipulant des SPA. Cette demande s'accompagne alors de la formalisation de procédures qui seront vérifiées par l'autorité compétente lors d'une 1^{re} visite, ayant pour objectif d'accorder l'agrément à l'opérateur. Cet agrément pourrait, en filière apicole, concerner les ciriers mais sur ce point, l'interprétation de la réglementation européenne ne semble pas faire l'objet d'un consensus entre les États membres. Ainsi, en Belgique, un agrément est exigé pour les ciriers (audition E. Bruneau) tandis qu'en France, l'agrément a pu n'être sollicité que par certaines DDETSPP et donc seulement pour certains ciriers. La DGAI semble avoir récemment établi une harmonisation des règles au niveau national et il n'est plus demandé d'agrément pour les établissements ciriers (audition F. Meziani). Actuellement, les exigences imposées en France aux ciriers sont les suivantes (communications lors des auditions des ciriers et de DGAI) :

- déposer un dossier déclaratif en vue de l'enregistrement par la DDETSPP du département où est situé leur établissement ;
- établir et, en cas de besoin, fournir les éléments relatifs à la traçabilité amont et aval des cires qui transitent par leur établissement.

Le texte réglementaire de référence (règlement (CE) n° 1069/2009) ne prévoit aucun critère permettant de garantir la qualité des cires par rapport aux substances chimiques contaminantes ou aux substances adultérantes qu'elles peuvent contenir.

D'autres textes réglementaires définissent les mesures à appliquer aux SPA lorsque ceux-ci pourraient être à l'origine de la transmission d'agents infectieux à d'autres élevages ou à des êtres humains et certaines dispositions s'appliquent à la filière apicole. Pour limiter le risque de transmission d'agents pathogènes à des abeilles en cas d'échanges de cires entre exploitations, les règles à appliquer sont précisées dans le règlement (UE) n° 142/2011¹⁸ :

- les cires doivent provenir de zones indemnes¹⁹ de certains agents pathogènes : *Paenibacillus larvae*, *Acarapis woodi* (avec dérogations possibles pour ces deux premiers), *Aethina tumida*, *Tropilaelaps* (*Tropilaelaps* spp.) ;
- des traitements sont imposés sur les cires avant leur introduction sur le territoire européen : stérilisation sous pression, procédés de chauffage selon des couples temps/températures à respecter, etc. Bien que les barèmes de traitement thermique pour détruire certains agents pathogènes soient connus (par exemple, chauffage à 80°C pendant 22 minutes pour éliminer 99,9 % des spores de loque européenne

18 Règlement (UE) n° 142/2011 ; <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/142/oj/fra>

19 « Les sous-produits apicoles destinés à être utilisés exclusivement en apiculture : ne peuvent provenir d'une zone faisant l'objet d'une interdiction liée à l'apparition :

a) de la loque américaine (*Paenibacillus larvae*), sauf lorsque l'autorité compétente a jugé le risque négligeable, a délivré une autorisation spécifique limitant l'utilisation de ces produits à l'État membre concerné et a pris toutes les autres mesures nécessaires pour éviter la propagation de cette maladie,
b) de l'acariose [*Acarapis woodi*], sauf lorsque la région de destination a obtenu des garanties complémentaires conformément à l'article 14, paragraphe 2, de la directive 92/65/CEE,
c) du petit coléoptère des ruches (*Aethina tumida*), ou RE(CE)429/2016 et 1882/2018 : en cas de gestion de foyers de maladies réglementées ou d) de l'acarien *Tropilaelaps* (*Tropilaelaps* spp) ; »

(Ministry of Agriculture and Forestry 2004)), certains barèmes donnés dans la littérature sont difficilement applicables à ce jour par les ciriers ou les apiculteurs (par exemple le chauffage à 120°C pendant 24h pour éliminer les spores de loque américaine (Ministry of Agriculture and Forestry 2004)) ;

- les modèles de certificats sanitaires qui doivent accompagner les lots de cire importés de pays tiers sont aussi prévus (cf. Annexe 3 : Modèle de certificat sanitaire pour cire à usage apicole).

Les règlements (UE) n°2016/429²⁰ et (UE) n°2018/1882²¹ (Loi Santé Animale et son règlement d'application), portent sur la prévention et la lutte vis-à-vis des maladies animales transmissibles aux animaux ou aux êtres humains. Dans ces textes, cinq catégories (A à E) de maladies sont définies, selon les risques encourus (santé humaine, animale, répercussions économiques, etc.). Le règlement d'application (UE) n°2018/1882 précise les statuts des différentes maladies et les espèces animales concernées et il y est indiqué que :

- l'infestation par *Varroa* spp. est classée C+D+E, ce qui signifie qu'il s'agit d'une maladie à éradication volontaire, et donc facultative, avec implémentation de mesures de restrictions des mouvements pour limiter la diffusion de l'infestation et mise en place d'un dispositif de surveillance ;
- la loque américaine (*Paenibacillus larvae*), ainsi que les infestations par *Tropilaelaps* spp. et *Aethina tumida*, sont classées D+E, ce qui signifie que des dispositifs de surveillance sont à prévoir et que des mesures de restriction des mouvements, y compris concernant les SPA, peuvent être appliquées afin de limiter la diffusion des dangers sanitaires. Au sujet des opérateurs impliqués dans la production, la transformation ou encore la distribution de produits d'origine animale, le règlement (UE) n°2016/429 (article 166) prévoit que ceux-ci prennent les mesures de prévention appropriées pour éviter la propagation, à partir de ces produits, des maladies appartenant à la catégorie D.

Limites et incertitudes en lien avec la réglementation

En dehors de la précision de l'usage auquel elle est destinée, aucune définition n'existe pour qualifier la cire à usage apicole dans la réglementation. De plus, aucun critère de composition ou de teneur maximale en substances contaminantes ou adultérantes n'a été défini dans ce cadre. Ainsi, il n'est pas possible de recourir à des analyses à des fins de contrôles officiels de conformité. Il n'est donc pas possible, au moment de la rédaction de ce rapport, en Europe, de définir la conformité d'une cire à usage apicole. De plus, sans pouvoir distinguer les usages ultérieurs des cires importées, les contrôles effectués à l'import ne peuvent être spécifiques à leur arrivée sous forme de pains de cire dans les containers (le détail des cires importées par la France est fourni chapitre 3.4).

Par ailleurs, peu d'études portant sur la destruction par traitement thermique des agents infectieux contenus dans la cire ont été réalisées.

Les valeurs retenues par les différents textes réglementaires se basant sur la Pharmacopée Européenne pour les critères physico-chimiques des cires sont plus homogènes (entre elles) et se situent dans des gammes de valeurs plus étroites (resserrées) que les valeurs décrites dans la littérature (cf. Tableau 4 ; Tableau 1). À titre d'exemple, (Svečnjak et al. 2015) indiquent que les cires d'abeilles peuvent présenter des indices d'acidité, de saponification et d'ester qui

²⁰ Règlement (UE) 2016/429 : <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2016/429/oj/fra>

²¹ Règlement (UE) 2018/1882 : http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2018/1882/oj/fra

dépassement les bornes des gammes indiquées dans la réglementation. Les seuils de détection de certaines substances adultérantes sont en général élevés (cf. Tableau 5).

Tableau 4 : Paramètres physico-chimiques de la cire d'abeilles définis par différents textes réglementaires ou normes en Europe et en France (adapté d'après (European Food Safety Authority (EFSA) 2020)

Paramètre	JECFA* (2005)	https://efsa.online.library.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2007.615	Additif alimentaire 2009/10 ; 231/2012 E901 cire d'abeilles blanche et jaune ****	Pharmacopée Européenne Cire blanche	Pharmacopée Européenne Cire jaune
Point (intervalle) de fusion / point de goutte (°C)	62-65	62-65	62-65	61-66	61-66
Densité	-	0,96 environ	0,96 environ	0,96 environ	0,96 environ
Indice d'acidité (mg KOH/g)	17 – 24	17 – 24	17 - 24	17 - 24	17 - 22
Indice de saponification (mg KOH/g)	87 - 104	87 – 104	87-104	87-104	87 - 102
Indice d'ester (mg KOH/g)	Non réalisé	Non réalisé	Non réalisé	70 - 80	70 - 80
Rapport ester/acide	Non défini	Non défini	Non défini	Non défini	Non défini
Indice de peroxyde (mM H ₂ O ₂ /kg)	≤ 5***	≤ 5***	≤ 5***	Non réalisé	Non réalisé
Glycérol et autres polyalcools (%)	≤ 0,5 (glycérol)***	≤ 0,5 (glycérol)***	≤ 0,5*** (glycérol)	≤ 0,5*** (glycérol)	Non réalisé
Cire de Carnauba	Vérifié par un test	Non réalisé	Non réalisé	Non réalisé	Non réalisé
Cérésine, paraffines et autres cires	Vérifié par un test	Absence	Test (décrit)	Test (décrit)	Test (décrit)
Graisses, cire japonaise**, résines, savons	Vérifié par un test	Absence	Test (décrit)	Non réalisé	Non réalisé
Arsenic (mg/kg)	/	≤ 3	≤ 3	Non évoqué	Non évoqué
Plomb (mg/kg)	≤ 2***	≤ 5	≤ 2	Non évoqué	Non évoqué
Mercure (mg/kg)	/	≤ 1	≤ 1	Non évoqué	Non évoqué
Usage cire	Additif alimentaire	E901–Additif alimentaire, contact avec les aliments, composant de gommes à mâcher, stabilisant, épaississant, etc.*	Additif alimentaire	/	/

* : (cf. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Le JECFA est un comité international d'experts scientifiques administré conjointement par l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'OMS qui évalue la sécurité des additifs alimentaires, des contaminants, des substances toxiques d'origine naturelle et des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments).

** Cire japonaise : graisse dérivée des baies de certains sumacs (comme *Toxicodendron vernicifluum*) natif du Japon et de la Chine.

*** formulation : « not more than » pour ces critères, justifiant le signe inférieur ou égal

**** La cire jaune d'abeille est obtenue en fondant les parois des rayons de miel réalisés par l'abeille commune en utilisant de l'eau chaude et en éliminant les matières étrangères. La cire blanche est obtenue en décolorant la cire jaune (source, 2012/231 = règlement (CE) 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).

Tableau 5 : Pourcentages minimaux d'adultération détectés pour différentes substances adultérantes dans la cire d'abeilles par la mesure de paramètres physico-chimiques de référence (Bernal et al. 2005)

Paramètres physico-chimiques	Paraffine (54-74°C)	Acide stéarique	Suif	Cire de Carnauba
Point de fusion	30-50 %	30 %	40 %	5 %
Indice d'acidité	10 %	2 %	10 %	20 %
Indice de saponification	10 %	3 %	15 %	*
Valeur d'ester	5 %	5 %	10 %	*
Rapport ester/acide	10 %	15 %	10%	40 %
Indice d'iode	15 %	15 %	15 %	*

* : Paramètre non pertinent pour la détection de l'adultération de la cire d'abeilles concernée.

2.3 La cire dans la colonie

2.3.1 Cire : production, manipulation, construction par l'abeille

De nombreux animaux construisent un nid, terme qui désigne généralement une structure édifiée pour fournir un abri à la progéniture. Les abeilles sociales (*sensu lato* : bourdons, mélipones, trigones et du genre *Apis*) construisent un nid, dans une anfractuosité, à partir d'une cire produite par la colonie. Les ruches actuelles (   cadres mobiles) peuvent être considérées comme des contenants fabriqués pour se substituer aux cavités naturelles, dans le but de faciliter l'accès à la colonie pour l'apiculteur.

Chez *A. mellifera*, la cire produite par les ouvrières cirières est travaillée collectivement : les ouvrières s'accrochent les unes aux autres, formant ainsi une « chaîne ciri  re » pour élaborer les rayons de cire verticaux adaptés à la forme du contenant, constituant ainsi la structure physique indispensable à l'édification du nid.

La construction des rayons de cire se fait à la verticale depuis le sommet du cadre vers le bas, suivant la force de gravité, en respectant un certain parallélisme entre les supports de cire²².

2.3.2 Fonctions de la cire dans la ruche

2.3.2.1 Fonctions liées à l'architecture de la ruche

La cire occupe une place centrale dans la ruche :

- en constituant le berceau du couvain : les alvéoles sont construites avec une précision étonnante, la taille est optimisée pour recevoir le couvain d'ouvrières (moyenne 5,5 millimètres de diamètre) et le couvain de mâles (6,5 millimètres) (Bogdanov 2004). La reine y pond un œuf au fond de l'alvéole,    même la cire (cf. Figure 5). Après éclosion, la larve sera nue, en contact direct avec la cire jusqu'au tissage du cocon nymphal. Les alvéoles sont fermées à leur sommet par un opercule de cire poreux à la fin du dernier

²² <https://cari.be/L-abeille-mellifere-et-la-protection-du-nid.html> 1/2 28/03/2023 12:03 L'abeille mellifère et la protection du nid - CARI.

stade larvaire (cf. Figure 9). Il s'agit alors de couvain fermé, par opposition aux stades préalables du couvain ouvert. Ainsi, l'ensemble des stades de développement des immatures se réalise dans les alvéoles en cire ;

- en constituant le contenant pour les réserves de la colonie : les abeilles transforment les produits de leur butinage (nectar, miellat, pollen) dans les alvéoles et les stockent en réserves (miel, pain d'abeilles) jusqu'à leur utilisation par la colonie. Les alvéoles contenant le miel sont fermées par une fine couche de cire : l'opercule (cf. Figure 9). Contrairement aux opercules du couvain, les opercules de cire permettant de conserver les réserves de miel dans les alvéoles ne sont pas poreuses, mais hermétiques. Ces réserves de miel sont consommées toute l'année, et constituent une réponse adaptative aux hivers froids et sans fleurs, ni autres ressources végétales des régions tempérées (Seeley et Morse 1976).

La cire des opercules sur le couvain (cire poreuse) ne fait pas l'objet de ces travaux : seule la cire des opercules des réserves de miel contenues dans les hausses sera étudiée par la suite, dans la mesure où ces opercules sont collectés en vue de leur recyclage. Les bonnes pratiques apicoles précisent que le recyclage des cires ne devrait idéalement concerner que les cires d'opercules. Les cires de cadres sont recyclées dans une moindre mesure et en cas de nécessité.

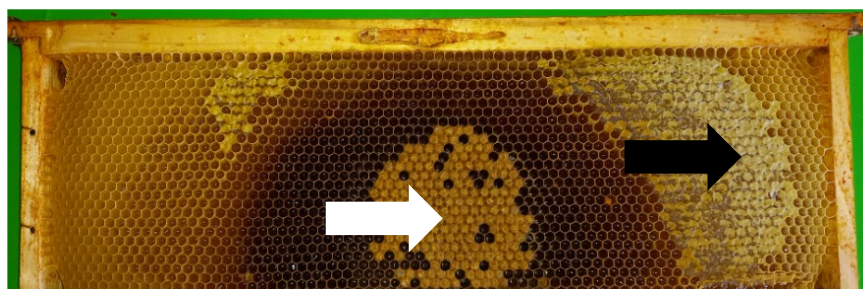


Figure 9 : Exemple d'un cadre contenant du couvain operculé au centre (flèche blanche) et des alvéoles de miel operculés en périphérie (flèche noire). Différence de composition entre les opercules (rôles différents) visible à l'œil nu (crédit photo : Christophe Roy)

2.3.2.2 Fonctions liées à la vie de la colonie

Le nid construit par les abeilles, uniquement constitué de cire, a de nombreux autres avantages :

- c'est un isolant physique, thermique et qui permet d'assurer la ventilation de la ruche : en tant qu'isolant, il assure la protection des abeilles lors de leur phase d'inactivité nocturne. Lors des intempéries ou de l'hivernage, il permet l'inertie thermique et la thermorégulation, qui est essentielle pour le développement du couvain et plus généralement, de toute la colonie. Les abeilles cherchent à maintenir une température stable entre 32 et 36°C pour le bon développement du couvain. Les bâtisseuses laissent un espace entre chaque cadre permettant ainsi la ventilation et une circulation fluide des abeilles lors de leurs déplacements ;
- il assure la biosécurité vis-à-vis des agents pathogènes : la cire protège physiquement la colonie et contribue ainsi au maintien de son immunité (Pie, Rosengaus, et Traniello 2004). Les matériaux de construction constituent en eux-mêmes un élément clé de la protection du nid du point de vue sanitaire. En effet, la cire n'est pas un substrat permettant le développement des agents microbiens et parasites (à l'exception du

maintien des formes sporulées). Les abeilles y incorporent en outre de la propolis qui possède des propriétés anti-infectieuses (Svetikienė et al. 2025) ;

- il prend part à la communication au sein de la colonie : L'adultération de la cire d'abeilles est caractérisée par la présence d'un ou de plusieurs ingrédients, reconnaissance, communication vibratoire. Les rayons permettent aussi la communication à l'intérieur de la colonie, fondamentale au développement de l'essaim, au maintien de son équilibre social et à la quête de ressources dans l'environnement extérieur ;
- il constitue enfin la fondation historique de la colonie et retrace son exposition environnementale passée :
 - lors du stockage des réserves au sein des alvéoles, la cire se retrouve en contact avec du nectar ou du pollen contenant des composés exogènes ou leurs métabolites (produits phytopharmaceutiques, biocides, etc.). En plus de ces composés présents dans l'environnement, des traitements réalisés par les apiculteurs à base d'acaricides, dans le cadre de la lutte contre la varroose, contribuent également à la contamination des cires (cf.4.1). L'accumulation de ces contaminations au cours des années fait de la cire une matrice pouvant même devenir toxique pour la colonie (El Agrebi 2023 ; Tokach, Smart, et Wu-Smart 2023) ;
La cire peut également contenir certains contaminants biologiques qui ont la faculté de persister durablement au sein de cette matrice, comme les spores de l'agent pathogène *Paenibacillus larvae* ;
 - Inversement, la cire joue également le rôle de tampon protecteur des produits apicoles par l'absorption et le stockage des xénobiotiques lipophiles potentiellement dangereux, en limitant possiblement leur libre circulation chez les individus adultes et au sein des principales réserves (pain d'abeilles et miel) (Bommuraj et al. 2019).

Les abeilles sécrètent naturellement de la cire qu'elles utilisent comme matériau de construction pour les rayons de la ruche composés d'alvéoles. Le processus de production de la cire est coûteux en énergie (quantité variable selon les ressources disponibles et la génétique de l'abeille). Cela en fait un produit précieux pour la colonie et pour l'apiculteur producteur. Plus la colonie est forte, plus le rapport du coût en miel pour la production de cire diminue et plus la production de cire est économique pour la colonie. La cire occupe une place centrale dans la vie de la colonie en constituant le berceau du couvain et le contenant pour les réserves de la colonie. Elle est en contact étroit avec les éléments qui assurent la survie de la colonie : œufs, larves, nymphes et nourriture. Elle assure également l'isolation physique et thermique et un rôle de biosécurité vis-à-vis de certains agents pathogènes. Elle est caractéristique de la colonie par son odeur et le fait qu'elle résulte de l'historique de l'exposition de la colonie en accumulant certaines substances chimiques contaminantes au cours des années. Cette accumulation peut lui conférer, finalement, des propriétés toxiques, mais inversement, elle joue aussi le rôle de tampon protecteur des produits apicoles (pollen, pain d'abeilles, etc.) par l'absorption et le stockage des produits chimiques lipophiles potentiellement dangereux.

Des règles spécifiques sont prévues par la réglementation européenne selon l'usage pour lequel la cire d'abeilles est destinée (additif alimentaire, usage cosmétique, usage pharmaceutique, etc.). La cire, considérée comme un matériel d'élevage à usage technique apicole et non celle destinée à la consommation humaine en tant que denrée alimentaire (additif alimentaire E901), est réglementairement assimilée à un sous-produit d'origine

animale de catégorie 3, qui présente, parmi les sous-produits animaux, le moins de risque pour la santé animale et humaine. Aucun critère de qualité de la cire d'abeilles à usage apicole n'est défini dans la réglementation au moment de la rédaction de ce rapport. La cire d'abeilles est caractérisée par ses propriétés physico-chimiques et sa composition fine, notamment en hydrocarbures. Les propriétés physico-chimiques de la cire d'abeilles décrites par la Pharmacopée Européenne, dans le cas de son utilisation comme additif alimentaire sont celles utilisées en pratique pour la cire à usage apicole. La cire d'abeilles est composée essentiellement d'esters d'acides gras à longue chaîne et d'esters d'alcools ainsi que de faibles quantités d'hydrocarbures et diverses autres substances. Le caractère complexe de sa composition en fait un produit particulièrement délicat à définir de manière précise sur le plan analytique. Les propriétés physico-chimiques de la cire d'abeilles ainsi que sa composition en hydrocarbures peuvent être utilisées afin d'en évaluer la qualité, et l'éventuelle adultération. L'adultération de la cire d'abeilles est caractérisée par la présence d'un ou de plusieurs ingrédients n'entrant pas dans la composition originale du produit légitime. L'examen de ses caractéristiques sensorielles (par exemple, l'odeur et la couleur) permet un contrôle de qualité simple et rapide mais peu discriminant. Comme aucun critère de composition ou de teneur maximale en substances contaminantes ou adultérantes n'a été défini par la réglementation, il n'existe pas de définition de conformité d'une cire à usage technique apicole et il n'est pas possible de recourir à des analyses à des fins de contrôles officiels. De plus, sans pouvoir distinguer les usages à venir des cires importées sous forme de pains de cire, les contrôles effectués ne peuvent être spécifiques à leur arrivée. Par ailleurs, peu d'études portant sur la destruction par traitement thermique des agents infectieux contenus dans la cire ont été réalisées. Seule la cire des opercules des réserves de miel contenues dans les cadres de hausses sera étudiée dans ce document.

3 La cire d'abeilles en France

3.1 La cire au sein de la filière apicole française

La filière apicole française se caractérise par une grande diversité d'acteurs ainsi que de produits issus de la ruche (miels de crus (miels monofloraux), miels polyfloraux, gelée royale, pollen, cire, propolis, etc.).

Elle se distingue également par un nombre important d'apiculteurs de loisir et une faible proportion d'apiculteurs professionnels réalisant une part importante de la production annuelle de miel. La production de miel est répartie sur l'ensemble du territoire français.

La création, en octobre 2009, d'un institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation (ITSAP) résultait de la volonté des professionnels de se structurer. Cette volonté a plus récemment abouti à la création d'une organisation interprofessionnelle en janvier 2018 (InterApi, Interprofession des produits de la ruche), reconnue en qualité d'organisation professionnelle par arrêté du 15 avril 2019 (cf. Figure 10) (FranceAgriMer 2024a).

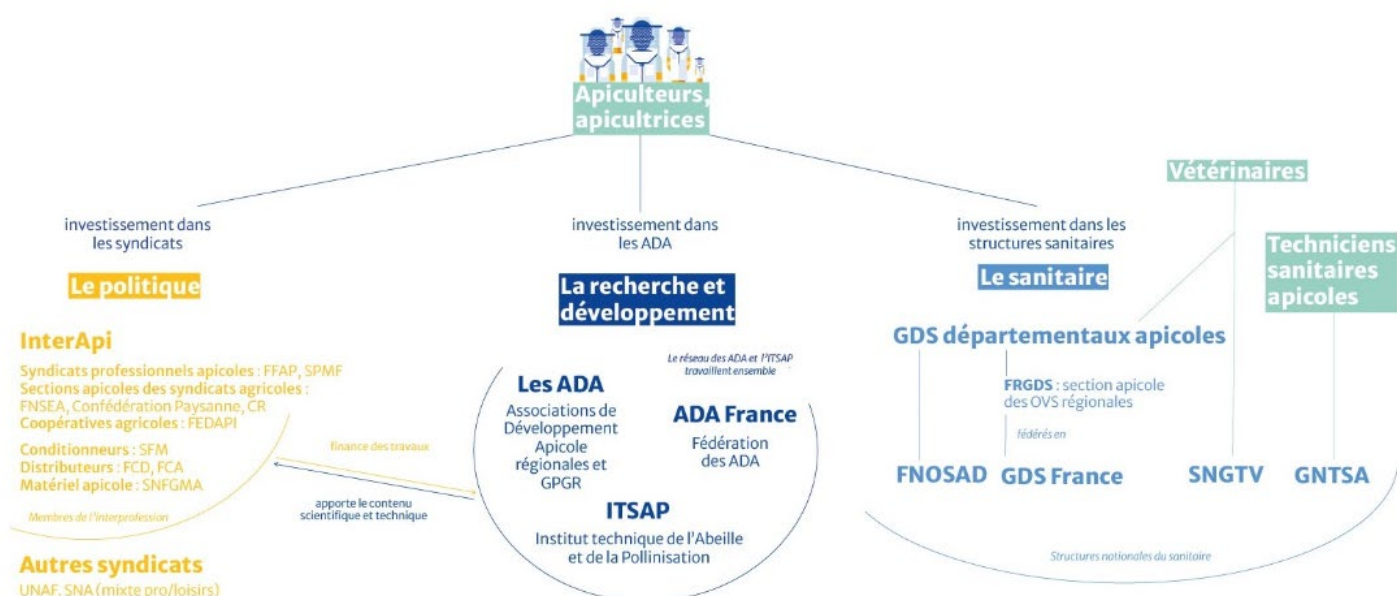


Figure 10 : Acteurs de la filière apicole, (d'après ADA France 2024)

Les acteurs de la filière sont nombreux et peuvent être classés en trois catégories avec des acteurs impliqués (cf. Figure 10) :

- sur les aspects politiques (parmi lesquels des syndicats, coopératives) ;
- dans la recherche et le développement (par exemple l'ITSAP, les ADA...) ;
- et enfin sur les aspects sanitaires (FNOSAD (Fédération Nationale des Organisations Sanitaires Apicoles Départementales), GDS France (Groupement de Défense Sanitaire Apicole), SNGTV (Société nationale de groupements techniques vétérinaires), GNTSA (Groupement national des techniciens sanitaires apicoles)).

3.1.1 Abeilles et apiculteurs

La déclaration des colonies d'abeilles mellifères est obligatoire pour tout apiculteur, mais les chiffres du cheptel apicole français sont dépendants de nombreux facteurs, comme les variations saisonnières susceptibles d'être importantes (mortalités ou au contraire, cueillettes d'essaims et élevage), mais aussi de la mobilisation des apiculteurs à déclarer leurs colonies annuellement (déclaration du nombre de ruches et ruchers). Sans aucun doute et comme déjà suggéré en 2013 par Bendali et al., il existe une sous-déclaration des colonies par les apiculteurs en France.

L'Observatoire de la production de miel et de gelée royale (FranceAgriMer 2024b) recense le nombre d'apiculteurs et le nombre de ruches par exploitant officiellement déclarés en France (hexagonale et DROM) auprès de la DGAI (cf. Tableau 6). Ces données sont issues de la base de télédéclaration des apiculteurs²³.

Tableau 6 : Quelques chiffres d'évolution du nombre d'apiculteurs et de colonies déclarées entre 1994 et 2024 (Source : ADA France)

Évolution du nombre d'apiculteurs et du nombre de ruches entre 1994 et 2024		
Année	Nombre d'apiculteurs	Nombre de ruches
1994	84 215	1 351 991
2004	69 237	1 345 575
2010	41 836	1 074 218
2015	45 487	1 086 998
2016	50 131	1 316 458
2017	53 953	1 344 185
2018	56 773	1 471 361
2019	60 592	1 584 268
2020	62 455	1 584 273
2021	70 147	1 808 088
2022	62 744	1 755 356
2023	63 415	1 792 420
2024	68 571	1 858 646

Les apiculteurs sont généralement classés en trois catégories : les apiculteurs producteurs familiaux (1 à 49 colonies), les apiculteurs pluriactifs (50 à 149 colonies) et les apiculteurs professionnels (plus de 150 colonies). En France, en 2024, la filière apicole comptait 68 571 apiculteurs qui déclaraient 1 858 646 colonies. La répartition des colonies entre les diverses classes d'apiculteurs révèle que la majorité des colonies sont détenues par la catégorie des apiculteurs professionnels, puisque 70,9 % des colonies sont détenues par les 4,5 % d'apiculteurs professionnels (cf. Tableau 7). Les apiculteurs producteurs familiaux et pluriactifs, qui représentent 95,5 % des détenteurs, détiennent quant à eux 29,1 % des colonies (cf. Tableau 7).

Dans la suite de ce rapport, les deux premières catégories d'apiculteurs du Tableau 7 sont regroupées sous la dénomination « apiculteurs de loisir ».

²³ <https://mesdemarches.agriculture.gouv.fr/demarches/particulier/effectuer-une-declaration-55/article/declarer-des-ruches>

Tableau 7 : Nombre d'apiculteurs en France, répartition des ruches et volume de miel produit par type d'apiculteurs ; données 2023 (FranceAgriMer 2023)

Nombre d'apiculteurs en France, répartition des colonies et volume de miel produit par type d'apiculteurs							
		 Apiculteurs (chiffres 2023)		 Ruches* (chiffres 2023)		 Volume de miel produit (chiffres 2023)	
		Nombre	%	Nombre	%	Quantité en tonnes	%
Apiculteurs de loisir	Producteurs familiaux (1 à 49 ruches)	57 753	91,1	507 254	28,3	6 210	20,8
	Pluri-actifs (50 à 149 ruches)	2 660	4,2	220 047	12,3	3 152	10,5
Apiculteurs professionnels	150 à 199 ruches	714	1,1	121 885	6,8	8 586	28,8
	200 à 399 ruches	1 407	2,2	372 823	20,8		
	Plus de 400 ruches	881	1,4	570 411	31,8	11 909	39,9
TOTAL France		63 415	100	1 792 420	100	29 857	100

* : La déclaration des ruches et des ruchers est obligatoire pour les apiculteurs

3.1.2 Production de miel

La production de miel en France hexagonale (cf. Tableau 7) est en baisse depuis les années 1990 (FranceAgriMer 2023). Elle est fluctuante en fonction des années, fortement liée aux conditions météorologiques (gel tardif, sécheresse, étés pluvieux, etc.). Ainsi, en 2023, la production connaît un recul de 4,9 % en comparaison de celle de 2022. Les années 2021 et 2022 ont connu des récoltes de miel importantes en raison de conditions météorologiques globalement favorables.

La production de miel est principalement réalisée par les apiculteurs possédant plus de 50 ruches (79,2 % du tonnage en 2023). De manière plus précise, il peut être observé que la production et, surtout, la productivité se répartit de manière inégale entre les différentes catégories d'apiculteurs (cf. Tableau 7). Par exemple, les rendements moyens observés en 2023 varient de 15,9 kg/ruche/an à 28,7 kg/ruche/an, soit presque du simple au double, selon la catégorie d'apiculteurs. Globalement, les rendements sont nettement plus faibles pour les apiculteurs familiaux détenant moins de 49 colonies, pour qui la rentabilité n'est pas le principal objectif (FranceAgriMer 2024b).

3.1.3 Modification du climat et impact sur l'apiculture

Actuellement, les quatre régions du sud de la France (AuRA, PACA, Occitanie, NAQ)²⁴ concentrent la majorité de l'activité apicole de France hexagonale. Les productions et les rendements étant fortement dépendants des conditions météorologiques, la filière se préoccupe de l'avenir de la production en lien avec les modifications du climat. Dans un avenir proche, il est fort probable que les effets de ces changements augmenteront encore les disparités annuelles et géographiques déjà constatées de production de miel ainsi que de miels de cru en France hexagonale. La production nationale de cire, dont le volume est la conséquence directe des rendements en miel, devrait donc elle aussi devenir fluctuante. L'autonomie de la France en cire d'abeilles pourrait être de plus en plus mise à mal.

3.1.4 Utilisation et recyclage de la cire par les apiculteurs

3.1.4.1 Les ruches à cadres mobiles et la cire gaufrée

À partir des années 1950, la plupart des apiculteurs ont utilisé des ruches à cadres mobiles (passage du fixisme au mobilisme), en proposant aux abeilles des cadres plus ou moins bâtis en cire gaufrée.

Actuellement, la très grande majorité des apiculteurs utilise des ruches à cadres mobiles bâtis. Il en existe plusieurs modèles de dimensions différentes à travers le monde. En Europe occidentale, les formats les plus utilisés sont ceux inventés par Dadant et Langstroth, et la ruche « Dadant 10 cadres » est le format le plus répandu (cf. Figure 11). Elle est constituée d'une partie principale appelée le corps de la ruche, contenant dix cadres sur lesquels sont bâtis des rayons de cire qui abritent le nid avec le couvain (œufs, larves et nymphes), situé en général au centre, ainsi que la reine et les ouvrières. Le corps sert également au stockage des réserves de miel et de pollen de la colonie. Ces cadres de cire, dont la structure est un cadre externe de bois, sont placés parallèlement les uns aux autres et sont composés sur leurs deux faces de cellules hexagonales, les alvéoles.

Le corps de ruche peut être surmonté d'une ou plusieurs hausses ayant pour fonction le stockage du miel destiné à être récolté par l'apiculteur. Celles-ci sont mises en place au début ou au cours du printemps, lorsque les abeilles commencent à produire du miel. Comme le corps, elles reçoivent des cadres de cire (8 à 9 cadres), mais leur hauteur ne représente que la moitié de celle des cadres du corps (cf. Figure 11). Les abeilles déposent le nectar au sein des alvéoles, puis les obturent avec un opercule de cire hermétique lorsque le nectar est suffisamment transformé en miel. Certains apiculteurs placent une grille à reine entre le corps de ruche et la hausse, de manière à éviter que la reine ne monte dans la hausse et n'y ponde. Ainsi, les cadres de hausses sont théoriquement uniquement remplis de miel (cf. Figure 12).

²⁴ AuRA : Auvergne-Rhône-Alpes ; PACA : Provence-Alpes-Côte-d'Azur ; NAQ : Nouvelle Aquitaine ; OCC : Occitanie.

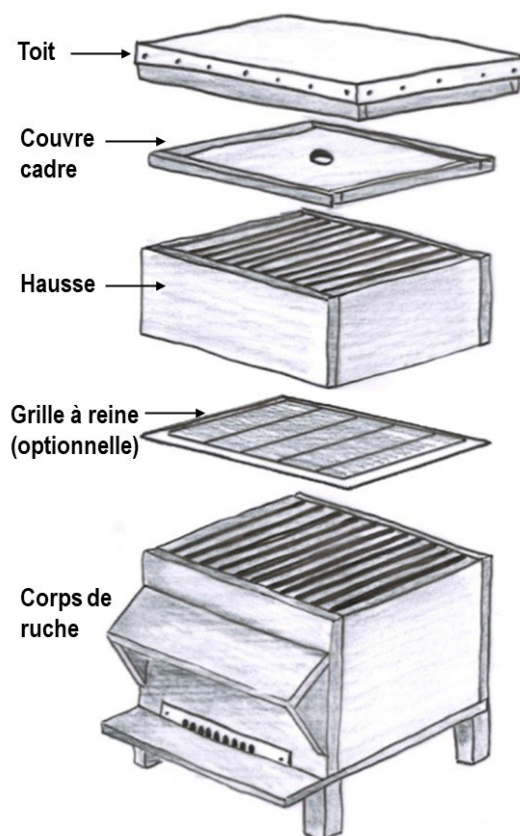


Figure 11 : Constitution d'une ruche Dadant 10 cadres (Source : GT Cires)



Figure 12 : La grille à reine entre le corps de ruche et les hausses, élément fréquemment utilisé, permet d'éviter la ponte de la reine dans les alvéoles des cadres de hausse (crédit photo : Christophe Roy)

3.1.4.2 Types de cires issus de l'activité apicole

L'élevage permet à l'apiculteur de récolter du miel, du pollen, de la gelée royale, de la propolis ; le miel représentant la production la plus importante. L'élevage d'abeilles (reines, essaims...) représente également une production importante. La cire correspond aussi à une production, mais elle n'est pas prise en compte dans les données des productions apicoles. La cire des abeilles est cependant récupérable et recyclable. Elle présente une importante valeur marchande. Au moment de la rédaction de ce rapport, le prix d'un pain de cire d'abeilles destiné à un usage apicole, vendu en vente directe, se situe entre 13 € et 40 € par kilo. Ce prix est bien supérieur à ce qu'il était il y a 10 à 20 ans. En passant par un intermédiaire qui vend de la cire étrangère, son prix peut être bien moindre (très variable selon la qualité de la cire).

Dans une ruche, différents types de cire sont distingués en fonction de la place qu'elle occupe et de sa fonction dans la ruche :

- la **cire de cadres** qui constitue les rayons des cadres de bois. La cire de cadres du corps ayant contenu du couvain est différente de la cire de cadres des hausses n'ayant contenu que du miel ;
- la **cire d'opercules** des alvéoles contenant le miel dans les cadres de hausse²⁵.

3.1.4.3 Bonnes pratiques apicoles de renouvellement des cadres de la ruche

En vieillissant, la cire des cadres de corps accumule de la propolis et des déchets, tels que les restes de cocons et les excréments des larves, et prend une coloration brune de plus en plus prononcée. Elle peut également accumuler des agents biologiques et chimiques.

D'une saison à l'autre, en accumulant les déchets, les alvéoles deviennent de plus en plus petites et les rayons de plus en plus épais. Une étude a montré que la taille des abeilles varie en fonction de la taille des alvéoles dans lesquelles elles sont élevées (Bogdanov 2004). Enfin les anciennes réserves de nourriture contenues dans les cadres de cire non recyclée cristallisent et peuvent rendre l'hivernage plus difficile pour la colonie (Bogdanov 2004). Pour toutes ces raisons il est donc conseillé de renouveler les cadres avec de la nouvelle cire. La fréquence de renouvellement des cadres du corps de ruche est très variable, les pratiques des apiculteurs étant plurielles. Dans le guide de bonnes pratiques apicoles de l'ITSAP²⁶, il est conseillé de renouveler de 25 à 30 % des cadres de corps par ruche et par an, soit deux à trois cadres dans un corps de ruche « Dadant 10 cadres », en effectuant une rotation dans le corps de ruche (Bogdanov 2004 ; ITSAP Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation 2018). Il est en outre précisé par les bonnes pratiques apicoles, que les cires d'opercules doivent être fondues séparément des cires de cadres et que, pour éviter toute contamination des cires d'opercules, les apiculteurs doivent débiter la fonte par les cires d'opercules puis effectuer celle des cires de cadres. Les pains de cire issus de la récupération de ces cires sont identifiés par l'apiculteur en fonction de leur nature (opercules, corps, hausse, ou mélange de cires) pour ne pas les mélanger par la suite.

La plupart des apiculteurs professionnels respecte ces conseils, d'autant plus facilement lorsqu'ils réutilisent leurs vieux cadres de corps pour la réalisation d'essaims artificiels. Pour les autres catégories d'apiculteurs, le renouvellement n'est pas toujours si régulier et systématique, et il n'est pas rare d'observer des colonies maintenues sur des cadres très

²⁵ Les alvéoles contenant le couvain sont également refermées par un opercule, ces alvéoles sont rarement recyclées et ne devraient pas l'être compte tenu du risque sanitaire.

²⁶ https://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/wp-content/uploads/2018/09/Pages-de-ITSAP-GBPA-MAJ_2018-Fiche_R3-Web.pdf

anciens qu'il est alors difficile de visiter (cadres jamais déplacés et plus ou moins bloqués par les constructions de cire hors des cadres et par la propolis). Ce type de pratiques peut être lié à un manque de connaissances ou de formation, par exemple, mais également en raison du prix élevé de la cire (communication personnelle C. Roy, Y. Le Conte, L. Grisot).

Le renouvellement devrait être effectué au cas par cas, notamment pour des raisons de qualité du miel et de vieillissement de la cire.

Dans le cas de l'usage de grilles à reine (cf. Figure 12), le renouvellement des cadres de hausses n'est pas systématique. Cependant, il est important, notamment pour des raisons de qualité du miel (odeur, débris, transfert de substances) de les changer régulièrement (ITSAP Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation 2018b). Par ailleurs, même si ces cadres sont *a priori* moins exposés aux contaminations, les cires les composant peuvent néanmoins accumuler des substances chimiques.

L'élevage des abeilles permet à l'apiculteur de récolter du miel, du pollen, de la gelée royale et de la propolis ; le miel représentant la production la plus importante. La cire correspond aussi à une production, mais elle n'est pas prise en compte dans les données des productions apicoles. Récupérable et recyclable, elle présente pourtant une importante valeur marchande. Les apiculteurs sont généralement classés en trois catégories : familiaux (1 à 49 colonies), pluriactifs (50 à 149 colonies) et professionnels (plus de 150 colonies), familiaux et pluriactifs sont regroupés dans ce rapport sous le terme d'apiculteurs de loisir. En France, en 2024, 68 571 apiculteurs déclaraient 1 858 646 colonies, avec une répartition déséquilibrée des colonies selon les profils d'apiculteurs. Ainsi, 4,5 % d'apiculteurs professionnels détiennent 70,9 % des colonies, quand 29,1 % appartiennent à 95,5 % des détenteurs de loisir. La production de miel, principalement réalisée par les apiculteurs professionnels, est en baisse depuis les années 1990. Les modèles de ruches utilisées sont en général, de type Dadant 10 cadres, constituées d'une partie principale : le corps de la ruche, contenant dix cadres abritant le couvain (œufs, larves et nymphes), situé en général au centre, la reine et les ouvrières, ainsi que les réserves alimentaires de la colonie. Le corps de ruche peut être surmonté d'une ou plusieurs hausses ayant pour fonction le stockage du miel destiné à être récolté par l'apiculteur. L'usage d'une grille à reine, placée entre le corps de ruche et les hausses, évite la ponte de la reine dans les hausses. Ainsi, les cadres de hausses sont uniquement remplis de miel. Les deux compartiments (corps et hausse) sont donc individualisés et la cire de cadres du corps est différenciée de la cire de cadres des hausses. La cire d'opercules des alvéoles contenant le miel dans les cadres de hausse peut être récupérée et destinée au recyclage, contrairement à la cire poreuse des opercules qui recouvrent les alvéoles de couvain. Le guide de bonnes pratiques apicoles de l'ITSAP conseille de renouveler annuellement deux à trois cadres dans un corps de ruche Dadant 10 cadres, en effectuant une rotation dans le corps de ruche. Dans le cas de l'usage de grilles à reine, le renouvellement des cadres de hausses n'est pas systématique. Cependant, pour des raisons de qualité du miel : odeur, débris, transfert de substances, accumulation de substances chimiques, il est conseillé de les remplacer régulièrement. Le guide précise en outre que les cires d'opercules des cadres de hausses doivent être fondues séparément des cires de cadres et que pour éviter toute contamination des cires d'opercules, les apiculteurs doivent débiter la fonte par ces cires puis effectuer celle des autres cires. Les pains de cire issus de la récupération de ces cires seront identifiés par l'apiculteur en fonction de leur nature (opercules, corps, hausse, ou mélange de cires).

3.2 Circuits des cires

Plusieurs étapes permettent de transformer les cires récupérées afin de les recycler (cf. Figure 13) : elles peuvent toutes être réalisées par l'apiculteur. Cependant, dans la majorité des cas, les dernières étapes sont confiées à des ciriers.

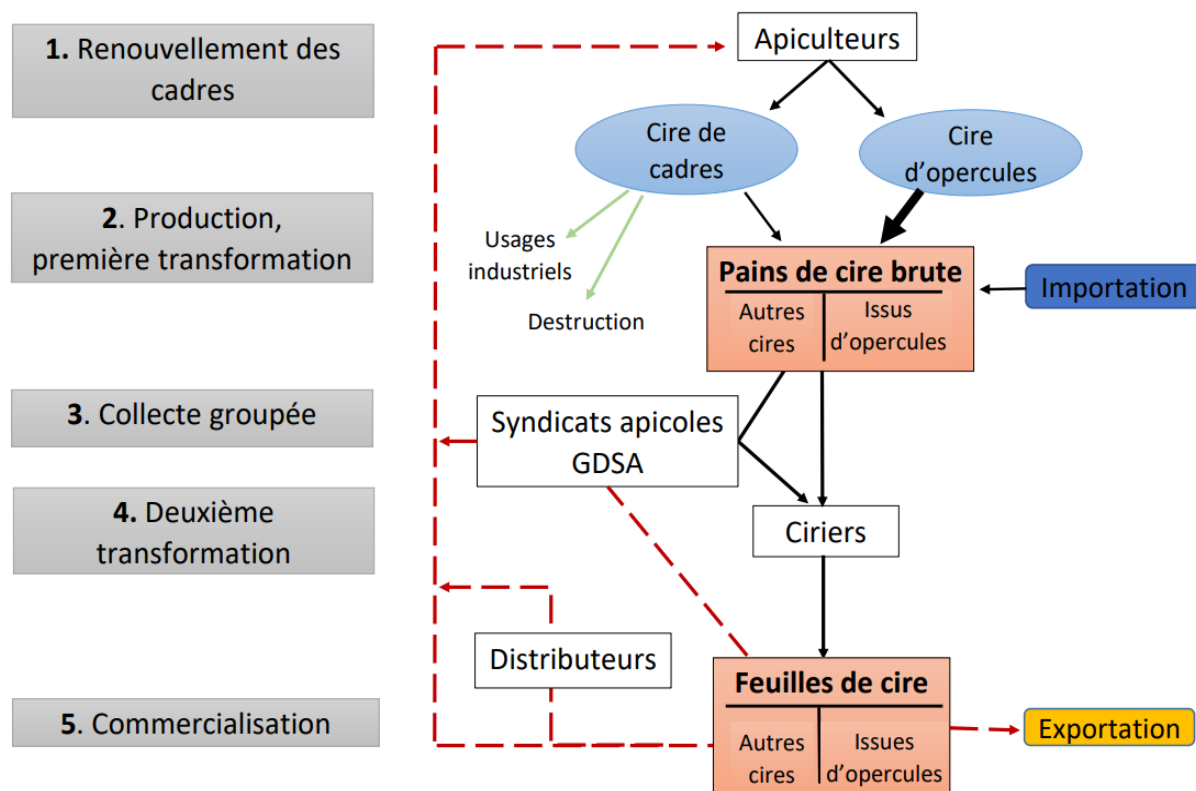


Figure 13 : Circuits des cires et différents intervenants (Vidau et al. 2023)

3.2.1 Le recyclage de la cire par l'apiculteur

3.2.1.1 Récupération de la cire par l'apiculteur

Dans les ruches à cadres mobiles, les apiculteurs introduisent des cadres cirés à disposition des abeilles afin d'accélérer le développement de la colonie. Certains apiculteurs font le choix de laisser les abeilles construire elles-mêmes l'entièreté du cadre, notamment pour certains formats de ruche, comme la ruche Warré par exemple, ou dans le cas des cadres « à jambages » pour d'autres types de ruches, le tout étant appelé « bâtisses libres ». En effet, la production de cire et la construction des rayons sont des activités consommatrices de temps et d'énergie pour la colonie mais permettant l'obtention d'une cire naturelle qui permet de ne pas acheter de cire provenant de l'extérieur (cf. 2.1.2).

L'apiculteur récupère la cire des opercules de hausses lors de la récolte de miel, mais il peut également être amené à récupérer la cire de cadre de hausse ou de corps, lorsque la structure de cire est détériorée ou vétuste (cire de cadre de hausse) ou lorsque la cire s'effondre au moment de la centrifugation.

3.2.1.2 Tri de la cire pour un usage apicole ou non apicole

- Les cires du corps de ruche ont, pour la plupart, contenu du couvain et des réserves (pollen, pain d'abeilles, miel de réserve) durant quelques années consécutives. Elles sont souvent de couleur brun foncé à noir, contiennent beaucoup d'impuretés²⁷ et ont été exposées à des traitements apicoles acaricides durant plusieurs saisons de production (plus de deux à trois saisons) (cf. Figure 14). Selon les bonnes pratiques apicoles, elles devraient normalement être fondues, décantées et stockées en pains de cire pour être ensuite réservées à un usage non apicole. Certaines de ces cires pourraient même totalement détruites sans être réutilisées (ITSAP Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation 2018a).



Figure 14 : Exemple d'un cadre de corps de la ruche ayant contenu du couvain et des réserves (pollens, pain d'abeilles, miel de réserve) et dont la cire est usagée (crédit photo : Christophe Roy)

- Les cires de hausse(s), n'ayant pas contenu de couvain, sont de couleur jaune clair à brun clair, semblent propres et ont servi durant de nombreuses années, souvent même jusqu'à l'effondrement du bâti lors de l'extraction du miel. Si les règles d'utilisation des médicaments vétérinaires apicoles ont été respectées, ces cires n'étaient *a priori* pas en place lors de la mise en œuvre des traitements acaricides. Dans le cadre de bonnes pratiques apicoles, elles devraient aussi être fondues, décantées et stockées en pains de cire pour un usage non apicole (cf. Figure 15).
- Les cires d'opercules sont le plus souvent des cires de l'année qui n'ont, *a priori*, pas été en lien direct avec les traitements acaricides. Seuls les opercules des cadres de hausses ayant contenu du miel, devraient être, selon les BPA, recyclés pour une réutilisation en apiculture (cf. Figure 16 « désoperculation »).

²⁷ Lorsqu'elles ont été léchées par les abeilles

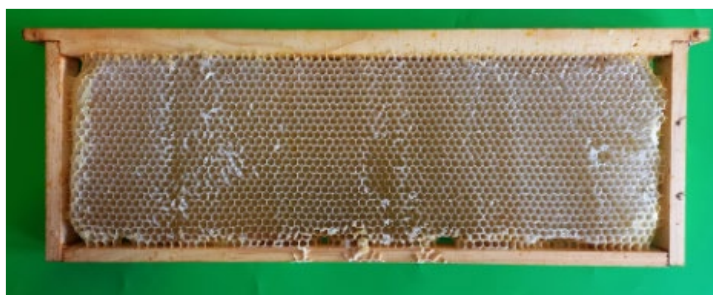


Figure 15 : Exemple d'un cadre de corps de hausse après extraction du miel (crédit photo : Christophe Roy)

3.2.1.3 Première transformation de la cire : constitution des pains de cire par l'apiculteur

La première étape du recyclage permettant d'obtenir des pains de cire est réalisée par l'apiculteur. Les opercules de cire qui ferment les alvéoles contenant le miel doivent être retirés ou détruits pour en permettre l'extraction. La destruction, qui repose sur des méthodes telles que le griffage ou le pressage des brèches ne permet pas de récupérer cette cire d'opercules. La plupart des apiculteurs utilisent plutôt des couteaux à désoperculer (cf. Figure 16) ou, pour les apiculteurs professionnels, des machines automatisées qui désoperculent. La cire obtenue est appelée cire d'opercules. Elle correspond donc à de la cire étirée et produite par la colonie pour fermer les alvéoles qui contiennent le miel de l'année. Lors de la désoperculation, sont récupérés les opercules de cire mais également une faible quantité de cire d'alvéoles (partie supérieure) et de miel. Ce dernier pourra être récupéré par décantation ou centrifugation.

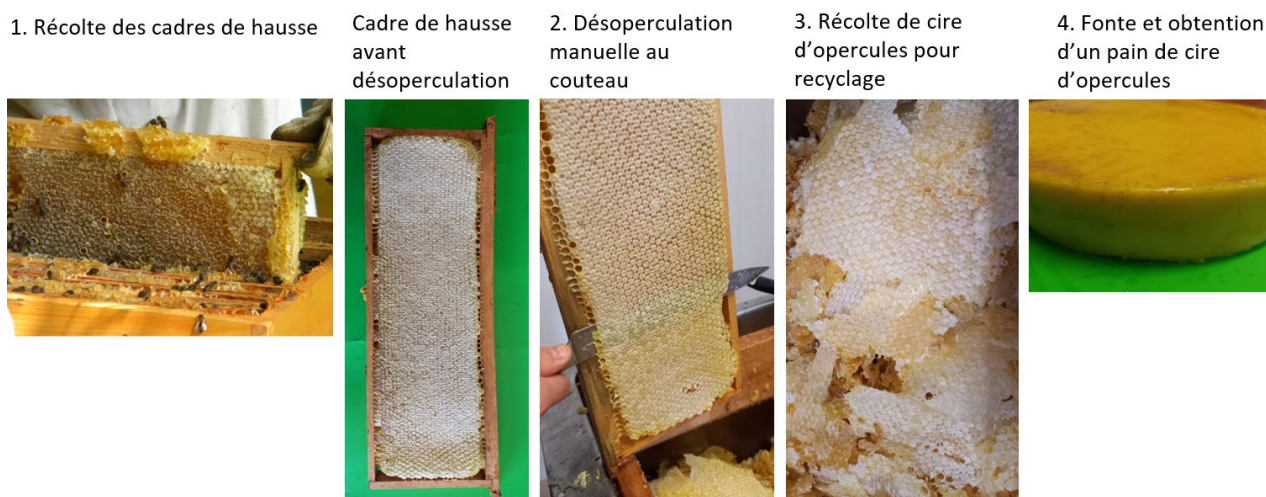


Figure 16 : Obtention de pains de cire d'opercules (crédit photos : Christophe Roy)

Les bâtis de cire des vieux cadres doivent être séparés de leur cadre (découpage du pourtour, séparation des gros déchets) et fondus en fondoir à cire (chaudière à vapeur), en immersion dans l'eau chaude ou en cérificateur (l'usage d'un cérificateur permet la séparation bois/cire et la fonte simultanée) (cf. Annexe2). Quelle que soit la méthode, la fonte permet le retrait des impuretés et la constitution des pains de cire (cf. Figure 17).

Le rendement à l'extraction est différent selon la cire utilisée. La cire d'opercules présente un rendement élevé. Pour une cire de cadres de corps, il est faible car elle contient beaucoup d'impuretés. Selon les auteurs, le rendement d'une cire de cadres varie entre 10 et 50 % (Bogdanov 2004 ; Bruneau 2002). Le rendement dépend de la fonction et de la durée d'utilisation des cadres de cire au sein de la ruche, ainsi que de la méthode d'extraction utilisée (Bogdanov 2004).



Figure 17 : Pains de cire d'opercules de couleur jaune clair à brun clair (au-dessus) et pain de cire de corps, de couleur noirâtre (en-dessous) (crédit photo : Christophe Roy)

Rappel : l'autosaisine de l'Anses a pour seul objet la cire à usage apicole : les autres destinations et usages de la cire d'abeilles ne sont donc pas traités (voir chapitre 1.2).

3.2.1.4 Destination des pains de cires

Les pains de cire ainsi constitués peuvent être destinés à deux voies principales d'utilisation :

- une réutilisation pour un usage apicole consistant à transformer les pains de cire d'opercules en feuilles de cires gaufrées ;
- une vente pour un usage non apicole (cosmétiques, fabrication de bougies, etc.).

L'apiculteur, seul à connaître l'origine de la cire qui lui a permis de constituer son ou ses pains de cires, a la responsabilité de distinguer les trois sources possibles : cire de corps, cire de hausse ou cire d'opercules, afin qu'il soit possible de ne réaffecter que la cire dite d'opercules à un usage apicole.

Les pains de cire issus d'opercules destinés à un usage apicole sont susceptibles d'être transformés selon trois possibilités :

- l'apiculteur peut les transformer lui-même en feuilles de cire : il s'agit d'un gaufrage manuel ;
- il peut confier ses pains de cire d'opercules à un professionnel, le cirier, qui se chargera de la gaufrer à sa place (gaufrage d'un lot personnalisé, cf. glossaire) ;
- il peut choisir de mettre ses pains de cire en commun avec ceux d'autres apiculteurs par l'intermédiaire d'un groupement ou une association, qui pourra décider d'un gaufrage personnalisé de ce lot commun par un cirier ou d'un simple échange de ces pains de cire contre des feuilles de cires gaufrées par un cirier (gaufrage à façon, cf. glossaire).

La deuxième transformation de la cire consiste en la transformation des pains de cire en feuilles de cire gaufrée, elle est généralement réalisée par un cirier professionnel (cf. ci-après 3.2.2 et 3.2.3). La feuille de cire gaufrée présente, sur chacune de ses deux faces, des empreintes d'alvéoles préformées. Ces feuilles de cire, fixées sur un cadre aux contours de bois, servent de guide permettant une construction ordonnée et parallèle des rayons. Enfin, pour ce qui est des cadres de hausses, les cires bâties à partir de feuilles de cire gaufrée ont également pour avantage de présenter une meilleure résistance lors de l'extraction du miel que les constructions entièrement naturelles. Une feuille de cire pèse environ 100 g et mesure environ 1 mm d'épaisseur (format pour ruches Dadant).

Dans le cas où l'apiculteur réalise lui-même le gaufrage, il utilise alors un gaufrier manuel. Les pains de cire sont fondus, puis la cire est versée sur le gaufrier qui va l'aplatir et lui donner l'empreinte des alvéoles grâce à une feuille de silicone. La plaque de cire gaufrée obtenue est ensuite découpée aux dimensions souhaitées. Lorsque le gaufrage est effectué manuellement par l'apiculteur, les feuilles sont généralement plus lourdes, de l'ordre de 110 g car le pressage de la cire est moins important que chez un cirier (communication personnelle C. Roy).

Lorsque le gaufrage de la cire est réalisé par un cirier, la fréquence de recyclage des cires d'une exploitation apicole dépend directement des quantités de cire récoltées par l'apiculteur puisqu'un minimum de 30 à 50 kg de cire sont généralement nécessaires pour réaliser la refonte et le gaufrage par un professionnel :

- les apiculteurs professionnels font généralement réaliser le gaufrage de leur propre cire par un cirier professionnel (gaufrage d'un lot personnalisé). Ils collectent en effet une quantité suffisante de cire pour pouvoir avoir recours à cette pratique. Ils fonctionnent alors en circuit fermé, apportent leur propre cire et en récupèrent les gaufres ;
- les autres catégories d'apiculteurs déposent leurs pains de cire directement chez le cirier ou par l'intermédiaire d'un groupement ou d'un collectif (Groupement de Défense Sanitaire Apicole, syndicat apicole ou association d'apiculteurs) qui rassemble les lots d'origine différente, de façon à obtenir une quantité suffisante, et les achemine chez le cirier. Ils peuvent alors :
 - récupérer les feuilles de cires gaufrées issues du gaufrage de la collecte de pains de cire déposée chez le cirier (gaufrage personnalisé de ce mélange collecté) ;
 - récupérer des feuilles de cire gaufrée commercialisées par le cirier pour une quantité égale à la quantité de cire déposée²⁸ (gaufrage à façon).

L'apiculteur peut également se fournir en feuilles de cire gaufrée en les achetant directement auprès de différents distributeurs qui sont présentés dans le chapitre 3.3 suivant, sans apport initial de cire.

3.2.2 Le recyclage de la cire par le cirier professionnel

Le cirier peut faire commerce de la cire et vendre des feuilles de cires gaufrées :

- issues de pains de cire confiés par des apiculteurs, éventuellement organisés en groupements ;

²⁸ En réalité, il ne s'agit pas exactement de la même quantité : il existe des pertes de rendement, ainsi que le coût du gaufrage pris en compte dans la marchandise rendue par le cirier. En conséquence, le collectif récupère en général un peu moins que la quantité de cire qu'il a déposée initialement.

- issues de pains de cires achetés, en provenance d'Europe par échanges intracommunautaires ;
- issues de pains de cires achetés, en provenance de pays tiers, par importation.

Il peut également proposer des feuilles de cires gaufrées en échange de pains de cire qui lui sont déposés par un apiculteur, un groupement ou un syndicat. Les provenances de ces gaufres sont les mêmes que celles des gaufres vendues et détaillées ci-avant.

Les pains de cire apportés par les apiculteurs au cirier sont triés en fonction de l'aspect visuel (couleur) et de l'origine (opercules, cire de cadres, production biologique²⁹) (cf. Figure 18). Les ciriers regroupent des pains afin de constituer un lot à transformer. Les lots des apiculteurs professionnels sont enregistrés, pesés et stockés en attente de fonte/recyclage, une traçabilité est ainsi assurée. L'ensemble du lot sera fondu. Ces apiculteurs professionnels fonctionnent avec leur propre cire qu'ils recyclent, en autorenouvellement. La plupart des apiculteurs des autres catégories ne produisent pas suffisamment de cire pour fonctionner en autorenouvellement et achètent leurs feuilles de cire gaufrées auprès d'un distributeur pour renouveler leurs cadres.



Figure 18 : Pain de cire destiné à être recyclé en cire gaufrée, la traçabilité est assurée par le numéro d'enregistrement sanitaire et le numéro de lot (crédit photo : Christophe Roy)

Dans le cas où les apiculteurs déposent leurs propres pains de cire ou dans celui où les groupements déposent les pains de leurs adhérents, les ciriers constituent des lots de multiples petits pains d'exploitations apicoles différentes, mais si possible de qualité similaire

²⁹ La réglementation en apiculture biologique du règlement (UE) n°2018/848 (http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2018/248/oj/fra) précise les éléments suivants sur la cire :

« La cire d'abeilles rentre dans le champ d'application de la réglementation AB et devient donc un produit « certifiable en AB ».

Au cours de la période de conversion, la cire est remplacée par de la cire provenant de l'apiculture biologique.

La cire d'abeilles non biologique peut toutefois être utilisée :

- i) lorsqu'il n'est pas possible de trouver sur le marché de la cire d'abeilles issue de l'apiculture biologique ;
- ii) lorsqu'il a été établi qu'elle n'est pas contaminée par des substances ou produits dont l'utilisation n'est pas autorisée en production biologique ; et
- iii) pour autant qu'elle provienne des opercules des cellules.

Par dérogation au point 1.3.1, lors du renouvellement des ruchers, 20 % par an des reines et des essaims peuvent être remplacés par des reines et essaims non biologiques dans l'unité de production biologique, à condition que les reines et essaims soient placés dans des ruches dont les rayons ou les cires gaufrées proviennent d'unités de production biologique.

Si un traitement est administré à l'aide de produits allopathiques chimiques de synthèse, y compris des antibiotiques, autres que des produits et des substances dont l'utilisation est autorisée en production biologique conformément aux articles 9 et 24, les colonies traitées sont placées, pendant la période de traitement, dans des ruchers d'isolement et toute la cire est remplacée par de la cire provenant de l'apiculture biologique. Ensuite, la période de conversion de douze mois fixée au point 1.2.2 s'applique à ces colonies.

La cire destinée aux nouveaux cadres provient d'unités de production biologique.

Seuls des produits naturels tels que la propolis, la cire et les huiles végétales peuvent être utilisés dans les ruches. »

(cire d'opercules, cires de cadres³⁰ ; cire d'origine AB), afin d'être transformés en même temps (cf. Figure 19). Certains ciriers écartent du circuit apicole certaines cires, cires trop foncées, cires de cadres. Les cires écartées partent alors dans un autre circuit (raffinerie, cosmétiques, etc.) ou sont rendues à l'apiculteur ou détruites.



Figure 19 : Réception des pains de cire par le cirier : un premier tri en fonction de la couleur et de l'odeur peut être effectué (crédit photo : Christophe Roy)

3.2.3 Le gaufrage de la cire

Les pains de cire du lot constitué sont placés dans des cuves de fonte dont la contenance maximale est, en général, de 500 kg. Celles-ci sont en inox et présentent une double paroi contenant de l'huile calorifique permettant d'atteindre des températures supérieures à 100°C. Le chauffage est réalisé pendant quelques heures (pendant toute une nuit éventuellement) et permet la fonte des pains ainsi qu'une décantation des impuretés et des déchets potentiellement encore présents vers le fond de la cuve. Les impuretés déposées au fond de la cuve peuvent être retirées à plusieurs moments, par l'ouverture d'une vanne en bas de la cuve ou par un enlèvement à la fin de la transformation.

Les ciriers effectuent fréquemment un traitement thermique à haute température (> 120°C) et le couple « temps/température » est enregistré lors du processus de fonte. En effet, le traitement thermique est un point déterminant pour la maîtrise du danger représenté par les spores de *Paenibacillus larvae*, l'agent pathogène de la loque américaine (cf. 2.2.2 ; 2.3.1). La cire fondue sort de la cuve par un tuyau d'évacuation et se déverse dans un bac contenant de l'eau chaude. La cire, moins dense que l'eau, reste en surface puis arrive au contact d'un rouleau. Dans celui-ci, un flux d'eau froide circule en sens inverse de son sens de rotation, ce qui permet de refroidir la paroi sur laquelle se forme une pellicule très fine de cire qui fige de manière quasi-instantanée. Cette pellicule est ensuite raclée par une lame et mise sous pression par un bloc compresseur. Elle est progressivement poussée à l'extérieur pour passer au niveau d'une zone de rétrécissement et sort sous forme de ruban continu d'environ deux à trois millimètres d'épaisseur (laminage). Celui-ci passe ensuite dans un bac rempli d'eau contenant un savon démoulant. Ce dernier permet d'éviter que la cire ne colle aux rouleaux gaufreurs lors de la suite du processus. Le ruban passe ensuite entre deux rouleaux gaufreurs.

³⁰ Les BPA recommandent aux apiculteurs de ne recycler que les cires d'opercules qui sont de meilleure qualité. Cependant, le recyclage de la cire de cadres est une pratique qui perdure chez certains apiculteurs en raison de la faible production de cire d'opercules et des besoins en cire.

Ceux-ci vont permettre à la fois de réduire à nouveau l'épaisseur du ruban de cire en l'aplatissant et d'apposer sur ses deux faces les motifs des alvéoles (cf. Figure 20). Des rouleaux gaufreurs de gabarits différents peuvent être utilisés pour réaliser des feuilles aux empreintes de la taille des alvéoles de couvain d'ouvrières ou de mâles.



Figure 20 : Impression des alvéoles sur le ruban de cire (crédit photo : Christophe Roy)

La bande de cire gaufrée est ensuite coupée en largeur puis en longueur aux dimensions souhaitées (cf. Figure 21) et les feuilles sont empilées progressivement. Elles sont ensuite emballées (papier kraft, cartons). Au moment de la découpe des feuilles de cire, les chutes de cire gaufrée sont en général remises dans la cuve de fonte au cours de la transformation.



Figure 21 : Découpage des feuilles de cires gaufrées prêtes à être emballées et commercialisées (crédit photo : Christophe Roy)

À la fin du procédé de transformation, le fond de cuve contenant des déchets doit être enlevé avant le nettoyage de la cuve. Son devenir est différent en fonction des ciriers : pour certains, la quantité de cire résiduelle qu'il est impossible de gaufrer est rendue à l'apiculteur sous forme de pains de cire ; pour d'autres, elle est réutilisée dans un nouveau lot de même catégorie (cf. audition ciriers) ; pour d'autres encore, elle est évacuée et éliminée en tant que déchets.

Entre chaque lot transformé, un cycle de nettoyage est réalisé à l'eau (eau froide sous pression puis eau chaude et grattage), parfois suivi d'une désinfection à l'eau de Javel.

Il existe deux procédés de transformation : le procédé de gaufrage avec laminage de la cire (passage de la cire ramollie entre deux rouleaux gaufrés), qui permet d'obtenir des feuilles de cire moins cassantes, et le procédé de pressage de la cire dans un moule (la cire liquide est versée dans un moule dont les parois permettent par pressage le préformage des alvéoles).

L'apiculteur récupère la cire des opercules de hausses lors de la récolte de miel, et parfois la cire de cadre, de hausse ou de corps. Ces cires ne sont pas équivalentes et devraient être destinées à des usages différents. Les cires du corps ont contenu du couvain et des réserves et sont souvent de couleur brun foncé à noir, en raison de quantité d'impuretés (cocons, restes de couvain, etc.). Elles ont été exposées à des traitements apicoles acaricides durant plus de deux à trois saisons de production. Selon les bonnes pratiques apicoles, elles doivent être fondues, décantées et stockées en pains de cire pour être ensuite détruites ou réservées à un usage non apicole. Les cires de cadres de hausse sont de couleur jaune clair à brun clair, mais ont servi durant de nombreuses années, souvent même jusqu'à l'effondrement du bâti lors de l'extraction du miel. Dans le respect des règles d'utilisation des médicaments vétérinaires apicoles, ces cires n'ont pas été exposées aux traitements acaricides, mais compte tenu de leur ancienneté et des bonnes pratiques apicoles, elles doivent être fondues, décantées et stockées en pains de cire pour un usage non apicole. Seules les cires d'opercules des cadres de hausses, cires de l'année n'ayant pas été exposées aux traitements acaricides, devraient être recyclées pour une réutilisation en apiculture. La première étape du recyclage permettant d'obtenir des pains de cire est réalisée par l'apiculteur, la cire est collectée puis fondue pour former ces pains. Les opercules qui ferment les alvéoles contenant le miel sont collectés au couteau à désoperculer ou grâce à des machines automatisées. La collecte des bâtis de cire des vieux cadres se traduit par la séparation de leur cadre, leur fonte permet ensuite le retrait des impuretés et la constitution des pains de cire. Le rendement à l'extraction est différent selon la cire utilisée. La cire d'opercules présente un rendement élevé. Pour une cire de cadres de corps, il est faible car elle contient beaucoup d'impuretés. Les pains de cire ainsi constitués peuvent être destinés à deux voies principales d'utilisation : (i) une réutilisation pour un usage apicole consistant à transformer les pains de cire d'opercules en feuilles de cires gaufrées ; (ii) une vente pour un usage non apicole (cosmétiques, fabrication de bougies, etc.). L'apiculteur a la responsabilité de distinguer la source de chaque pain de cire : cadre de corps, de hausse ou cire d'opercules, afin qu'il soit possible de ne réaffecter que la cire dite d'opercules à un usage apicole. Les pains de cire destinés à un usage apicole peuvent être transformés en feuilles de cire gaufrée par l'apiculteur lui-même (gaufrage manuel) ; par un professionnel, le cirier (gaufrage d'un lot personnalisé) ; par l'intermédiaire d'un groupement ou d'une association (mise en commun de pains de cires de plusieurs apiculteurs) qui pourra décider d'un gaufrage personnalisé ou d'un échange de ces pains contre des feuilles de cires gaufrées vendues par un cirier (gaufrage à façon). Cette transformation des pains de cire en feuilles gaufrées est majoritairement réalisée par les ciriers professionnels. Un minimum de 30 à 50 kg de cire sont généralement nécessaires

pour réaliser la refonte et le gaufrage par le cirier. Il existe deux procédés de transformation : le gaufrage avec laminage de la cire (passage de la cire ramollie entre deux rouleaux gaufrés) et le pressage de la cire dans un moule (la cire liquide est versée dans un moule dont les parois permettent par pressage le préformage des alvéoles). Outre cette transformation, le cirier peut faire commerce de la cire et vendre des feuilles de cires gaufrées : (i) issues de pains de cire confiés par des apiculteurs, éventuellement organisés en groupements ; (ii) issues de pains de cires achetés, en provenance d'Europe par échanges intracommunautaires ; (iii) issues de pains de cires achetés, en provenance de pays tiers, par importation.

3.3 Pratiques d'approvisionnement en cire

3.3.1 Approvisionnement des ciriers en cire brute

La cire provenant de la filière apicole française constitue un circuit d'approvisionnement en cire pour les ciriers professionnels, qui se distingue par deux types de fournisseurs, selon la quantité de cire qu'ils peuvent produire. La quantité de cire produite dans l'exploitation, le volume des pains de cires et le circuit de collecte diffèrent en fonction du type d'apiculteurs (cf. Tableau 7). Les apiculteurs professionnels sont en général indépendants et autonomes, tandis que les autres utilisent un système collectif de mise en commun de leurs pains de cire. Les ciriers sont également approvisionnés en pains de cires par diverses voies identifiées par la Figure 22. En raison du déficit de production de cires françaises, certains ciriers se procurent, en partie, des pains de cire provenant de l'étranger (conditionneurs, importateurs...).

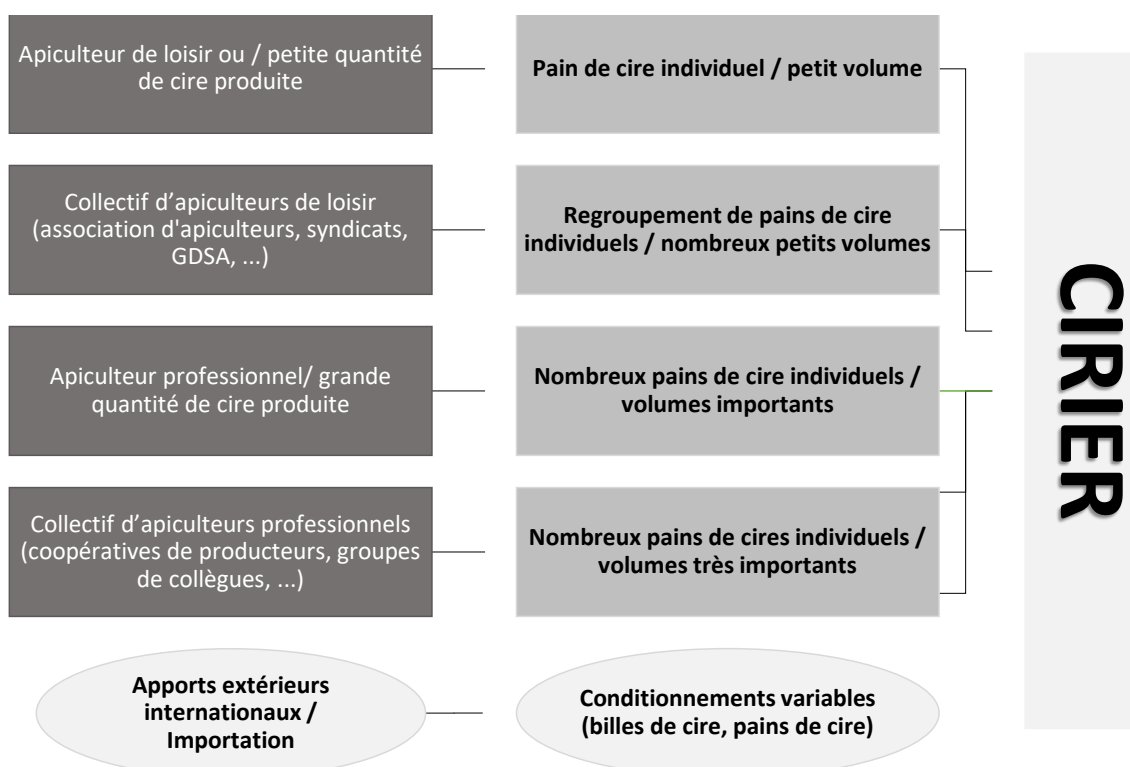
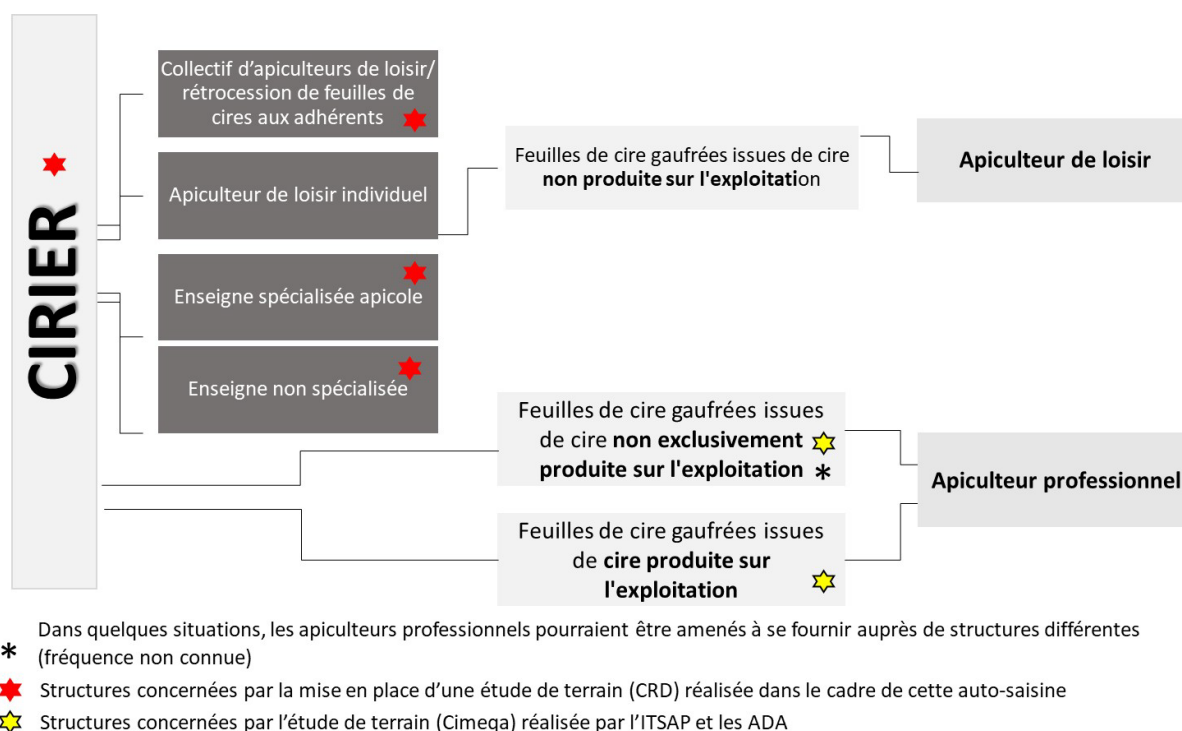


Figure 22 : Voies d'approvisionnement possibles en cire d'abeilles, pour un cirier (Source : GT Cires)

3.3.2 Fourniture des apiculteurs en feuilles de cires gaufrées

Différentes possibilités s'offrent aux apiculteurs pour se fournir en feuilles de cire gaufrées, principalement en fonction de la taille de leur exploitation (cf. Figure 23) :

- pour les apiculteurs professionnels, l'approvisionnement est le plus souvent direct auprès d'un cirier et la cire gaufrée provient régulièrement de leur propre exploitation, à l'exception des cas particuliers de regroupements d'apiculteurs professionnels ou de situations particulières ; cf. Figure 23) ;
- pour les autres apiculteurs, les voies d'approvisionnement sont multiples et la cire gaufrée ne provient pas de leur propre exploitation (sauf cas particuliers des apiculteurs gaufrant leur propre cire brute à l'aide d'un gaufrier manuel ; cf. 3.2.1).



Cimeqa = Cires - méthodes d'évaluation de leur qualité pour l'apiculture, cf. paragraphe 5.1.3.2.

CRD = Convention Recherche-Développement, cf. paragraphe 5.1.3.3.

Figure 23 : Voies d'approvisionnement des apiculteurs en feuilles de cire gaufrée (Source : GT Cires)

Les différentes voies de distribution de cires gaufrées en France sont donc :

- les ciriers ;
- les collectifs d'apiculteurs ;
- les enseignes apicoles spécialisées ;
- les enseignes non spécialisées (type magasin de jardinage-bricolage).

Le prix de la cire varie en fonction de sa présentation et de sa qualité. Lors de l'achat de cire brute, la qualité de la cire est estimée par le cirier en fonction de sa couleur, de son odeur, de sa nature (cire d'opercules ou autres) et du type de production (apiculture biologique ou conventionnelle). Les prix des cires utilisables en production biologique sont très élevés en raison du peu d'offre disponible sur le marché.

Le circuit des cires tel qu'il existe aujourd'hui, les intérêts économiques, les niveaux de productions sont autant d'éléments qui justifient que l'on distingue clairement ce qui peut / doit être recyclé afin d'être proposé aux colonies d'abeilles c'est-à-dire pour un usage apicole.

3.4 Marché de la cire, échanges et importations

De façon générale, la France n'est pas autosuffisante en cire d'abeilles à usage apicole, ce qui signifie que des achats auprès de pays exportateurs sont nécessaires pour subvenir aux besoins de tous. Les ciriers importent des pains de cire de provenance européenne ou de pays tiers pour les transformer puis les vendre sous forme de cire gaufrée (cf. Tableau 8).

Pour les échanges entre les pays de l'UE et les pays tiers, chaque produit importé ou exporté est défini par un code douanier dont la classification repose uniquement sur la nature du produit. Cette classification ne permet pas la distinction entre la cire d'abeilles destinée à un usage apicole, de celle utilisée à d'autres fins (pharmacologie, cosmétologie, bougies, etc.). Les données disponibles sur les volumes d'échanges de cires d'abeilles, quelle qu'en soit la source, se réfèrent à la cire d'abeilles en tant que SPA (cf. 2.2.2), toutes utilisations confondues.

Les produits échangés entre pays dans le monde sont identifiés par leur code de nomenclature combinée (NC)³¹. Pour la cire d'abeilles, deux codes de la NC recouvrent l'ensemble des marchandises qui peuvent être échangées à l'international (cf. Tableau 8). Le règlement (CE) n°2021/632 donne leur signification (Audition F. Meziani, DGAI) :

- Code « 1521 90 91 : Cires Brutes. Les cires présentées sous forme de rayons (exempts de miel) relèvent notamment de cette sous-position ;
- 1521 90 99 : Autres. Cette sous-position couvre les cires fondues, pressées ou raffinées, même blanchies ou colorées. »

Toute cire importée doit être accompagnée d'un certificat sanitaire (cf. Annexe 3, certificat sanitaire du règlement (UE) n°142/2011³²). Ce certificat comporte des informations relatives à la traçabilité (informations sur l'origine géographique, expéditeur, destinataire, etc.), la quantité de cire, et atteste que les cires proviennent de zones qui ne font pas l'objet de restrictions particulières vis-à-vis de certains dangers sanitaires (cf. 2.2) et à la nature du traitement auquel elles ont été soumises. Les cires, au même titre que les autres sous-produits d'origine animale issus d'importations (c'est-à-dire provenant de pays tiers), peuvent être soumises à des contrôles vétérinaires en poste de contrôle frontalier (PCF). Ces contrôles correspondent à une vérification documentaire du certificat sanitaire, à laquelle s'ajoute la possibilité de réaliser d'autres contrôles comme des inspections visuelles, éventuellement analytiques. En pratique, ces dernières ne sont pas réalisées sur la cire³³. La fréquence et la nature des contrôles prévus en cas d'importation sont établies et mises à jour régulièrement sur la base d'une évaluation des risques sanitaires : elles figurent dans la réglementation (EU 2021/632)³⁴. L'usage apicole est en principe notifié sur le certificat d'importation accompagnant les cires (case à cocher « usage technique » sur le certificat d'importation) (cf. Annexe 3), il ne semble pas que cette information fasse l'objet d'un suivi dans les bases de données.

³¹ Le système d'échanges international définit deux types de cires. Les notes explicatives de la NC (« nomenclature combinée (ci-après la « NC ») figurant à l'annexe I du règlement (CE) n°2658/87 du Conseil, du 23 juillet 1987, relatif à la nomenclature tarifaire et statistique et au tarif douanier commun (JO 1987, L 256, p. 1) : http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2021/632/oj/fra

³² Certificat consultable en annexe 1, chapitre 13, p323 du règlement (UE) n°142/2011 : <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/142/oj/fra>

³³ Les contrôles analytiques supposent l'existence de normes et d'un laboratoire accrédité pour les analyses sur la matrice cire, ce qui n'est actuellement pas le cas.

³⁴ Règlement (UE) 2021/632 : http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2021/632/oj/fra

Tableau 8 : Extrait du règlement CE n°2021/632

Code NC	Désignation des marchandises	Précisions et explications
1521 90 91	Cires d'abeilles ou d'autres insectes, brutes	Toutes ces marchandises ; comprend les cires présentées sous forme de rayons, les cires d'abeilles brutes pour l'apiculture et pour des usages techniques. L'article 25, paragraphe 1, point c), du règlement (UE) n°142/2011 interdit l'importation dans l'Union et le transit par celle-ci de la cire d'abeilles sous la forme de rayon de miel ³² . Des exigences spécifiques pour les sous-produits apicoles sont énoncées à la ligne 10 du tableau 2 figurant à l'annexe XIV, chapitre II, section 1, du règlement (UE) n°142/2011 ³² .
1521 90 99	Cires d'abeilles ou d'autres insectes, même raffinées ou colorées, non brutes	Toutes ces marchandises ; comprend les cires transformées ou raffinées, même blanchies ou colorées, destinées à l'apiculture ou à des usages techniques. Des exigences spécifiques pour les sous-produits apicoles sont énoncées à la ligne 10 du tableau 2 figurant à l'annexe XIV, chapitre II, section 1, du règlement (UE) n°142/2011 ³² . Les sous-produits apicoles autres que les cires d'abeilles doivent être soumis à des contrôles officiels sous le code NC 0511 99 85 : « Autres ».

Pour rappel, l'importation de cires d'abeilles sous forme de rayons de miel est interdite (art. 25, règlement UE n°142/2011³⁵), mais il est possible d'importer des rayons de cire sans miel, pour un usage en apiculture ou un usage technique selon les dispositions de la ligne 10 du tableau 2 de l'annexe XIV du règlement UE n°142/2011 (cf. Tableau 9). Ces dispositions indiquent également les traitements à appliquer afin de minimiser le risque sanitaire lié à l'importation de ces cires.

³⁵ Règlement (UE) 142/2011 : <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/142/oj/fra>

Tableau 9 : Dispositions prévues concernant les cires importées ou en transit (extrait du tableau 2 de l'annexe XIV du règlement UE n°142/2011)

N	Pro duit	Matières premières	Conditions d'importation et de transit	Listes de pays tiers	Certificats/modèles de documents
10	Sous-produits apicoles	Matières de catégorie 3 visées à l'article 10, point e) [Référence aux dispositions du règlement (CE) n° 1069/2009] ³⁶	a) Sous-produits apicoles destinés à être utilisés en apiculture autres que la cire d'abeilles sous la forme de rayon de miel : i) les sous-produits apicoles doivent avoir été soumis à une température égale ou inférieure à – 12 °C pendant 24 heures au moins ; ou ii) dans le cas de cire d'abeilles, 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. b) Cire d'abeilles autre que la cire d'abeilles 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.	a) Sous-produits apicoles destinés à être utilisés en apiculture : les pays tiers figurant sur la liste de l'annexe II, partie 1, du règlement (UE) n° 206/2010³⁷ et le pays suivant : — le Cameroun (CM). b) Cire d'abeilles destinée à d'autres fins que l'alimentation des animaux d'élevage : tout pays tiers.	a) Sous-produits apicoles destinés à être utilisés en apiculture : annexe XV, chapitre 13. b) Cire d'abeilles destinée à d'autres fins que l'alimentation des animaux d'élevage : document commercial attestant que la matière a été raffinée ou transformée.

3.4.1 Production et importations de cire (tous usages) par la France

Historiquement, dans les années 1930, la France produisait environ 800 tonnes de cire d'abeilles par an (Ministère de l'Agriculture 1936). Toutefois, les modes de production et de récolte de la cire, liés au type de ruches utilisées à l'époque (notamment et par exemple, les ruches paniers ou troncs à rayons fixes v/s ruches modernes à cadres mobiles) ne permettaient pas de discriminer la cire d'opercules de miel des autres cires de la ruche. Ceci peut en partie expliquer la différence de quantité de cire produite entre ces années et aujourd'hui. De 2000 à 2007, la France a produit annuellement 400 tonnes de cire d'abeilles. De 2010 à 2017, la production a augmenté légèrement, de 415 tonnes en 2010 pour atteindre 438 tonnes en 2017 (cf. Tableau 10). Même si cette production culmine en 2020 à 477 tonnes de cire (ITSAP Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation 2024), cette quantité (sans distinction des usages de destination) est largement insuffisante pour couvrir les besoins en cires de la France.

Fait notable, la France est le premier pays importateur de cire en Europe. Entre 2020 et 2023 la quantité de cire importée par la France (provenance UE et pays tiers) a augmenté chaque année pour atteindre presque 1 000 tonnes en 2022 (cf. Tableau 10). Cette quantité correspond à la cire destinée à l'ensemble des usages détaillés dans le chapitre 2.2. Il est

³⁶ Règlement (CE) n° 1069/2009] : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=legissum:sa0025>

³⁷ Règlement (UE) 206/2010 : <http://data.europa.eu/eli/reg/2010/206/oj>

estimé qu'environ un tiers des importations annuelles de cire en France est destiné à l'apiculture, les deux autres tiers à l'industrie.

Les bases de données consultables pour déterminer les quantités produites et importées par la France sont : Eurostats ; Faostats ; Traces NT³⁸ (*Trade control and expert system – New Technology*). Ces bases de données recensent les quantités de cires d'abeilles importées ou exportées, tous usages confondus, exprimées en tonnes ou en quintaux. Les données disponibles dans ces bases ne permettent pas de préciser les usages auxquels la cire d'abeilles est destinée. Elles ne distinguent que deux types de cire (brute ou raffinée)³⁹ dépendant de leur numéro de nomenclature douanière.

D'après les auditions de ciriers français, le choix des fournisseurs auprès desquels est importée la cire s'effectue selon des critères de prix et de disponibilité. Il faut souligner l'impossibilité de distinguer la cire de production autochtone par un État membre de celle qu'il aurait importée d'un pays tiers, constituant une limite importante du système de traçabilité des échanges.

Tableau 10 : Quantité de cire produite par la France de 2007 à 2017 (d'après FAOSTAT, 2025)

Année	Production française de cire brute, en tonnes (tous usages)
2007	400
2008	415
2009	420
2010	419,3
2011	425,2
2012	424,3
2013	426,6
2014	428,1
2015	437,5
2016	436,2
2017	438,4

Un total de 75 % du miel français est produit par des apiculteurs possédant plus de 50 ruches, lesquels produisent et commercialisent également la plus grande partie des autres produits de la ruche comme la gelée royale, la propolis, le pollen ou la cire (FranceAgriMer 2023).

Le site Traces-NT dont la saisie de données dépend du règlement (UE) n°2017/625 permet l'accès à de nombreuses informations sur les fournisseurs : volumes, quantités des cires importées, pays expéditeur, etc. Les données disponibles (cf. Tableau 11) ont été transmises par la DGAI (suite à l'audition F. Meziani).

38 La plateforme TRACES-NT est mentionnée au point 4 de l'article 133 du règlement (UE) 2017/625 du Parlement européen et du Conseil du 15 mars 2017 concernant les contrôles officiels, plateforme de certification de l'UE, utilisée pour les certificats harmonisés lors d'importations et exportations, négociés par la CE pour les pays tiers, pour les 27 EM de l'UE concernant les contrôles officiels : <http://data.europa.eu/eli/reg/2017/625/oj/fra>

39 <https://www.doctrine.fr/d/CJUE/2021/CJUE62020CJ0197>

Tableau 11 : Extraction de TRACES-NT des importations de cires d'abeilles par la France de 2020 à 2023 provenant de pays hors UE, en kg (Source : DGAI)

Année	Pays expéditeur	Quantité de cire importée en kg
2020	Chine	516 000
	Burkina Faso	70 817
	Madagascar	20 643
	Zambie	20 250
	Mali	17 649
	Ukraine	14 671
	Cuba	10 000
	États-Unis	1 901
	Japon	40
		Total : 671 971
2021	Chine	682 759
	Mali	33 397
	Madagascar	25 939
	États-Unis	13 105
	Laos	500
	Japon	220
	Royaume-Uni	20
		Total : 754 940
2022	Chine	894 708
	Madagascar	40 200
	Mali	16 632
	Zambie	15 000
	Guinée	14 600
	États-Unis	12 650
	Laos	500
	Japon	200
		Total : 994 489

3.4.2 Contrôles des cires importées

3.4.2.1 Contrôles par les États importateurs

La législation autorise les échanges (intracommunautaires) et importations (en provenance de pays tiers) de cires, sous réserve qu'elles soient conditionnées sous forme de pains ou de plaques (elle porte alors le numéro de NC 1521 90 99) ou brute sous forme de rayons exempts de miel (elle porte alors le numéro de NC 1521 90 91). La cire reçue doit avoir été préfiltrée par le pays exportateur : retrait des grosses impuretés, feuilles, herbes, branchages, etc. Pour la France, la traçabilité correspond à l'enregistrement des lots réceptionnés en postes de contrôles frontaliers dans le système européen Traces-NT et à la conservation, par l'acheteur,

des certificats sanitaires établis par les vétérinaires officiels. Les vétérinaires des services officiels du pays exportateur établissent des certificats attestant d'un statut sanitaire régional et/ou national compatible avec les attendus et exigences du pays destinataire. Le cahier des charges sanitaire exige la description du traitement thermique mis en œuvre (couple temps/température), en lien avec le risque d'introduction d'éléments de résistance d'agents infectieux (spores de loque américaine, etc.).

3.4.2.2 Contrôles mis en œuvre par les entreprises importatrices de cire à usage apicole

En l'absence de normes associées à la qualité du produit, la législation n'impose à ce jour aucun contrôle analytique de la cire à usage apicole, à l'exception des cires conventionnelles susceptibles d'intégrer le circuit AB⁴⁰. Dans le cadre d'une démarche volontaire, certains utilisateurs de cire à usage apicole, ciriers et fournisseurs grossistes, sollicitent la réalisation d'analyses de cire avant import, ciblant certains contaminants. À ces analyses peuvent également s'ajouter des exigences supplémentaires portant sur les caractéristiques physico-chimiques de la cire en vue d'une recherche d'adultération. La législation ne prévoyant pas de normes spécifiques à cet effet, ce sont donc les ciriers qui définissent le cadre de leurs autocontrôles. Dans les filières de production animales concernant d'autres espèces que les abeilles, il existe des guides de bonnes pratiques, basés sur la législation, qui définissent les principes de ces autocontrôles (fréquence, échantillonnage, critères sanitaires, critères de qualité, etc.), mais pas pour les cires d'abeilles.

Selon les professionnels auditionnés, leurs systèmes de suivi de la qualité et de traçabilité des produits peuvent inclure des autocontrôles, ou même des plans de contrôle interne, leur permettant de s'assurer de la qualité des pains de cire réceptionnés. Ces plans de contrôle peuvent comprendre (auditions DGAI et ciriers) :

- un plan d'échantillonnage ;
- des prélèvements des lots réceptionnés par échantillonnages selon le plan de contrôle préalablement défini ;
- la mise en œuvre d'analyses : caractéristiques physico-chimiques ; adultération ; substances chimiques contaminantes.

Les systèmes de traçabilité cités durant les auditions peuvent inclure :

- la traçabilité amont, qui correspond aux informations liées à la provenance des cires (fournisseur, pays d'origine, identification du ou des lots) ;
- la traçabilité interne de l'entreprise, assurée par l'enregistrement et la conservation des procédés et fiches de fabrication de chaque lot nouvellement constitué (registre de fabrication détaillant les compositions précises des lots de cire transformée) ;
- la traçabilité aval, pour chaque unité de livraison/vente, enregistrement du numéro du lot de fabrication dont elle est issue, de son destinataire, de la quantité et de la date de livraison.

Certains grossistes négociants en cire peuvent revendre les cires qu'ils achètent soit pour un usage apicole, soit pour un usage pharmaceutique ou industriel, ce qui augmente la complexité en termes de traçabilité aval (d'identification de la destination finale du lot).

⁴⁰ Selon l'article 1.2.2 du règlement (UE) n°2018/248, la cire conventionnelle peut être utilisée dans le circuit BIO, sous réserve du respect du cahier des charges qui liste une trentaine de molécules pour lesquelles le taux détecté doit être inférieur à 0,1 ppm, sauf pour certaines où des limites sont fixées à un niveau encore inférieur. http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2018/248/oj/fra

En raison du déficit de production de cires françaises, certains ciriers se procurent, en partie, des pains de cire provenant de l'étranger (conditionneurs, importateurs, etc.). Le prix de la cire varie en fonction de sa présentation et de sa qualité. Lors de l'achat de cire brute, la qualité de la cire est estimée par le cirier en fonction de sa couleur, de son odeur, de sa nature (cire d'opercules ou autres) et du type de production (apiculture biologique ou conventionnelle). Le circuit des cires tel qu'il existe au moment de la rédaction de ce rapport, les intérêts économiques, les niveaux de productions sont autant d'éléments qui justifient que soit clairement distingué ce qui doit être recyclé afin d'être proposé pour un usage apicole. La France n'est pas autosuffisante en cire d'abeilles à usage apicole, ce qui signifie que des achats auprès de pays exportateurs sont nécessaires. Depuis 2000, la France, produisant annuellement environ 400 tonnes de cire, est le premier pays importateur de cire en Europe, avec presque 1 000 tonnes importées en 2022. Il est estimé qu'environ un tiers des importations annuelles de cire en France est destiné à l'apiculture, les deux autres tiers à l'industrie. Pour les échanges entre les pays de l'UE et les pays tiers, la cire d'abeilles est considérée en tant que SPA (sous-produit animal) et ne permet pas la distinction entre la cire d'abeilles destinée à un usage apicole, de celle utilisée à d'autres fins (pharmacologie, cosmétologie, bougies, etc.). Toute cire importée doit être accompagnée d'un certificat sanitaire comportant des informations relatives à la traçabilité (origine géographique, expéditeur, destinataire, etc.), la quantité de cire, et atteste que les cires proviennent de zones qui ne font pas l'objet de restrictions particulières vis-à-vis de certains dangers sanitaires. Les cires peuvent être soumises à des contrôles vétérinaires consistant en une vérification documentaire du certificat, à laquelle s'ajoute la possibilité de réaliser d'autres contrôles comme des inspections visuelles. L'usage apicole est en principe notifié sur le certificat d'importation, sans que cette information fasse l'objet d'un suivi dans les bases de données. Le choix des fournisseurs de cire s'effectue selon des critères de prix et de disponibilité. Il faut cependant souligner une limite importante du système de traçabilité des échanges et importations : il n'est pas possible de distinguer si la cire fournie par un État membre est issue de la production autochtone ou s'il s'agit de cire déjà importée d'un pays tiers. Pour la France, la traçabilité correspond à l'enregistrement des lots réceptionnés en postes de contrôles frontaliers dans le système européen Traces-NT et à la conservation, par l'acheteur, des certificats sanitaires établis par les vétérinaires officiels. Les vétérinaires des services officiels du pays exportateur établissent des certificats attestant d'un statut sanitaire régional et/ou national compatible avec les attendus et exigences du pays destinataire. Le cahier des charges sanitaire exige la description du traitement thermique mis en œuvre (couple temps/température), en lien avec le risque d'introduction d'éléments de résistance d'agents infectieux (spores de loque américaine *Paenibacillus larvae*, etc.). En l'absence de norme associée à la qualité du produit, la législation n'impose à ce jour aucun contrôle analytique de la cire à usage apicole, à l'exception des cires conventionnelles susceptibles d'intégrer le circuit AB. Sans normes spécifiques à cet effet, ce sont donc les ciriers qui définissent le cadre de leurs autocontrôles. Certains grossistes négociants en cire peuvent revendre les cires qu'ils achètent soit pour un usage apicole, soit pour un usage pharmaceutique ou industriel, ce qui augmente la complexité en termes de traçabilité aval (d'identification de la destination finale du lot).

3.5 Prise en compte de la contamination et de l'adultération des cires d'abeilles en France

3.5.1 Les constats des apiculteurs

Pendant longtemps, la cire gaufrée introduite dans les ruches par les apiculteurs ne présentait pas de danger à leurs yeux, même en connaissance de son caractère lipophile, compatible avec l'accumulation pérenne de substances actives potentiellement nocives. Le renouvellement régulier des cires, tel que préconisé par les bonnes pratiques apicoles⁴¹, devait répondre à ce potentiel danger (ITSAP Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation 2018a). En effet, l'accumulation d'éventuels contaminants dans les cires était entendue comme la conséquence d'une exposition au long terme des colonies à des substances présentes dans leur environnement au sens large (dans la ruche et à l'extérieur de la ruche). La prise de conscience du fait que la cire recyclée, dès son introduction dans les ruches, pouvait déjà être fortement contaminée est donc assez récente (début des années 2000). À cette époque, à partir de quelques données bibliographiques évocatrices et avec les moyens analytiques disponibles, l'Afssa a étudié le niveau de contaminations chimiques des cires et ses conséquences sur la qualité du miel et la santé des abeilles. Ainsi, Martel et al. notent en 2007 que la plupart des échantillons de cires commerciales et ceux prélevés au cours du processus de recyclage de la cire contenaient du coumaphos et du tau-fluvalinate⁴². Dans le cadre d'une étude réalisée sur des ruches expérimentales traitées au coumaphos sous forme de poudre, il a été observé que cette substance était rapidement incorporée dans la cire principalement, et dans une moindre mesure dans le miel. Les résidus de coumaphos ont persisté dans la cire, plus longtemps à la périphérie des cadres qu'en leur centre⁴³. La conclusion de l'article indique que l'utilisation du coumaphos entraîne une contamination de la cire qui persiste, même après le processus de recyclage (Martel et al. 2007).

3.5.2 L'enquête administrative de la Brigade Nationale d'Enquêtes Vétérinaires et Phytosanitaires sur la « filière cire apicole »

À la suite de différents signaux d'alerte émis par les apiculteurs, 2016 constitue une année charnière dans la prise de conscience des risques liés aux cires pour la santé des abeilles et de la colonie. Compte tenu des interrogations de certaines organisations professionnelles apicoles sur le lien entre la santé des colonies d'abeilles et la qualité, la traçabilité et l'origine des cires, il a été décidé en CNOPSAV (Conseil National d'Orientation de la Politique Sanitaire Animale et Végétale) de réaliser une enquête sur l'organisation de la filière française de transformation des cires à usage apicole (CNOPSAV du 30 septembre 2016). La DGAI a ainsi commandé une enquête administrative quant à la cire circulant en France, conduite par la BNEVP. Elle fut réalisée de décembre 2016 à novembre 2017 et son rapport conclusif, reposant sur 43 inspections réalisées chez des professionnels de la filière cire apicole (sociétés de négoce international, collecteurs et stockeurs de cires, transformateurs, distributeurs), a été transmis en janvier 2018. Les différents constats faits par l'équipe enquêtrice ont permis de relever des anomalies techniques, des défauts dans la structuration

⁴¹ <https://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/>

⁴² Le coumaphos et le tau-fluvalinate sont des acaricides apicoles : l'utilisation du tau-fluvalinate est toujours autorisée au moment de la rédaction de ce rapport, alors que celle du coumaphos ne l'est plus depuis 2005 (ITSAP, 2018) [C3.pdf](#).

⁴³ Après le traitement à l'Asuntol50, les résidus de coumaphos ont augmenté dans le miel et les rayons de cire et ont persisté plus de 30 jours dans le miel et plus d'un an dans la cire des rayons.

de cette filière et une méconnaissance des obligations réglementaires. Les résultats de cette enquête ont été présentés par la BNEVP à son commanditaire, la DGAI, ainsi qu'au CPVADAAA (Comité Permanent des Végétaux, des Animaux, des Denrées Alimentaires et de l'Alimentation Animale) de la Commission européenne. Elle a également fait l'objet d'une présentation à la filière apicole au cours des réunions des CNOPSAV (section apicole) du 24 octobre 2018 et du 31 mai 2024, ainsi que d'une présentation à la profession vétérinaire lors des Journées Vétérinaires Apicoles le 8 octobre 2021.

3.5.2.1 Anomalies mises en évidence par l'enquête

Les principales anomalies mises en évidence par les enquêteurs recouvrent des non-conformités, parmi lesquelles des absences de traçabilité ou des absences d'enregistrement du couple temps-température lors du recyclage. Des pratiques délictueuses (vis-à-vis du Code de la consommation, article 454-1⁴⁴) ont été constatées et caractérisées, telles que des falsifications, des tromperies sur la qualité de la marchandise et des pratiques commerciales trompeuses (JORF Code de la Consommation 2022). Les auteurs du rapport d'enquête indiquent que l'infraction relative à la tromperie avec « danger pour la santé animale » est la plus grave des infractions constatées (intégration de stéarine/acide stéarique dans la cire à usage apicole (cf. glossaire). Ils indiquent aussi que « l'ensemble des éléments de l'enquête corroborent les constats établis en Belgique relatifs aux effets néfastes de l'adultération des cires sur la santé de l'abeille ». Concrètement, lorsque la cire est destinée à un usage apicole, différents dangers ont été mis en exergue, parmi lesquels : une possible exposition de la cire d'importation à des fumigations insecticides en containers de transport maritime international⁴⁵, de fortes hétérogénéités dans la qualité et l'origine des cires utilisées pour constituer de nouvelles feuilles (cires de corps, cires d'opercules), des traitements thermiques souvent mal maîtrisés, l'utilisation d'auxiliaires technologiques interdits au cours du travail de la cire, l'incorporation de cires non apicoles aux cires d'origine apicole (cires minérales, cires végétales, acides gras de type palmitique ou stéarique, cires synthétiques). Parmi les carences dans les pratiques des professionnels, des pratiques d'hygiène souvent déficientes dans les locaux de transformation ont été relevées.

3.5.2.2 Suites administratives immédiates et procédures pénales

Les suites immédiates données à cette enquête et relatives aux délits constatés sont traduits par la saisie de plusieurs tonnes de cires et la mise en œuvre de mesures coercitives. Des poursuites pénales ont également été engagées. La « tromperie sur la nature » (par exemple lorsque la cire est annoncée « 100 % naturelle » alors qu'elle contient des cires synthétiques) et les « pratiques commerciales trompeuses » (par exemple pour des publicités sur des sites internet avec de fausses allégations) ont été conservées comme chefs d'accusation. Il faut toutefois noter qu'en termes financiers, les peines d'amendes prononcées et encourues sont généralement inférieures aux bénéfices qu'un professionnel peut envisager dudit délit (audition BNEVP).

⁴⁴ Article 454-1 du code de la consommation : https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000046194274

⁴⁵ Le rapport de la BNEVP évoque un traitement systématique par fumigation des containers contenant de la cire d'abeilles mais il semble évoquer aussi que les cires sont enfermées dans des sacs en polypropylène pour les protéger des contaminations. Le rapport sur ce point précise : « A ce jour, faute de données, il est difficile d'évaluer l'incidence des pratiques de fumigation des conteneurs maritimes pendant plusieurs semaines sur la qualité des cires et la santé des abeilles ».

3.5.2.3 Suites administratives sur le long terme

La BNEVP signale que les anomalies relevées ne sont pas le fait de la seule filière cire apicole française mais que la problématique est mondiale. À moyen et long termes, la suite à donner à ce rapport serait une nécessaire collaboration internationale et européenne coordonnée sur le sujet de manière à atteindre les objectifs visés, relatifs à la qualité des cires à usage apicole. En France, à la suite de ce rapport, la DGAI a indiqué sa volonté de mettre en place un « Plan d'actions cire » pour améliorer les pratiques. Sur la base de son enquête, la BNEVP a adressé plusieurs propositions d'amélioration de tous ordres et relatives à différents domaines : (i) à la communication / information / formation des acteurs, (ii) à la structuration de la filière, (iii) aux instructions techniques administratives manquantes, (iv) aux laboratoires d'analyses des cires et (v) aux suites judiciaires et sanctions.

Parmi les propositions concrètes qui ont été émises, figurent :

- la préconisation de rapprocher les différents acteurs pour qu'ils travaillent ensemble à l'élaboration d'un guide de bonnes pratiques ;
- l'encouragement à développer un dispositif d'agrément ou de certification pour les ciriers ;
- l'intégration de cires à usage apicole dans les PSPC (Plan de Surveillance et Plan de Contrôle) ;
- la désignation d'un laboratoire de référence pour l'analyse des cires.

Enfin, outre ces différentes propositions relatives à la santé des colonies d'abeilles, la BNEVP invitait la DGAI à élargir le champ des investigations (par les PSPC) pour écarter tout risque pour la santé publique. En effet, sur la base de ses différents contrôles, elle a considéré que des « traces d'éléments potentiellement dangereux, nocifs voire toxiques » pourraient être ingérés lors de consommation de miel en rayon.

Suite à cette enquête et à l'occasion du CNOPSAV apicole du 24 octobre 2018, la DGAI a pris date de ces conclusions et a annoncé devant les représentants de la filière, un certain nombre de décisions et de perspectives : des poursuites judiciaires pour les actes relevant de l'adultération des cires, son intention de faire progresser la réglementation sur les cires à usage apicole au niveau européen et international, son souhait de mettre en place une surveillance de la qualité des cires importées, sa volonté de mener un travail portant sur le statut administratif des ciriers et sur leurs obligations et, enfin, son soutien à l'écriture d'un guide de bonnes pratiques par les professionnels de la filière.

3.5.3 Le Plan d'actions cire de la DGAI

En 2018, la DGAI a proposé un Plan d'actions cire qui regroupe l'ensemble des décisions prises pour corriger les défauts constatés chez les professionnels de la filière lors de l'enquête administrative de la BNEVP, dans le but d'améliorer la qualité de la cire dite à usage apicole, commercialisée en France. Il faut préciser que, derrière ce terme générique de Plan d'actions cire, il n'existe, à la connaissance des experts, aucun document rendu public formalisant ce plan et indiquant les objectifs visés. Les seules informations disponibles sur ce projet sont celles indiquées aux experts lors de l'audition des responsables en charge de ce dossier à la DGAI. Dix actions constituent ce plan et s'établissent à différents niveaux : d'ordre géographique (international, européen et national), d'ordre sectoriel (collecte, importation, transformation, contrôle, surveillance, recherche, laboratoires) et d'ordre partenarial (DGA, DGCCRF, Anses, filière apicole, ciriers, apiculteurs, etc.).

3.5.3.1 Les actions prévues par le Plan d'actions cire et leur état d'avancement

En ce qui concerne les **actions auprès des instances internationales**, la DGAI indique dans le cadre de ce plan qu'elle « pourra apporter un appui au suivi par les professionnels en lien avec l'interprofession Interapi » (**action 1**), dans le but de travailler à la normalisation (ISO, Codex) de la qualité des cires à usage apicole. En octobre 2021, selon le référent national, ce sujet « n'était pas encore traité ».

Au niveau communautaire, la DGAI a retenu comme actions :

- la « demande de définition d'une cire à usage apicole » (**action 2**) ;
- la « demande à la Commission européenne d'un positionnement (harmonisation) sur le régime administratif des ciriers : agrément, enregistrement » (**action 3**).

En octobre 2021, lors de la communication réalisée par le référent national aux JVA, l'état d'avancement de ces deux actions indique que, dès 2019 « la DGAI a informé les États-membres des premiers résultats de l'enquête de la BNEVP à l'occasion d'une réunion des chefs vétérinaires officiels (CVO), qu'une note des autorités françaises a été rédigée à l'attention de la CE pour demander l'intégration d'une définition des cires apicoles à la réglementation communautaire relative aux sous-produits animaux ». En conséquence, « la CE a pris contact avec l'EFSA pour prendre en charge ce dossier », mais en 2021 aucune réponse n'avait été donnée par l'agence Européenne. En ce qui concerne les deux actions 2 et 3, aucune avancée réelle n'a donc été obtenue. Il convient de noter que la DGAI n'en est pas maître d'œuvre et qu'elle n'est donc pas responsable de l'absence de suite donnée jusqu'à ce jour.

En ce qui concerne les **actions relevant de décisions nationales**, la DGAI listait plusieurs points en 2021 :

- « amélioration de la surveillance des cires apicoles introduites sur le territoire national » (**action 4**) : pour cette action la DGAI a identifié, avec le Service d'inspection vétérinaire et phytosanitaire aux frontières (SIVEP), un certain nombre de freins qu'il convient de lever pour que cette surveillance devienne effective, tels que « le développement d'outils (Laboratoire National de Référence, identification des molécules à chercher, définition des méthodes analytiques officielles et des seuils retenus, mise à disposition de grilles de contrôle auprès des services concernés, etc.) ». À la connaissance des experts, cette action n'a pas progressé au moment de la rédaction du rapport ;
- « suivi de l'implication des cires apicoles dans le cadre de la surveillance des événements de santé » (**action 5**) : la veille, constituée par l'OMAA⁴⁶ dans les régions où celui-ci est déployé, fait donc partie intégrante du « Plan d'actions ». La démarche diagnostique appliquée par les vétérinaires investigateurs déployés sur le terrain prévoit un protocole adapté permettant d'explorer la qualité des cires lorsque des troubles de santé sont évocateurs d'un lien avec cette matrice (cf. Figure 24). La prise en charge financière, par l'Etat et l'Europe, des analyses est effective depuis 2020. En 2024, la DGAI indique environ 13 cas pour lesquels des analyses de cires ont été engagées pour la voie « Autres troubles »⁴⁷ de l'OMAA, depuis ces trois dernières années (communication C. Sourdeau) (Plateforme ESA 2024).

⁴⁶ L'Observatoire des Mortalités et des Affaiblissements de l'Abeille mellifère (OMAA) est un système de surveillance novateur dont les objectifs sont de répondre aux constats de troubles de santé déclarés par les apiculteurs, de faire l'inventaire et l'analyse de la dynamique spatio-temporelle des mortalités et des affaiblissements des colonies d'abeilles domestiques en France métropolitaine, d'identifier les cas groupés et de lancer des alertes.

⁴⁷ Les apiculteurs ou toute autre personne constatant un événement de santé dans un rucher sont ainsi invités à contacter un guichet unique régional pour déclarer les troubles observés auprès d'un vétérinaire formé en apiculture – pathologie apicole. Ce dernier est chargé d'orienter les cas vers les dispositifs adaptés (dangers réglementés, MMAA (Mortalités Massives des Abeilles Adultes) ex MMA (Mortalités Massives Aigues), « Autres troubles ». Des investigations peuvent ainsi être mises en œuvre via le dispositif de surveillance des maladies

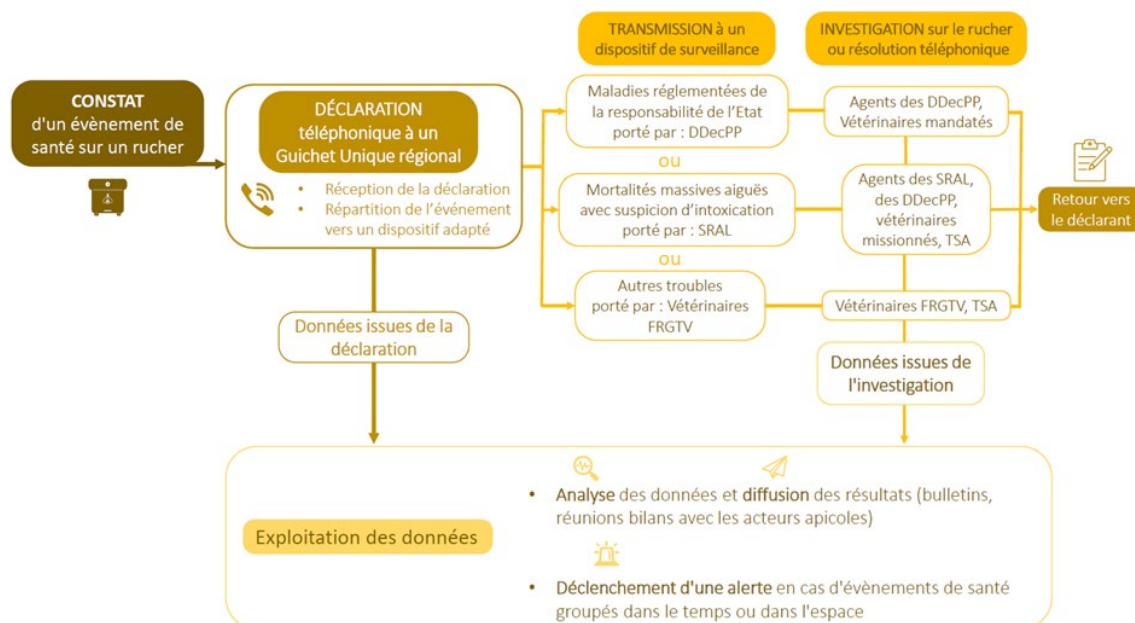


Figure 24 : Organisation du dispositif OMAA (Plateforme ESA 2024)

- concernant le statut des ciriers, « une fois le statut administratif clarifié, rédiger une instruction aux DDPP pour la réalisation des inspections » (**action 6**) : cette action est donc soumise à la réponse préalable communautaire sur le statut des ciriers (cf. action 3). La DGAI précise qu'« au regard de la réglementation sous-produits (règlement (CE) n°1069/2009), le régime qui s'applique est celui d'enregistrement *a minima*. Elle ajoute qu'une analyse juridique approfondie est à prévoir en fonction des process ». Cette action, contrainte par l'attente de la réponse des autorités européennes, n'a donc pas été mise en œuvre au moment de la rédaction du rapport ;
- « désignation d'un laboratoire de référence national pour les cires apicoles ; développement des méthodes d'analyses sur les cires apicoles : composition et résidus » (**action 7**) ;
- « élaboration d'un guide de bonnes pratiques sur le travail de la cire » (**action 8**) : cette action relève d'une appropriation de ses objectifs par les professionnels de la filière. La DGAI indique qu'elle encourage ces travaux et qu'elle les fera valider par l'Anses. En 2021 toutefois, le référent national regrette « l'absence d'initiative de la part des ciriers et de l'Interprofession qu'il faudra remobiliser » ;
- l'**action 9** du Plan d'actions est relative à la recherche : « travaux sur les méthodes de purification de la cire ; travaux sur les aspects toxicologiques des adultérants et des résidus ». Ces compétences n'étant pas du ressort de la DGAI, celle-ci ne peut qu'apporter d'éventuels soutiens en tant que financeur, comme pour le projet CIMEQA (Cires – Méthodes d'Evaluation de leur Qualité pour l'Apiculture) financé sur les crédits recherche de FranceAgriMer et dont le présent rapport reprend les résultats. En outre, parmi les groupes de travail en lien avec la santé des colonies d'abeilles au sein de la Plateforme en Santé Animale, le groupe GSTC (Groupe Surveillance Toxicologie et Cofacteurs) créé en 2020 et animé par la DGAI, travaille entre autres sur la qualité des

réglementées, le dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës d'abeilles adultes avec suspicion d'intoxication ou le dispositif de surveillance des « Autres troubles ».

cires et les interactions complexes entre résidus et agents pathogènes vivants. Onze analyses de cires (2018-2020-2022) sont entrées dans ce dispositif et ont permis d'émettre l'hypothèse d'un effet cocktail de plusieurs substances, même si elles ne conduisent pas à identifier la cire comme unique cause du problème constaté ;

- « suivi des poursuites pénales dans le cadre de l'enquête nationale de la BNEVP » (**action 10**) : cette action relève de la BNEVP et est allée à son terme. Six dossiers ont été instruits et confiés à la justice.

3.5.3.2 Analyse du Plan d'actions cire

Le Plan d'actions cire de la DGAI décrit précédemment a pour objectif d'améliorer la qualité des cires circulant en France. Il faut souligner qu'un certain nombre de ces actions ne sont pas de la responsabilité ou de la compétence de la DGAI et relèvent plutôt de déclarations d'intention. Parmi elles, peuvent être citées celles qui relèvent du niveau international et communautaire (action 2, action 3 et indirectement action 6) pour lesquelles la France ne peut qu'exprimer sa position, ce qu'elle a fait, sans effet jusqu'à présent. Plusieurs actions relèvent également de la responsabilité de partenaires auxquels la DGAI ne peut qu'apporter son soutien. Il s'agit par exemple, de son soutien à l'interprofession pour la définition européenne normalisée des cires à usage apicole (action 1), de son encouragement auprès des professionnels à rédiger un guide de bonnes pratiques (action 8) ou de son appui à la recherche (action 9). Enfin, les poursuites judiciaires engagées à la suite de l'enquête administrative (action 10) relèvent plus d'une démarche directement consécutive au constat d'infractions et de délits que d'une intention *sensu stricto*. En bilan, seules les actions 4, 5 et 7 relèvent de la responsabilité des services de la DGAI, sachant que l'action 7 est une sous-action de l'action 4.

Parmi les points positifs de ce plan, l'intention d'agir à un niveau international et plus particulièrement communautaire est posé comme une nécessité, la problématique de la cire à usage apicole n'étant pas propre au marché français. Les autres actions, même lorsqu'elles ne sont que des perspectives ou des actions relevant des autres partenaires, sont généralement bien fondées et pourraient améliorer la situation si elles parviennent à être menées à leur terme. En revanche, les experts estiment que certaines préconisations réalistes de la BNEVP auraient pu intégrer ce plan, par exemple : (i) une meilleure communication et information des professionnels de la filière, en relation avec leurs obligations, y compris sur les sanctions encourues en cas de délit, (ii) un renforcement de la formation des agents de l'État en charge d'investir et de contrôler cette filière, (iii) la mise en place de contrôles renforcés (suivi de la traçabilité, par exemple) des transformateurs chez qui des lacunes ont été identifiées (contrôles absents jusqu'ici). Selon la BNEVP, aucun nouveau contrôle des professionnels par les services compétents, tels que ceux de la répression des fraudes (dont relevaient une partie des infractions constatées) ou ceux relevant des services déconcentrés du MASA (Ministère chargé de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire), n'a été effectué depuis l'enquête de 2016-2017. Ces quelques exemples auraient pu être rapidement mis en œuvre une fois les résultats de l'enquête connus et auraient pu constituer des objectifs prioritaires faciles à atteindre.

En conclusion, ce Plan d'actions doit être partagé (volets information, formation, prévention, contrôle, fixation de normes) et publié par le MASA. Un tel plan doit prévoir une méthode d'échantillonnage pour la surveillance et les contrôles envisagés ainsi qu'un laboratoire agréé pour les analyses sur la cire. La concertation entre les professionnels et la DGAI devrait être initiée pour recréer une dynamique positive afin que ce plan devienne une réalité concrète.

Une publication du Plan d'actions cire par le MASA permettra l'évolution souhaitée des pratiques encadrant l'usage apicole des cires sur le terrain.

Limites et incertitudes en lien avec le circuit des cires

En l'absence d'élément réglementaire pour définir la conformité d'une cire, il n'est aujourd'hui, pas possible de contrôler officiellement la qualité de la cire, notamment en ce qui concerne les contaminants. Malgré cette lacune réglementaire, les analyses de laboratoire constituent une garantie déterminante pour la vente de cires aux apiculteurs. Il sera nécessaire, pour que des normes et contrôles visant à assainir les cires échangées soient mise en place, que cette volonté d'action soit partagée à l'échelle européenne voire internationale.

Les quantités de cires d'abeille importées ou exportées, notifiées dans les bases de données officielles ne distinguent pas l'usage apicole d'un autre usage. En outre, il est impossible de distinguer si la cire fournie par un État membre est issue de sa production autochtone ou s'il s'agit de cire importée d'un autre pays, et notamment d'un pays tiers.

Il n'existe pas en France de guides de bonnes pratiques des ciriers, qui précisent les systèmes de suivi de la qualité et de traçabilité des produits incluant une description des autocontrôles à mettre en place, ou même des plans de contrôle interne.

Il n'existe pas de suivi de la mise en œuvre des bonnes pratiques en apiculture : renouvellement des cadres, mise en place d'une grille à reine, séparation des types de cire à recycler.

4 Contaminations et adultérations de la cire à usage apicole

4.1 Contamination des cires par des substances chimiques⁴⁸ et des éléments traces métalliques

4.1.1 Historique

Comme indiqué précédemment (cf. 2.2), l'insuffisance de définition de la cire à usage apicole en termes de composition et qualité ne permet ni de caractériser, ni d'assurer la composition physico-chimique de la cire commerciale. Historiquement, l'unique préoccupation pour la réutilisation de la cire était sanitaire et consistait en un chauffage suffisamment long et à une température suffisante pour détruire les spores de la loque américaine (cf. 2.2). Avec l'usage important des agents chimiques en agriculture, pour la protection des cultures, et des traitements varroocides en apiculture, les abeilles ont été de plus en plus exposées à ces différents contaminants chimiques. Les acteurs de la filière se sont alors interrogés quant à l'accumulation possible de molécules aux propriétés lipophiles dans la cire, sans pouvoir objectiver cette hypothèse en raison du manque de techniques analytiques. Ainsi, en 2006, s'appuyant sur des témoignages d'apiculteurs, l'éditorialiste de la revue *la Santé de l'Abeille* évoquait que « des refus d'étirement de cire gaufrée et de ponte sont constatés » en lien avec des cires qui présentaient des résidus (Barbançon 2006). La question de l'accumulation de diverses substances chimiques contaminantes dans la cire est ensuite devenue de plus en plus récurrente.

Les produits phytopharmaceutiques et les biocides, utilisés dans l'environnement des abeilles, ainsi que les traitements appliqués dans la ruche par les apiculteurs, en particulier les produits de traitement contre *V. destructor*, sont à l'origine d'une accumulation de substances dans la cire. Ces substances lipophiles y sont en général chimiquement stables et le manque d'élimination et de dégradation de ces composés (cf. 2.1.2) se traduit par un long délai, jusqu'à plusieurs années, avant une éventuelle disparition progressive, sous réserve qu'il n'y ait aucun nouvel apport (cf. 5.1.1) (Wallner 1999; Calatayud-Vernich et al. 2019).

La persistance et l'accumulation des contaminants chimiques dans la cire sont donc liées :

- aux caractéristiques des substances utilisées et à leur persistance dans cette matrice ;
- à la présence prolongée de la cire dans la colonie (plusieurs années, selon le taux de renouvellement des cadres) ;
- au recyclage de la cire et à sa réutilisation.

Les contaminants chimiques n'étant pas éliminés par les procédés actuels de traitement des cires, des substances aujourd'hui interdites (mais utilisées autrefois) s'y retrouvent encore (par exemple, lindane, dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), cf. chapitre 5.1.1.2 du présent rapport, et rapport de CRD).

L'accumulation de ces divers contaminants dans la cire, de familles chimiques différentes et aux modalités d'actions variées pourrait avoir des conséquences toxiques pour les abeilles et la colonie. Leurs effets, qu'ils soient additifs, synergiques ou antagonistes, souvent mal évalués, sont probablement sous-estimés. Ce sujet est devenu important quand l'acarien

⁴⁸ Substances chimiques : substances actives de produits phytopharmaceutiques, médicaments vétérinaires, biocides

parasite *V. destructor* est arrivé en Europe, dans les années 1970-80, et *a fortiori* à la suite de sa diffusion généralisée (échelle internationale). Des apiculteurs ont alors observé certains impacts, comme de la mortalité larvaire, liés à l'utilisation d'acaricides, tels que le tau-fluvalinate ou le coumaphos (appliqués dans la ruche sous forme de lanières ou déposé directement entre les cadres par aspersion des abeilles dans la ruche) (communication personnelle Y. Le Conte).

4.1.2 Types de substances chimiques

4.1.2.1 Acaricides vétérinaires apicoles

De nombreuses études ont permis de détecter la présence de résidus de médicaments vétérinaires acaricides dans la majorité des produits de la ruche (García et al. 2017; Herrera López et al. 2016; Calatayud-Vernich et al. 2018; Shimshoni et al. 2019; Boi et al. 2016; Lozano et al. 2019). Les teneurs observées de ces résidus sont plus importantes dans la cire ou dans le pain d'abeilles que dans le miel (Lozano et al. 2019). Les doses et présentations des produits acaricides utilisables par les apiculteurs sont variées et peuvent parfois mettre en contact les colonies avec des quantités importantes d'acaricides et pendant de longues périodes (cf. Tableau 12). En Espagne, par exemple, les niveaux signalés des varroocides (1) tau-fluvalinate, (2) coumaphos et (3) deux produits de transformation de l'amitraz : N-2,4-diméthylphényl-N'-méthylformamidine (DMPF) et N-2,4- diméthylphénylformamide (DMF), se situent entre 0,013 et 13,900 mg/kg dans la cire (Korta et al. 2001; Lozano et al. 2019).

Tableau 12 : Extraits des Résumés des Caractéristiques du Produit (RCP) des médicaments vétérinaires acaricides utilisables en France et quantités appliquées dans les ruches*

Forme pharmaceutique	Substance active	Dose par ruche selon RCP
Ruban pour ruche	acide formique (AF)	136,2 g (7 jours d'application). <i>Quantité diffusée non connue.</i>
Dispersion pour ruche	acide formique, acide oxalique (AO) (sous forme de dihydrate)	75 à 225 mg d'AF et 660 à 1980 mg d'AO (1 à 5 applications à 7 jours d'intervalle). Traitement renouvelable plusieurs fois dans l'année.
Dispersion pour ruche	acide formique, acide oxalique (sous forme de dihydrate)	75 à 225 mg d'AF et 660 à 1980 mg d'AO (1 à 5 applications à 7 jours d'intervalle). Traitement renouvelable plusieurs fois dans l'année.
Ruban	acide oxalique	12,88 g d'AO dihydraté, soit 9,2 g d'AO (6 semaines d'application). <i>Quantité diffusée inconnue.</i>
Poudre pour sirop	acide oxalique dihydraté	2 300 mg (1 application). Traitement renouvelable plusieurs fois dans l'année.
Poudre et solution pour solution pour ruche	acide oxalique (sous forme de dihydrate)	2 128 mg maximum. Traitement renouvelable plusieurs fois dans l'année.
Poudre pour solution pour ruche	acide oxalique dihydraté	2 128 mg maximum. Traitement renouvelable plusieurs fois dans l'année.
Poudre pour dispersion pour ruche	acide oxalique dihydraté	Environ 2 000 mg maximum (360 mg max/cadre de couvain). Traitement renouvelable plusieurs fois dans l'année.

Forme pharmaceutique	Substance active	Dose par ruche selon RCP
Lanière	fluméthrine	14,4 mg (4 à 6 semaines d'application). 7,2 mg pour les colonies faibles (moins de la moitié de la ruche, essaim, etc.). 14,4 mg avec une application de 24 h pour le diagnostic de varroose. <i>Quantité diffusée inconnue.</i>
Ruban pour ruche	fluméthrine	550 mg à l'entrée de la ruche (9 semaines à 4 mois d'application). <i>Quantité diffusée inconnue.</i>
Gel pour ruche	thymol	25 g par traitement = 2 applications de 12,5 g à 2 semaines d'intervalle. 2 traitements maximum par an.
Gel pour ruche	thymol	25 g par traitement = 2 applications de 12,5 g à 2 semaines d'intervalle. 2 traitements maximum par an.
Plaquette pour ruche	camphre, eucalyptus (huile essentielle d'), lévomenthol, thymol	32 g (thymol) par traitement = 4 applications de 8 g à 7 jours d'intervalle. <i>6,88 g huile essentielle d'Eucalyptus.</i> <i>1,56 g camphre et lévomenthol.</i> 1 traitement par an. <i>Quantité diffusée proche de 100 %.</i>
Plaquette pour ruche	thymol	30 g (pour une ruchette), 45 g (ruche Dadant) à 60 g (ruche à 2 corps) par traitement correspondant à 2 applications de 15 à 30 g à 3 - 4 semaines d'intervalle. 2 traitements maximum par an. <i>Quantité diffusée inconnue.</i>
Lanière	tau-fluvalinate	1 600 mg (6 à 8 semaines d'application). 800 mg pour nucléi et petites ruches (6 à 8 semaines d'application). <i>Quantité diffusée inconnue.</i>
Ruban pour ruche	amitraze	1 000 mg (6 semaines d'application, hors couvain, à 10 semaines, présence couvain, d'application) - Repositionnement si besoin. NB : Paraffine liquide parmi les excipients. <i>Quantité diffusée inconnue.</i>
Lanière	amitraze	1 000 mg (6 semaines d'application, hors couvain, à 10 semaines, présence couvain, d'application) - Repositionnement et grattage délicat à mi-traitement. NB : paraffine liquide parmi les excipients. <i>Quantité diffusée inconnue.</i>

* : Anses « Index des RCP ». Consulté le 15 octobre 2025. <https://www.ircp.anmv.anses.fr/>.

En plus des acaricides déjà mentionnés, d'autres substances acaricides peuvent être utilisées dans d'autres pays, ou bien en dehors du cadre d'une autorisation de mise sur le marché (AMM), par les apiculteurs.

4.1.2.2 Produits phytopharmaceutiques

À partir de 1995, apparaissent d'importantes mortalités de colonies conjointement à l'utilisation des néonicotinoïdes en agriculture. Les analyses de résidus s'étaient alors focalisées sur les

nectars, les miels et les pollens. Les néonicotinoïdes avaient également été retrouvés dans les cires d'abeilles, tout comme le lindane détecté dans une analyse de cires en Belgique (Ravoet, Reybroeck, et De Graaf 2015). Depuis quelques années, la recherche s'est élargie à la présence d'autres contaminants dans les cires et à leurs effets potentiels sur la santé des abeilles. Un grand nombre de contaminants de différents usages et activités, insecticides, acaricides, fongicides et herbicides pour lesquels l'abeille représente une espèce non-cible, ont pu être détectés dans des échantillons de cire analysés (Bischoff, Baert, et McArt 2023). Au moment de la rédaction du rapport, les analyses multirésidus réalisés par les laboratoires sur des échantillons de cires comptent parfois plusieurs centaines de substances recherchées (pyréthrinoides, organochlorés, organophosphorés, néonicotinoïdes, etc.).

4.1.2.3 Éléments traces métalliques (ETM)

Les termes éléments métalliques, parfois appelés métaux lourds ou ETM (éléments traces métalliques), sont assez mal définis et regroupent une liste quantitative et qualitative d'éléments chimiques assez variables selon les sources et selon les auteurs des publications. La cire peut stocker des résidus d'ETM issus de l'environnement. Ce terme générique d'ETM désigne des métaux et des métalloïdes réputés toxiques. Ils correspondent à un groupe de 58 éléments. La plupart d'entre eux présentent la double propriété d'être à la fois des oligo-éléments, c'est-à-dire indispensables à la vie, mais aussi des éléments toxiques (cf. Figure 25). Les micropolluants minéraux métalliques les plus rencontrés dans l'environnement sont le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le cuivre (Cu), le mercure (Hg), le nickel (Ni), le plomb (Pb), le sélénium (Se), le zinc (Zn), l'arsenic (As), le molybdène (Mo), le cobalt (Co), le bore (B) et le thallium (Tl). Certains micropolluants sont des oligo-éléments rencontrés dans le règne végétal (B, Co, Cu, Mo, Ni et Zn) et animal (As, Cu, Co, Mo, Ni, Se, Zn) (Chassin et al. 1996). Tous les ETM sont présents naturellement à l'état de traces dans le sol. Les activités anthropiques (industrie, agriculture, exploitation minière) peuvent accroître cette présence dans l'environnement. En effet, les éléments métalliques libérés dans l'environnement suite à leur emploi direct (nickel et cadmium dans les accumulateurs Ni-Cd par exemple) ou comme sous-produits (libération de mercure lors de la combustion du charbon par exemple), peuvent se retrouver dans l'air, l'eau, le sol, les végétaux et les animaux (Gouzy et Ducos 2008). Les principaux ETM émis dans l'atmosphère par les activités humaines sont le Zn, le Cu, le Ni, le Pb, le Cr, le Se, l'As, le Hg et le Cd. Ces ETM persistent dans le milieu naturel car ils ne sont pas biodégradables. Par conséquent, ils peuvent être ramenés à la ruche par les abeilles, soit en étant elles-mêmes contaminées par ces ETM, soit par le biais du pollen et du nectar pollué que les butineuses récoltent.

Macro-éléments (éléments en grande quantité) : Li, Na, K, Rb, Cs, Fr, Ca, Sr, Ba, Ra, Sc, Y, La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Ac, Th, Pa, U, Np, Pu, Am, Cm, Bk, Cf, Es, Fm, Md, No, Lr.

Oligo-éléments (éléments en faible quantité) : B, Al, Ga, In, Tl, Sn, Pb, Bi, Po, At, Se, Te, I, Br, Cl, F, O, N, C, H.

Métalloïdes : Si, As, Sb, Te, I, Br, Cl, F, O, N, C, H.

Contaminants environnementaux : V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Hg, Pb, Bi, Po, At, Se, Te, I, Br, Cl, F, O, N, C, H.

Non métaux : B, Al, Ga, In, Tl, Sn, Pb, Bi, Po, At, Se, Te, I, Br, Cl, F, O, N, C, H.

Figure 25 : Le tableau périodique des éléments regroupant les métaux, les métalloïdes et les ETM
(Source : GT Cires)

Si des données sur l'exposition des êtres humains aux ETM ont été collectées et sont disponibles dans la littérature, il existe en revanche peu d'études et publications scientifiques consacrées à l'exposition des colonies d'abeilles et, qui plus est, à leurs effets sur leur santé. À titre d'exemple (Végh et al. 2023b) identifient 60 publications consacrées à la contamination des matrices apicoles par les ETM dans leur revue de la littérature en 2023, parmi lesquelles 18 seulement évoquent les cires. En effet, la cire étant considérée comme un produit apicole non consommé par l'être humain, même si l'EFSA a estimé que dans certaines populations, la consommation journalière pouvait atteindre quatre grammes (European Food Safety Authority (EFSA) 2020), elle n'a pas fait l'objet d'autant d'intérêt que les autres produits de la ruche de la part de la communauté scientifique.

4.2 Adultération de la cire

4.2.1 Historique

Les premières anomalies en lien avec l'adultération des cires décrites par les apiculteurs au début des années 2000 correspondent à des constats de non-acceptation par les abeilles des cires nouvellement introduites dans les ruches. Ces premiers constats n'ont pas fait l'objet de référencements formels mais des enquêtes ont ensuite été conduites par les apiculteurs (Union Nationale de l'Apiculture Française (UNAF)), puis l'intervention de la BNEVP a objectivé les faits. Depuis, les remontées de terrain sont assez disparates et malheureusement peu documentées. Les témoignages font généralement état de feuilles de cire gaufrées neuves, que les abeilles ouvrières devraient s'approprier (normalement rapidement), mais qui sont évitées et non adoptées par celles-ci. Ainsi, les abeilles cilières ne les étirent pas, ou le

font de façon inégale, et les reines n'y pondent pas, ou de façon irrégulière. À moyen terme, les feuilles restent incomplètement étirées et contiennent des couvains anormaux (en mosaïque) en comparaison des autres cadres de couvain bien développé, présents dans les mêmes ruches. Plus tard, d'autres constats d'apiculteurs ont complété le tableau clinique, avec notamment des anomalies affectant le couvain ouvert (non-éclosion d'œufs, mortalités larvaires) (Wallner 2005), tandis que le couvain une fois fermé ne semblait pas affecté. Parallèlement, certaines cires montraient de mauvaises tenues au cadre dans les jours qui suivaient leur introduction en ruche (affaissement et décrochage). Ces cires, une fois affaissées, pouvaient toutefois être étirées et utilisées ou non par les abeilles.

4.2.2 Composition chimique de la cire et adultération

La cire d'abeilles formant les rayons peut être considérée comme un matériau composite en raison de la présence d'autres matériaux apportés par les abeilles (cf. chapitre 2.1.2). L'adjonction de propolis dans la cire a une influence sur sa composition chimique, sur sa couleur, ainsi que sur son odeur. La cire peut également s'enrichir au cours du temps de fibroïne, une protéine cristalline et hygroscopique constitutive de la soie des cocons (Hepburn et Kurstjens 1988). Comportement rare et moins connu, les abeilles collectent de la cire qu'elles peuvent trouver à l'extérieur de la ruche pour la mélanger à celle produite par la colonie (Olszewski et al. 2022) (cf. Figure 2, adultération naturelle). Les changements naturels de composition expliquent pourquoi il existe une variabilité des paramètres physico-chimiques de la cire, par exemple, le point de fusion peut varier entre 61°C et 66°C ou encore, l'indice d'acide⁴⁹ peut présenter des valeurs oscillant entre 18 et 23. Enfin, les abeilles sont aussi capables d'incorporer à la cire des substances étrangères, telles que le goudron, de la cérésine, de la paraffine ainsi que de la cire de carnauba (Perret-Maisonnette 1928).

L'adultération de la cire d'abeilles est caractérisée par la présence d'un ou de plusieurs ingrédients n'entrant pas dans la composition originale du produit légitime. Cette composition originale est donnée par la Pharmacopée Européenne (Bogdanov 2016).

L'adultération peut relever d'une pratique frauduleuse lorsqu'elle consiste à ajouter une substance de moindre valeur, puis vendue ou cédée pour ce qu'elle n'est pas ; il s'agit alors de falsification.

Dans le cadre de ces travaux, l'adultération fait partie d'une typologie de fraude au même titre que le détournement (vente et distribution de produits sans les exigences légales ou les certificats), l'étiquetage erroné (informations erronées ou absence totale de données sur l'emballage ou l'étiquette) ou la substitution (qui consiste à remplacer entièrement un produit par un produit similaire et peu coûteux, également appelée contrefaçon) (Cartín-Rojas 2017). Les cas d'adultération de la cire peuvent passer inaperçus parce que seuls les responsables de la fraude connaissent la nature exacte ou le type d'adultération utilisés. Un même type d'adultération peut présenter différents niveaux de risque selon :

- la nature toxique ou la composition de l'adultérant incorporé ;
- les éventuels contaminants associés à la substance adultérante (HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques) par exemple) ;
- la teneur de l'adultérant dans la cire ;
- la quantité ingérée ou en contact avec l'abeille ou les produits de la ruche ;
- le moment où l'abeille ou les produits de la ruche ont été exposés au produit.

⁴⁹ L'indice d'acide (IA) correspond au nombre de mg d'hydroxyde de potassium nécessaires pour neutraliser les acides gras libres présents dans 1 g de corps gras. IA s'exprime en mg/g.

Plus spécifiquement, l'adultération de la cire d'abeilles a aussi été définie comme la falsification de sa composition, consécutive à l'ajout frauduleux d'un produit de moindre valeur au produit d'origine (Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire 2018). De plus, le réseau européen de la fraude alimentaire (EU Food Fraud Network 2019)⁵⁰ institué auprès de la Commission européenne (Direction Générale Santé) a défini les quatre critères de la fraude liée à l'adultération de la cire d'abeilles que sont la violation de la législation, l'intention de nuire, l'appât du gain économique et la tromperie des clients (cf. Tableau 13).

Tableau 13 : Critères définissant la fraude appliquée à l'adultération de la cire d'abeilles (EU Food Fraud Network 2019)

Critères	Application à l'adultération de la cire d'abeilles
Violation de la législation alimentaire de l'UE	▪ Directive européenne 2006/114/CE sur la publicité trompeuse auprès d'autres commerçants (B2B) ▪ Règlement (CE) 1069/2009 concernant les sous-produits animaux : cire d'abeilles importée pour des bougies et utilisée en apiculture : https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=legisum:sa0025 ▪ Règlement (CE) 231/2012 sur les additifs alimentaires : introduction dans la chaîne alimentaire (additif, compléments alimentaires, nid d'abeille) de cire qui ne respecterait pas les critères pour le faire. http://data.europa.eu/eli/reg/2012/231/oj
Intention	▪ Falsification de la cire d'abeilles avec des cires moins chères
Gain économique	▪ Le prix de détail de la cire d'abeilles est de 13 €/kg contre 6 €/kg pour la paraffine (cire de bougie). ▪ À titre d'exemple : 1 tonne de cire d'abeilles frelatée à 30 % = 2 100 € de gain.
Tromperie des clients	▪ Les clients pensent qu'ils utilisent un produit autorisé et sûr. ▪ Santé des abeilles : effets négatifs sur le développement du couvain - mortalité importante des abeilles. ▪ Santé publique : consommation de cire d'abeilles contenant des ingrédients non alimentaires ou de qualité non alimentaire.

Avant les années 2000, la destruction des spores de la loque américaine était la principale préoccupation sanitaire pour la réutilisation de la cire, le danger étant la non-destruction des spores par les procédés mis en œuvre. L'usage important des agents chimiques en agriculture pour la protection des cultures, et les traitements acaricides apicoles, ont conduit à une exposition croissante des abeilles à ces contaminants. L'accumulation de ces molécules aux propriétés lipophiles dans la cire était alors supposée, sans pouvoir l'objectiver en raison du manque de techniques analytiques. Ces substances lipophiles sont en général chimiquement stables dans la cire et le manque d'élimination et de dégradation spontanée ou active de ces composés, se traduit par un long délai, jusqu'à plusieurs années, avant une éventuelle diminution, sous réserve qu'il n'y ait aucun nouvel apport. La persistance et l'accumulation des contaminants chimiques dans la cire sont ainsi liées : (i) à la lipophilie des substances utilisées et à leur persistance dans cette matrice ; (ii) à la présence prolongée de la cire dans la colonie (plusieurs années, selon le taux de renouvellement des cadres) ; (iii) au recyclage de la cire et à sa réutilisation. La cire peut également stocker des résidus d'ETM (éléments traces métalliques) issus de l'environnement. Ce terme générique d'ETM désigne des métaux et des métalloïdes réputés toxiques. Les principaux ETM émis dans l'atmosphère par les activités humaines sont le Zn (zinc), le Cu (cuivre), le Ni (nickel), le Pb (plomb), le Cr (chrome), le Se (sélénium), l'As (arsenic), le Hg (mercure) et le Cd (cadmium). Ils persistent dans le milieu naturel car ils ne

⁵⁰ https://food.ec.europa.eu/safety/eu-agri-food-fraud-network_en

sont pas biodégradables, ils peuvent être ramenés à la ruche par les abeilles, soit en étant elles-mêmes contaminées par ces ETM, soit par le biais du pollen et du nectar pollués, que les butineuses récoltent. Des données sur l'exposition des êtres humains aux ETM sont disponibles dans la littérature, mais peu le sont sur l'exposition des colonies d'abeilles et *a fortiori* sur l'impact sur leur santé. En ce qui concerne l'adultération des cires, les premières anomalies décrites par les apiculteurs datent des années 2000 et correspondent à des constats de non-utilisation par les abeilles de cire nouvellement introduites dans les ruches : les abeilles cirières ne les étirent pas, ou de façon inégale, et les reines n'y pondent pas, ou de façon irrégulière, quand il ne s'agit pas de mauvaises tenues au cadre suivant leur introduction en ruche. L'adultération de la cire d'abeilles est caractérisée par la présence d'un ou de plusieurs ingrédient(s) n'entrant pas dans la composition originale du produit légitime, définie, pour la cire, par la Pharmacopée Européenne.

En 2016, les apiculteurs émettent des signaux d'alerte quant aux risques liés aux cires contaminées et/ou adultérées pour la santé des abeilles et de la colonie. La DGAI, en conséquence, a commandé à la BNEVP (Brigade nationale d'enquête vétérinaire et phytosanitaire) une enquête administrative quant aux cires circulant en France. Son rapport, reposant sur 43 inspections réalisées chez des professionnels de la filière cire apicole (sociétés de négoce international, collecteurs et stockeurs de cires, transformateurs, distributeurs), a été transmis en 2018. Des pratiques délictueuses (vis-à-vis du Code de la consommation, article 454-1) ont été constatées et caractérisées, telles que des falsifications, des tromperies sur la qualité de la marchandise et des pratiques commerciales trompeuses. Ces anomalies relevées ne sont pas le fait de la seule filière cire apicole française, mais relèvent d'une problématique mondiale. En réponse, la DGAI a proposé en 2018 un Plan d'actions cire qui regroupe l'ensemble des décisions prises pour corriger les défauts constatés chez les professionnels de la filière, dans le but d'améliorer la qualité de la cire dite à usage apicole, commercialisée en France. Dix actions constituent ce plan, s'établissant à différents niveaux, d'ordre géographique (international, européen et national), d'ordre sectoriel (collecte, importation, transformation, contrôle, surveillance, recherche, laboratoires) et d'ordre partenarial (DGAI, DGCCRF, Anses, filière apicole, ciriers, apiculteurs, etc.). Ce Plan d'actions n'est cependant toujours pas publié par le MASA au moment de la rédaction de ce rapport.

Afin de répondre aux questions de l'auto-saisine, un bilan bibliographique fondé sur une revue de la littérature ainsi que des enquêtes réalisées en France hexagonale ont permis de dresser un état des lieux des cires circulant en France et d'appréhender le risque pour la santé des abeilles et de la colonie, lié aux problématiques de contamination et d'adultération de la cire sur le territoire français.

5 Évaluation des risques pour l'abeille et la colonie liés à la contamination des cires par des substances chimiques et des éléments traces métalliques

Selon la méthode d'évaluation du risque Afssa (2008), elle-même fondée sur la méthode d'appréciation du risque de l'OIE (2007), le risque s'évalue en estimant :

- une probabilité d'émission du danger, ici la présence de substance(s) contaminante(s) dans les cires ;
- une probabilité d'exposition de l'individu et/ou de la population au danger ;
- les conséquences liées au danger sur l'individu et la population.

Ces probabilités d'émission, d'exposition, ainsi que les conséquences ont fait l'objet d'une caractérisation détaillée dans les chapitres qui suivent, et le schéma conceptuel synthétisant le processus d'évaluation est représenté en Figure 26.

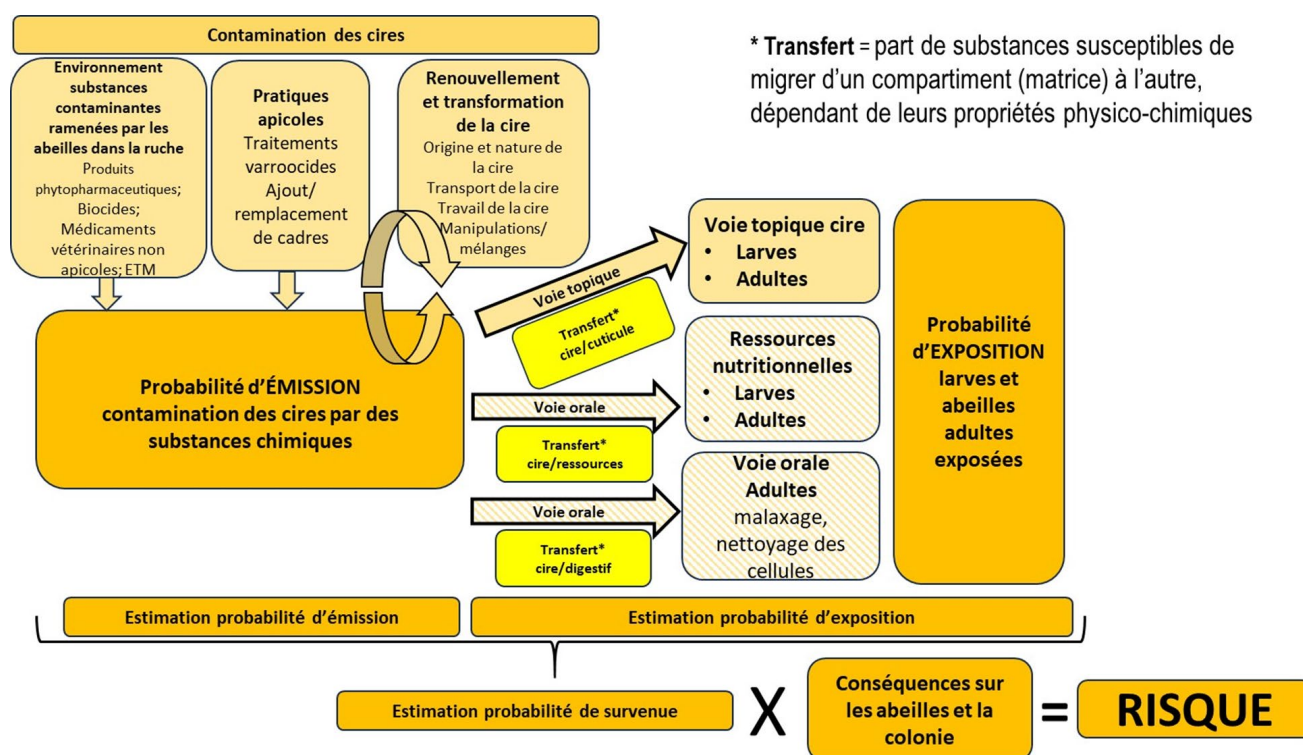


Figure 26 : Schéma conceptuel de l'évaluation des risques pour la santé de l'abeille et de la colonie liés à la contamination de la cire par des substances chimiques et des éléments traces métalliques (ETM)
(Source : GT Cires)

5.1 Émission : état des lieux de la contamination des cires

Dans ce document, l'émission du danger correspond à la présence de substances chimiques contaminantes dans la cire. La contamination des cires présentes dans la colonie résulte des activités humaines, conduisant à une pollution environnementale et des pratiques apicoles (cf. Figure 26). Les pratiques de recyclage de la cire et la stabilité des substances chimiques

contaminantes au sein de la cire aboutissent à une augmentation et une généralisation progressive de la contamination des cires.

Pour dresser un état des lieux de cette contamination, une revue de la littérature a été conduite (cf. Annexe 4) et complétée par des études de terrain menées en France hexagonale, visant à objectiver les types et les quantités de substances chimiques et d'éléments traces métalliques (ETM) retrouvés dans les cires (cf. Figure 26, en haut à gauche).

5.1.1 État des lieux bibliographique de la contamination chimique des cires

Les différentes étapes de sélection des publications conservées pour la revue de littérature sont résumées dans l'Annexe 4. Trois requêtes bibliographiques (juillet 2022 ; novembre 2022 et mars 2023) ont été effectuées dans deux moteurs de recherche scientifique Pubmed et Scopus. Au total, 69 publications scientifiques (études publiées entre 1999 et 2023) ont été retenues afin de dresser un état des lieux des contaminations sur les 331 recensées au total, fournissant des données sur la contamination des cires à l'échelle mondiale. Les informations concernant les substances détectées, ainsi que les données portant sur les échantillons de cires analysés et les protocoles expérimentaux, ont été extraites de ces publications et sont présentées ci-après.

5.1.1.1 Historique et répartition géographique des études relatives à la contamination chimique des cires

La présence de résidus de médicaments apicoles (traitements contre *V. destructor*), de produits phytopharmaceutiques, de substances biocides ou d'ETM dans les cires a été étudiée dans divers pays du monde. Bien que des publications aient été recensées sur tous les continents, la répartition géographique des études n'est pas homogène (cf. Tableau 14).

Les références scientifiques se répartissent de la manière suivante : 1/ en Europe (42 références) ; 2/ sur le continent américain : Amérique du Nord (12 références), Amérique Centrale (2 références) et Amérique du Sud (4 références) ; 3/ sur le continent africain (2 références) ; 4/ sur le continent asiatique (1 référence) et au Moyen Orient (2 références) ; 5/ en Australie (1 référence). Certains pays gros fournisseurs de cires apicoles dans le monde, comme la Chine, l'Inde et certains pays d'Afrique, sont sous-représentés dans cet état des lieux du fait du manque de travaux identifiés en langue anglaise (cf. Tableau 14).

Ainsi, c'est sur le continent européen que le sujet a été le plus largement étudié, avec 42 références sur les 69 retenues. Toutefois, même en Europe, la répartition des données reste hétérogène : l'Espagne est le pays le plus représenté avec 15 publications, suivi de l'Italie et de la Belgique, avec six publications chacun.

Tableau 14 : Répartition des publications en fonction des zones géographiques et de la période

Origine géographique des cires	Nombre d'études en fonction de la période de publication				Total général
	<2000	[2000-2009]	[2010-2019]	>= 2020	
Afrique		1	1		2
Ghana		1	1		2
Amérique centrale			2		2
Mexique			2		2
Amérique du Nord			10	2	12
USA			10	2	12
Amérique du Sud			3	1	4
Argentine			1		1
Brésil				1	1
Uruguay			2		2
Asie				1	1
Chine				1	1
Europe	1	8	24	9	42
Belgique			4	2	6
Bulgarie				1	1
France		3	2		5
Allemagne	1		1		2
Italie		3	3		6
Pologne			1	2	3
Espagne		1	12	2	15
Suisse		1	1	2	4
Moyen-Orient			1	1	2
Égypte				1	1
Israël			1		1
Océanie			1		1
Australie			1		1
non précisé		1		2	3
Total général	1	10	42	16	69

Une évolution du nombre d'études et de leurs objectifs est à noter au cours du temps :

- les premières études relatives à la contamination des cires, publiées avant les années 2000, avaient pour principaux objectifs, de démontrer la faisabilité technique du dosage des résidus dans les matrices apicoles (dont la cire) et/ou de mettre en évidence l'accumulation de ces résidus après application dans les colonies de traitements à visée acaricide le plus souvent (par exemple : Lodesani et al. 1992; Bernal et al. 1997; Bogdanov, Kilchenmann, et Imdorf 1998).

Bien que ces publications aient confirmé la présence de contaminations chimiques, les données issues de ces études n'ont pas été prises en compte par le groupe d'experts, car les cires analysées étaient *a priori* fortement contaminées du fait de l'application récente de traitements et n'étaient pas représentatives de pratiques réelles. C'est la raison pour laquelle, parmi les références bibliographiques identifiées, seules les données d'une étude publiée en Allemagne en 1999 (Wallner 1999) ont été intégrées dans le Tableau 15 ;

- à partir des années 2000, diverses équipes scientifiques se sont attachées à caractériser la présence simultanée de substances plus variées (médicaments vétérinaires apicoles, biocides, produits phytopharmaceutiques) dans la cire d'abeilles, en développant des techniques d'analyses multirésidus. Les premières publications étaient surtout centrées sur la démonstration de la faisabilité technique (Jiménez et al. 2005; Yáñez et al. 2013a; Li et al. 2015), cette démarche était encore poursuivie dans des études plus récentes (De Souza et al. 2022; Murcia-Morales et al. 2021; Issa et al. 2020) ;
- par la suite, ces méthodes ont été utilisées à d'autres fins : certaines études ont porté sur l'intérêt des matrices apicoles (dont la cire) pour le suivi des contaminations environnementales (*biomonitoring*) ou pour évaluer le niveau global de contamination des cires. Finalement, sur les 48 études identifiées utilisant des méthodes d'analyse de type multirésidus, seules une dizaine se sont spécifiquement consacrées à la contamination des cires (Mullin et al. 2010; Chauzat et al. 2011; Boi et al. 2016; Porrini et al. 2016; Harriet et al. 2017; Manning 2018; Calatayud-Vernich et al. 2017; 2019; Daniele et al. 2018; Perugini et al. 2018; Fulton, Huff Hartz, Fell, et al. 2019; Ostiguy et al. 2019; Bommuraj et al. 2019; El Agrebi et al. 2020; Alkassab et al. 2020).

Concernant les études réalisées sur le territoire national, le groupe d'experts a identifié cinq publications, fournissant ainsi des données sur la situation française. Une recherche complémentaire a été effectuée pour détecter d'autres études qui n'auraient pas été identifiées, ce qui a permis d'identifier *a posteriori* une publication supplémentaire, parue en 2015 (Jabot et al. 2015). Bien que les données de cette étude ne figurent pas dans le tableau de synthèse, elles sont mentionnées dans le paragraphe qui suit. Ainsi, six publications portant sur les cires françaises ont été analysées :

- pour trois de ces études, l'objectif principal était de décrire une méthode de dosage de diverses substances. Pour valider les techniques développées, des cires issues du commerce (Martel et al. 2007) ou prélevées dans des ruches (Jabot et al. 2015; Daniele et al. 2018) ont été analysées, fournissant ainsi des informations sur le niveau de contamination des cires par les substances recherchées. Une étude portait sur des substances à activité acaricide potentiellement utilisées par les apiculteurs (Martel et al. 2007), tandis que les deux autres s'intéressaient à des substances utilisées en agriculture, notamment des insecticides (néonicotinoïdes, pyréthri-noïdes) et des fongicides (Jabot et al. 2015; Daniele et al. 2018). Dans l'étude de Martel et al. (2007), 89,4 % et 70,2 % des échantillons de cire du commerce étaient contaminés respectivement par le coumaphos et le tau-fluvalinate, deux substances utilisées pour lutter contre l'acarien *V. destructor*. Dans l'étude de Jabot (2015), les cires prélevées dans des ruchers se sont avérées contaminées par le thiaclopride (un insecticide de la famille des néonicotinoïdes) pour 38 % d'entre elles et 27 % par le boscalid (un fongicide de la famille des carboxamides). Enfin, dans l'étude de Daniele et al. (2018), le boscalid et le thiaclopride ont été retrouvés respectivement dans 39 % et 26 % des échantillons de cires analysés, issus essentiellement de colonies moribondes ;
- les études menées par Chauzat et al. publiées en 2007, 2009 et 2011 avaient pour but d'objectiver la contamination des cires par diverses substances, en lien avec les pratiques apicoles et agricoles (Chauzat et Faucon 2007), et de tenter d'établir un lien entre la présence de ces substances et des troubles de santé observés dans les colonies (Chauzat et al. 2009). La troisième étude élargit le spectre des substances recherchées, en utilisant une analyse multirésidus ciblant 18 substances actives issues de produits phytopharmaceutiques. Les données issues de ces trois publications sont

en partie redondantes. Dans l'étude de 2011, les substances les plus fréquemment retrouvées étaient le tau-fluvalinate (52,2 % des échantillons) et le coumaphos (46,7 %), suivies de la cyperméthrine (16,1 %) et de l'endosulfan (12,9 %). Ces contaminations pouvaient résulter des pratiques apicoles (pour les deux premières) et de sources environnementales (pour les deux dernières).

5.1.1.2 Données générales de la bibliographie concernant les substances chimiques retrouvées dans les cires

L'exploitation des données issues des études identifiées est complexe en raison de la diversité des types de cires analysées (cire d'opercules, cire de corps, cire gaufrée, etc.), de leur provenance (France, UE, hors UE) ainsi que des méthodes d'analyses utilisées.

Les données concernant 125 substances correspondant à des substances actives et/ou leurs métabolites, ont été extraites des 69 publications retenues. Le Tableau 15 ci-dessous indique, pour chacune de ces substances, la fréquence d'occurrence dans les échantillons de cires, ainsi que l'intervalle des teneurs moyennes rapportées dans les publications.

Tableau 15 : Fréquence de détection et intervalle des teneurs moyennes pour l'ensemble des contaminants chimiques (par ordre alphabétique) issus de la revue de la bibliographie

Pour les études employant une recherche multirésidus, seules les informations concernant les contaminants retrouvés dans plus de 20 % des échantillons ont été extraites. Le recensement a été réalisé pour les différentes études et les différents volets d'études. Les valeurs de teneurs moyennes ou l'intervalle de teneurs moyennes **pour une substance donnée** a/ont été relevée/s pour chaque publication puis l'intervalle de valeurs minimum et maximum des moyennes relevées a été repris pour ce tableau. En outre, une publication pouvait contenir plusieurs valeurs de teneurs moyennes pour une substance donnée.

Substance	Fréquence de détection en % (nombre de cires positives / nombre total de cires testées)	Intervalle des teneurs moyennes [min. – max.] (mg/kg)*
2,4'DDT	57,1 (8/14)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
2-phénylphénol	68,1 (64/94)	0,002
4,4'-dibromobenzophénone métabolite de benzophénone	30 (3/10)	0,0067
acétamipride	2,2 (4/179)	0,011
acrinathrine	35,2 (148/420)	[0,014 - 1,378]
aldicarb sulfoxide	20,4 (22/108)	0,307
amitraz	19,2 (179/933)	[0,010 - 5,556]
amitraz_DMA métabolite de l'amitraz	41,4 (118/285)	[0,7421 - 0,751]
amitraz_DMF métabolite de l'amitraz	61 (197/323)	[0,0029 - 2,891]
amitraz_DMPF métabolite de l'amitraz	24,3 (335/1376)	[0,1152 - 13,9]
atrazine	43,7 (159/364)	[0,0009 – 0,041]
azoxystrobine	63,3 (335/529)	[0,0007 - 0,020]
bénalaxyl	20 (1/5)	0,089
benzyl benzoate	24 (12/50)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
bifenthrine	41,7 (5/12)	0,003
biphényl	30 (15/50)	0,004
boscalid	63,5 (162/255)	[0,0054 - 0,150]
bromopropylate	51,7 (677/1309)	[0,0024 - 0,330]

Substance	Fréquence de détection en % (nombre de cires positives / nombre total de cires testées)	Intervalle des teneurs moyennes [min. – max.] (mg/kg)*
butyl undecyl phthalate	28 (14/50)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
captan	100 (16/16)	[0,040 - 0,270]
carbaryl	41,7 (5/12)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
carbendazime	35,8 (76/212)	[0,005 - 0,0615]
carbofuran	53,5 (23/43)	0,002
cekafix	20 (5/25)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
chlorfenvinphos	43,6 (1 079/2473)	[0,008 - 2,550]
chlorferon métabolite du coumaphos	81,3 (13/16)	0,151
chlorobenzilate	100 (18/18)	0,030
chlorothalonil	53,7 (210/391)	[0,012 - 1,635]
chlorprophame	24,6 (17/69)	0,008
chlorpyriphos	59,4 (639/1076)	[0,0026 - 0,129]
chlorpyriphos-méthyl	20 (1/5)	0,032
chlorthal-diméthyl (DCPA)	100 (6/6)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
clothianidine_produit phytopharmaceutique et également, métabolite du thiaméthoxam	0,6 (2/328)	0,0015
coralox métabolite du coumaphos	75 (3/4)	0,017
coumaphos	55,4 (2 730/4927)	[0,0007 - 1,1431]
coumaphos-oxon métabolite du coumaphos	74,3 (361/486)	[0,0031 - 0,1027]
cyflufénamide	100 (5/5)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
cymiazole	0,3 (2/746)	0,024
cyperméthrine	22,5 (152/675)	[0,0033 - 2,340]
3-phenoxy-benzaldéhyde métabolite de bêta cyperméthrine	63,5 (33/52)	[0,150 - 0, 440]
cyprodinil	77,6 (114/147)	[0,0019 - 0,0494]
DDD	94 (47/50)	0,010
DDE	88,9 (32/36)	0,010
DDT	85,1 (74/87)	0,030
DEET	59 (171/290)	[0,005 - 0,120]
delta-HCH	70 (7/10)	0,0116
deltaméthrine	50 (17/34)	0,760
diazinon	33,3 (5/15)	0,0003
dibromobenzophénone métabolite de benzophénone	33,3 (2/6)	0,006
dichlofenthion	47,6 (10/21)	[0,039 - 0,109]
dichlorobenzophénone 4,4' métabolite du dicofol	20 (1/5)	0,011
dichlorvos	20 (1/5)	0,010
dicofol	15,7 (49/313)	[0,0023 - 0,008]

Substance	Fréquence de détection en % (nombre de cires positives / nombre total de cires testées)	Intervalle des teneurs moyennes [min. – max.] (mg/kg)*
diéthyl phtalate	20 (10/50)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
difénoconazole	49,6 (61/123)	0,0065
diflubenzuron	38,7 (48/124)	[0,0038 - 0,0107]
diméthoate	33,1 (47/142)	0,0239
diméthomorphe	20 (1/5)	0,0039
dimoxystrobine	100 (35/35)	0,010
dinotéfuran	0,6 (1/179)	0,0019
Diuron	30,6 (78/255)	[0,0041 - 0,0107]
endosulfan	23,4 (11/47)	0,0888
endosulfan I	43,4 (168/387)	[0,0033 - 0,0087]
endosulfan II	27,9 (108/387)	[0,0021 - 0,0062]
endosulfan sulfate	44,4 (4/9)	0,290
ethion	28,6 (4/14)	0,011
fenbuconazole	80,5 (95/118)	[0,0025 - 0,011]
fenbutatin oxyde	47,6 (20/42)	[0,020 - 0,043]
fenpropathrine	33,3 (36/108)	0,023
fenpyroximate	67 (195/291)	[0,0032 - 0,0984]
fenvalérate	21,9 (14/64)	1,900
flonicamid	33,3 (4/12)	0,0078
fluméthrine	18 (263/1462)	[0,0001 - 0,160]
fluopyram	83,8 (109/130)	[0,0010 - 0,0259]
AMPA (acide aminométhylphosphonique) métabolite du glyphosate	30 (90/300)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
HCH (γ- HCH, α- HCH, β- HCH et δ- HCH)	94,9 (56/59)	0,020
hexythiazox	90,2 (55/61)	[0,0025 - 0,010]
imidaclopride	4,8 (12/249)	[0,001 - 0,039]
indoxacarbe	33,3 (2/6)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
iprodione	35,1 (26/74)	[0,005 - 2,930]
lambda-cyhalothrine	64,2 (34/53)	[0,010 - 0,690]
malathion	18 (136/754)	[0,0121 - 0,040]
métalaxyl	22,2 (2/9)	[0,0015 - 0,002]
metconazole	27,4 (31/113)	0,0218
méthoprotryne	70,8 (80/113)	0,0013
méthoxyfénoside	64,8 (147/227)	[0,0133 - 0,089]
métolachlore	100 (10/10)	0,004
naphtalène	32 (8/25)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
nicotine	68 (17/25)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
octhiline	20 (1/5)	0,0031
oxyfluorfen	18,8 (6/32)	0,025
p,p'-DDT	30 (3/10)	0,0193

Substance	Fréquence de détection en % (nombre de cires positives / nombre total de cires testées)	Intervalle des teneurs moyennes [min. – max.] (mg/kg)*
paraoxon-méthyl	20 (1/5)	0,006
p-dichlorobenzène	33,3 (1/3)	0,0069
pendiméthaline	30,2 (89/295)	[0,007 - 0,0155]
pentachloroanisole	24,6 (16/65)	[0,006 - 0,010]
penthioapyrade	23 (31/135)	[0,0023 – 0,460]
perméthrine	82,5 (212/257)	[0,001 - 1,5977]
phénothrine	100 (6/6)	0,9788
phosmet	21,8 (32/147)	[0,0158 - 0,2345]
phtalimide	40 (2/5)	0,012
pipéronyl-butoxyde	52,2 (433/829)	[0,010 - 0,203]
prodiamine	40 (2/5)	0,0152
prometon	20 (1/5)	0,0005
prometryne	20 (1/5)	0,0005
propamocarbe	27,4 (31/113)	0,0015
propargite	65,3 (192/294)	[0,001 - 0,175]
propiconazole	43,6 (119/273)	[0,0018 - 0,0199]
propoxur	83,8 (114/136)	0,010
pyraclostrobine	58,4 (156/267)	[0,0048 - 0,0264]
pyridaben	40 (10/25)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
pyriméthanil	50,8 (63/124)	0,0468
pyriproxifène	9,5 (13/137)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
roténone	3,8 (2/52)	0,0255
tau-fluvalinate	60,2 (2 879/4784)	[0,0001 - 11,625]
tébuconazole	38,7 (123/318)	[0,005 - 0,0153]
tébufenpyrade	52 (13/25)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
tétraconazole	60 (3/5)	0,0069
tétradifon	1 (2/208)	0,0079
tétraméthrine	65,6 (59/90)	0,010
thiabendazole	60,7 (17/28)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
thiaclopride	22,2 (35/158)	0,050
thiaméthoxam	7,3 (13/179)	[0,0011 - 0,025]
thiobencarbe	40 (4/10)	[pas de mention de teneur moyenne dans la publication]
thymol	97,3 (36/37)	[0,0513 - 0,2052]
trifloxystrobine	26,6 (33/124)	[0,0014 - 0,0018]
trifluraline	83,3 (5/6)	0,046
trisiloxane	100 (10/10)	0,116

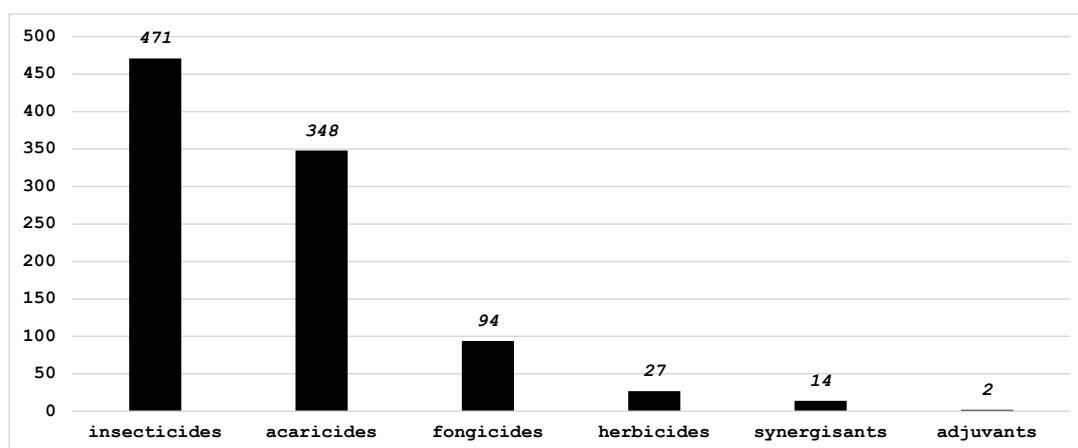
*Lorsqu'une seule publication mentionne une substance, la valeur de la teneur moyenne de l'étude correspondante est indiquée dans la colonne « Intervalle des teneurs moyennes ».

Les études mentionnées dans le Tableau 15 mettent en évidence que les cires sont contaminées par un grand nombre de substances. Parmi les 125 substances listées, 62 ont été détectées dans au moins 50 % des échantillons analysés. Les teneurs moyennes mesurées varient considérablement, allant de moins de 0,001 mg/kg de cire à plus de 10 mg/kg de cire pour des substances telles que le coumaphos et le tau-fluvalinate.

La qualité des données est toutefois discutable en raison du fait que, pour un grand nombre de substances, les données ne proviennent que d'un nombre limité d'études et d'échantillons analysés. À titre d'exemple, pour 23 de ces substances, les données extraites reposent sur l'analyse de moins de 10 échantillons (cf. Tableau 15).

D'une manière générale, le nombre total de substances détectées dépend du nombre de substances recherchées : plus le panel de substances recherchées est large, plus le nombre de substances détectées dans l'étude est élevé. Pour autant, même si d'une manière générale une corrélation positive est observée entre le nombre de substances recherchées et détectées, certaines études ne vont pas dans ce sens.

Les substances ont été regroupées en six grandes catégories (cf. Figure 27) : insecticides, acaricides, fongicides, herbicides, synergisants⁵¹ et adjuvants. Certaines substances, comme le coumaphos, peuvent appartenir à plusieurs catégories en raison du fait qu'elles peuvent présenter simultanément plusieurs de ces activités, par exemple, à la fois insecticide et acaricide. Les substances présentant une activité insecticide et/ou acaricide, ainsi que les fongicides, sont les plus représentées (cf. Figure 27).



Les 335 substances à la fois insecticides et acaricides, sont comptabilisées dans les deux catégories insecticides et acaricides

Figure 27 : Nombre d'occurrences reportées dans le tableau des données extraites de la bibliographie parmi les 69 publications

Cette répartition des activités des contaminants suggère que leur présence peut être liée aux pratiques apicoles, mais aussi résulter de contaminations environnementales, et notamment des pratiques agricoles locales.

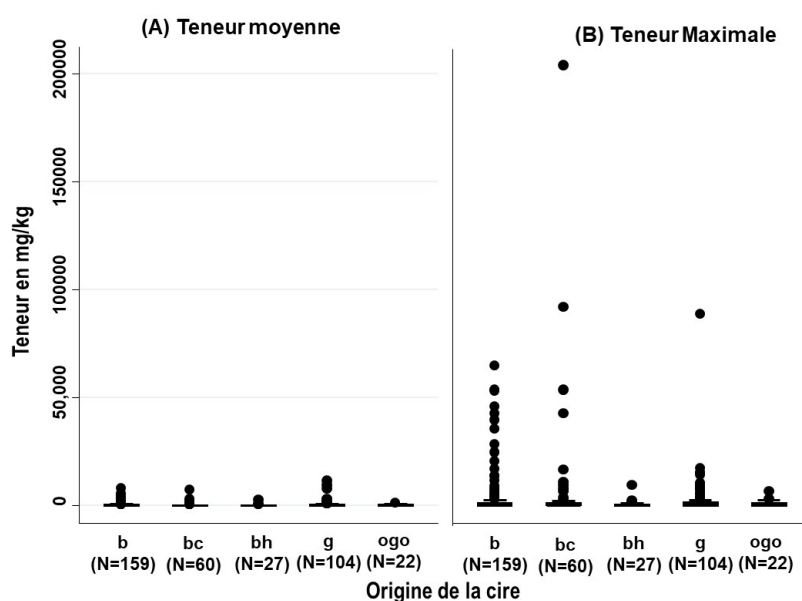
5.1.1.3 Facteurs impactant la qualité des cires : méthodes d'analyse, provenance et nature

Dans les publications identifiées, les données sont généralement fournies par substance et non par échantillon de cire analysé. Ainsi, les données relatives aux poly contaminations (nombre de substances retrouvées au sein d'un même échantillon de cire) ne sont donc que rarement fournies ou accessibles. C'est pourquoi il n'a pas été possible d'estimer un nombre

⁵¹ Synergisant : substance qui, lorsqu'elle est ajoutée à une autre substance, augmente son efficacité ou son effet.

médian de substances par échantillon analysé, bien qu'il eût été intéressant de disposer de cet indicateur. Malgré tout, l'enregistrement des données pour les différentes publications a permis d'identifier certains facteurs associés à la qualité de la cire.

La qualité de la cire est impactée par son origine dans la ruche (brèche, cire de corps, cire de hausse, opercules), son origine géographique, etc. Malgré l'imprécision des données publiées (le type de cire utilisé pour les analyses n'est souvent pas indiqué), il a été extrait, pour chaque étude, l'indication de provenance des échantillons de cires prélevés : (i) dans des ruches (brèche, avec dans certains cas, la possibilité de savoir si les cires provenaient des cires de corps ou de hausses) ou (ii) s'il s'agissait de cires issues du commerce (cf. chapitre 3.4 Marché de la cire, échanges et importations). Dans certains cas, des précisions indiquaient que les échantillons de cires avaient été obtenus à partir de cires d'opercules, ou qu'il s'agissait de feuilles de cires gaufrées provenant du commerce (et n'ayant pas été insérées dans des ruches). Les teneurs maximales observées selon l'origine des cires, ainsi que les teneurs moyennes dans ces différents groupes ont été comparées (cf. Figure 28).



N : nombre d'échantillons analysés

Les cires pouvaient provenir de ruches (cires de brèche (**b**) avec parfois, une précision sur le fait qu'il s'agissait de cires de hausses (**bh**) ou de cires de corps (**bc**). Les cires pouvaient aussi provenir du commerce, sans avoir été insérées récemment dans des ruches (cires gaufrées, **g**). Le code **ogo** signifie cires d'opercules gaufrées.

Figure 28 : Comparaison des teneurs moyennes (A) et maximales (B) de substances détectées en fonction de l'origine de la cire parmi les 69 études (pour celles qui en faisaient mention)

L'observation des parties (A) et (B) de la Figure 28 suggère que les teneurs moyennes et maximales en substances chimiques contaminantes des cires d'opercules gaufrées sont plus faibles que pour les autres types de cires. Toutefois, ces différences ne sont pas statistiquement significatives (test de Kruskal-Wallis ; $p = 0,28$ pour les valeurs moyennes et $p = 0,65$ pour les valeurs maximales). Cette absence de preuve statistique malgré l'impression visuelle donnée par le graphique peut être attribuable au manque de standardisation entre études et au fait que le nombre d'études indiquant de façon explicite la nature des échantillons sur lesquels les analyses ont été effectuées est moindre. Les données ne sont pas fiables, consolidées, standardisées et comparables. Néanmoins, une étude fournit des éléments mettant en lien l'origine des cires et leur qualité (cf. Tableau 16 ci-dessous, extrait d'El Agrebi et al. 2020). Une autre étude semble appuyer cette observation que les cires d'opercules

contiendraient globalement moins de contaminants que les autres types de cire (Maggi et al. 2016).

Tableau 16 : Données extraites de l'étude El Agrebi et al. (2020) comparant différentes natures de cires

Nature de la cire	Nombre d'échantillons analysés	Nombre de résidus détectés (sur l'ensemble des échantillons)	Médiane du nombre de substances détectées par échantillon (intervalle)
Cire de corps	89	41	5 (1-12)
Cire recyclée (mélange cire de corps et cire de hausse)	59	42	7 (1-12)
Cire de hausses	6	13	6 (3-10)
Cire d'opercules	28	18	3 (0-8)

5.1.1.4 Données de la littérature concernant les contaminations de la cire par des substances chimiques essentiellement à usage apicole

La colonisation de la quasi-totalité du cheptel apicole mondial par *V. destructor* a conduit les apiculteurs à recourir systématiquement aux varroocides pour éviter la mort de leurs colonies. La contamination des cires par diverses substances acaricides appliquées directement à l'intérieur des ruches a été démontrée dans de nombreuses études internationales.

Les substances acaricides apicoles

En France, six substances actives sont aujourd'hui autorisées en tant que médicaments vétérinaires (MV) à usage apicole (cf. Tableau 17) : deux acides organiques, l'acide oxalique et l'acide formique ; deux pyréthrinoides, le tau-fluvalinate et la fluméthrine ; une formamidine, l'amitraze ; et un composé aromatique phénolique produit par synthèse chimique, le thymol. Néanmoins, d'autres substances acaricides ont été autorisées par le passé pour un usage apicole, et certaines ont été, ou sont encore, autorisées ailleurs dans le monde. Les statuts de ces substances et des exemples d'usage de certaines substances identifiées par la recherche bibliographique sont présentés dans le Tableau 17 ci-dessous.

Tableau 17 : Substances acaricides autorisées en France et exemples de substances non autorisées en France

Statut	Substances actives
Médicament vétérinaire (MV) apicole varroocide avec AMM en France	- acide formique - acide oxalique - amitraze - fluméthrine - tau-fluvalinate - thymol
Substance acaricide sans statut de médicament apicole en UE (Union européenne) Il peut s'agir de : - MV apicole auparavant autorisé en France ou en UE, mais désormais interdit en UE ; - MV apicole autorisé hors UE (ayant toujours été interdit en UE ou jamais autorisé pour cet usage en UE) ; - produit phytopharmaceutique (PPP), biocide, etc. autorisé ou retiré en Europe, produits non utilisés en apiculture.	Exemples : Acrinathrine : ancien MV apicole autorisé en UE, hors France, ancien PPP et biocide autorisé en UE, possiblement encore utilisé hors UE. Bromopropylate : ancien MV apicole autorisé en UE (y compris France), ancien PPP et biocide autorisé en UE, possiblement encore utilisé hors UE. Coumaphos : ancien MV apicole autorisé en France et en UE, encore utilisé hors UE. Chlorfenvinphos : ancien PPP et biocide autorisé en UE, encore utilisé hors UE. Cymiazole : ancien MV apicole autorisé en UE, hors France, ancien PPP et biocide autorisé en UE, possiblement encore utilisé hors UE. Propargite : ancien PPP et biocide autorisé en UE, encore utilisé hors UE.

Les informations extraites des publications identifiées par les membres du GT relatives aux principales substances à usage acaricide apicole, autorisées en France ou non, sont compilées dans le Tableau 18 ci-dessous.

Tableau 18 : Fréquence de détection, intervalle des teneurs moyennes et nombre de références identifiées pour différentes substances acaricides à usage apicole (en France et dans le monde)

Substance	Fréquence de détection (n cires positives/N cires testées)	Médiane de teneur et intervalle [teneur moyenne min. - teneur moyenne max] (mg/kg)	Nombre de références
Autorisées en France actuellement			
acide formique	Pas de donnée	Pas de donnée	0
acide oxalique	Pas de donnée	Pas de donnée	0
Amitraze	19,2 % (179/933)	0,285 [0,010 - 5,556]	11
amitraze_DMA	41,4 % (118/285)	0,7465 [0,7421 - 0,751]	2
amitraze_DMF	61 % (197/323)	0,1458 [0,0029 - 2,891]	8
amitraze_DMPF	24,3 % (335/1 376)	1,3596 [0,1152 - 13,9]	9
fluméthrine	18 % (263/1 462)	0,069 [0,0001 - 0,160]	11
tau-fluvalinate	60,2 % (2 879/4 784)	0,333 [0,015 - 11,625]	39
thymol	97,3 % (36/37)	0,1283 [0,0513 - 0,2052]	3

Substance	Fréquence de détection (n cires positives/N cires testées)	Médiane de teneur et intervalle [teneur moyenne min. - teneur moyenne max] (mg/kg)	Nombre de références
Autorisées par le passé ou utilisées ailleurs dans le monde			
coumaphos	55,4 % (2 730/4 927)	0,480 [0,0007 - 11,431]	45
coumaphos oxon	74,3 % (361/486)	0,036 [0,0031 - 0,1027]	4
chlorferon_métabolite du coumaphos	81,3 % (13/16)	0,151 [0,151 - 0,151]	1
coralox_métabolite du coumaphos	75 % (3/4)	0,017 [0,017 - 0,017]	1
bromopropylate	51,7 % (677/1 309)	0,0336 [0,0024 - 0,330]	12
chlorfenvinphos	43,6 % (1 079/2 473)	0,224 [0,008 - 2,550]	19
chlorobenzilate	100 % (18/18)	0,030	1
acrinathrine	35,2 % (148/420)	0,2508 [0,014 - 1,378]	10
cyperméthrine	22,5 % (152/675)	0,0356 [0,0033 - 2,340]	11
malathion	18 % (136/754)	0,0261 [0,012,1 - 0,0 40]	9
naphtalène	32 % (8/25)	Pas de donnée	1
dicofol	15,7 % (49/313)	0,0068 [0,0023 - 0,008]	3
roténone	3,8 % (2/52)	0,0255 [0,0255 - 0,0255]	2
tétradifon	1 % (2/208)	0,0079 [0,0079 - 0,0079]	1
cymiazole	0,3 % (2/746)	0,024 [0,024 - 0,024]	1

– Acides formique et oxalique

Peu d'études ont été menées sur la présence de résidus d'acide oxalique et d'acide formique dans la cire, principalement en raison de leur caractère hydrosoluble qui limite fortement leur accumulation dans la cire. Aucune donnée n'a pu être extraite des études concernant ces deux substances (cf. Tableau 18). Les études réalisées sur ces deux acides portent principalement sur les résidus présents dans le miel. Cependant, une étude menée en Argentine en 2016 a examiné la présence de résidus d'acide oxalique dans la cire, après l'application d'un traitement non autorisé en Europe à cette époque, consistant à utiliser des lanières de cellulose imprégnées d'acide oxalique dissous dans du glycérol. Après six semaines de traitement, aucun des sept échantillons de cire analysés ne contenait d'acide oxalique en quantité détectable (Maggi et al. 2016).

Pour les autres substances autorisées en France, et fréquemment utilisées ailleurs dans le monde, de nombreuses données sont en revanche disponibles (cf. Tableau 18).

– Amitraze

L'amitraze est très instable dans la cire (Wallner 1999; Korta et al. 2001) et se dégrade très vite. Sa demi-vie ($t_{1/2}$) dans la cire est très courte, de 6,3 heures (Korta et al. 2001). Pour cette raison, ce sont principalement les métabolites de l'amitraze qui sont recherchés et détectés dans la cire d'abeilles : le DMF (N-(2,4-diméthylphényl)formamide), le DMPF (N-(2,4-diméthylphényl)-N'-méthylformamidine) et dans une moindre mesure le DMA (2,4-diméthylaniline). Les teneurs exprimées en amitraze (somme de ses métabolites⁵²) n'ont pas pu être calculées, les données disponibles dans les publications identifiées étant insuffisamment détaillées.

⁵² La teneur en amitraze est calculée en prenant en compte les valeurs quantifiées de chacun de ses trois métabolites (DMA, DMF et DMPF) de la manière suivante : Somme amitraze = [amitraze] + [DMPF x (293/163)] + [DMF x (293/149)] + [DMA x (293/122) x 0,5]

L'amtiraze et/ou ses métabolites ont été détectés dans 19,2 % (pour l'amtiraze) et dans 61 % des échantillons de cires pour le DMF, avec des teneurs moyennes parfois élevées. Les valeurs maximales ont été observées pour le DMPF atteignant jusqu'à 13,9 mg/kg de cire en moyenne dans une étude.

– Fluméthrine

La fluméthrine est une substance acaricide à usage apicole récemment autorisée (depuis 2017 en France). Une dizaine d'études portant sur un total de 1 462 échantillons de cires en ont fait la recherche. Sa fréquence de détection est cependant inférieure à celle du tau-fluvalinate et de l'amtiraze, avec moins de 20 % des échantillons testés positifs. De même, la médiane des teneurs moyennes observée est plus faible, s'élevant à 0,069 mg/kg de cire. Aucune étude portant spécifiquement sur des cires françaises n'a été identifiée dans le cadre de ce travail pour cette substance.

– Tau-fluvalinate

Concernant le tau-fluvalinate, 39 études ont été recensées, montrant que cette substance a été détectée dans plus de la moitié des échantillons examinés (environ 60 % des cires étudiées étaient positives). Les analyses ont été effectuées sur près de 5 000 échantillons de cire. Les teneurs moyennes varient considérablement d'une étude à l'autre, allant de 0,015 mg/kg à 11,625 mg/kg de cire (médiane : 0,333 mg/kg). Les deux seules études portant sur les cires françaises confirment une fréquence de détection élevée, avec des teneurs variables. Ainsi, Martel et al. (2007) rapportent une fréquence de détection atteignant 70,2 % dans 47 échantillons de cires du commerce, avec des teneurs comprises entre 0,13 et 3,62 mg/kg de cire. Dans une autre étude, 52 % des 67 échantillons de cires de brèche étaient contaminés, avec une teneur moyenne de 0,22 mg/kg de cire (valeurs allant de 0,008 à 0,446 mg/kg) (Chauzat et al. 2011)

– Thymol

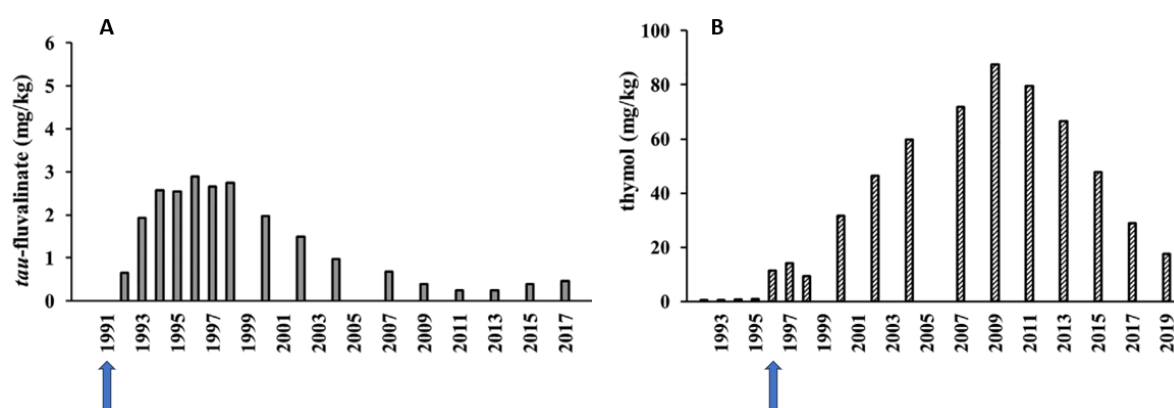
Le thymol, autorisé dans le cadre de la lutte contre *V. destructor*, fut particulièrement utilisé par les apiculteurs travaillant en certification AB, dont le cahier des charges limite l'utilisation des traitements vétérinaires à cette substance et aux acides organiques (oxalique et formique). Du fait de son caractère lipophile, sa présence dans des cires traitées par les apiculteurs était attendue, et a été confirmée par diverses études (Lodesani et al. 1992; Floris et al. 2004; Carayon et al. 2014; Manzano Sánchez et al. 2021). Certaines d'entre elles ont mis en évidence des teneurs très élevées en thymol après traitement, atteignant plusieurs centaines de mg/kg de cire, voire 1 g/kg dans l'étude de (Carayon et al. 2014). Des fréquences de détection élevées ont également été rapportées dans deux études récentes, avec 100 % (6/6 échantillons) (Meikle, Weiss, et Beren 2020) et 96 % (24/25 échantillons) (Alkassab et al. 2020) des échantillons de cires testés positifs. Cependant, les niveaux de contamination (teneurs moyennes) sont plus faibles. Il faut toutefois noter que ces données ne concernent que 35 échantillons de cire au total (cf. Tableau 15). Peu de données ont été enregistrées dans le tableau concernant le thymol, du fait de l'insuffisance des informations fournies sur les échantillons testés, ou du protocole utilisé (expérimentations en conditions contrôlées, contaminations volontaires des cires), qui rendait les résultats inexploitable pour un état des lieux représentatif.

Concernant les études portant sur les cires françaises, les experts ont identifié une étude dont un des objectifs était de mettre en évidence la persistance du thymol dans des cires de corps

(n = 20) prélevées dans des ruches chez des apiculteurs travaillant en certification AB, un an après le traitement de leurs colonies avec des plaquettes imprégnées de thymol (Carayon et al. 2014). Pour ces 20 échantillons, la teneur moyenne observée en thymol était de 10 mg/kg de cire, avec une teneur maximale dépassant 1 g/kg pour un échantillon. Dans une autre étude portant sur des cires françaises, 15 échantillons sur 41 analysés étaient positifs pour le thymol, avec des teneurs variant de 0,86 à 4,55 mg/kg de cire. En revanche, dans cette même étude, les analyses des cires issues de l'apiculture AB (sept échantillons) n'ont révélé aucun résidu d'acaricide.

Ainsi, des fréquences élevées de contamination des cires par le thymol peuvent être attendues en raison de son utilisation courante, y compris chez les apiculteurs travaillant en système AB. Bien que le thymol soit une substance volatile et qu'une diminution progressive de sa teneur dans les cires au cours du temps ait été supposée (Bogdanov 2006), les niveaux de contamination restent parfois élevés, en particulier en cas de traitement récent. Le manque d'informations disponibles dans la littérature ne permet toutefois pas d'estimer de manière fiable une fréquence de contamination, ni de définir un intervalle de teneurs satisfaisant.

De manière générale, dès lors qu'une substance pour le traitement acaricide apicole est commercialisée, les cires en sont rapidement contaminées. Deux études menées en Suisse illustrent que, dès l'année suivant la commercialisation d'un médicament vétérinaire acaricide, la substance active correspondante apparaît dans les cires du commerce (bromopropylate, tau-fluvalinate et thymol en l'occurrence) (Bogdanov 2006; Kast, Kilchenmann, et Charrière 2021) (Figure 29 ci-dessous). Il est probable qu'une tendance similaire existe en France, et que les cires du territoire soient contaminées par des résidus d'amitraz, de tau-fluvalinate, de fluméthrine et de thymol.



Le tau-fluvalinate (A) et le thymol (B), autorisés en Suisse en 1991 et 1996 respectivement (flèches), ont été détectés dans les cires commercialisées dès l'année qui a suivi l'obtention de leur AMM. Les teneurs en thymol (B) peuvent être particulièrement élevées, les valeurs étant de l'ordre de dizaines de mg/kg de cire

Figure 29 : Évolution des teneurs en acaricides dans les cires commerciales suisses après obtention d'une AMM (d'après Kast, Kilchenmann, et Charrière 2021)

Selon Kast, Kilchenmann, et Charrière (2021) la partie descendante des courbes correspond à une moindre utilisation observée sur le terrain (données non disponibles néanmoins), les substances tau-fluvalinate et thymol étant toujours autorisées en tant que médicaments vétérinaires apicoles au moment de la rédaction de ce rapport, ou encore une moindre efficacité des produits expliquant une moindre application.

Les substances acaricides mais non autorisées actuellement en France pour un usage apicole

En 1995, 15 molécules différentes (amitraze, bromopropylate, chlordiméforme, chlorofénizon, chlorobenzilate, coumaphos, cymiazole, dicofol, tau-fluvalinate, acide formique, malathion, naphtalène, phénothiazine, sulfure-tétradifon et thymol) avaient obtenu des AMM dans le monde et étaient utilisées dans la lutte contre *V. destructor* (Fernandez-Muiño et al. 1995). Actuellement, certaines de ces substances sont encore utilisées en tant que médicaments vétérinaires varroocides dans différents pays, situés à l'intérieur ou en dehors du territoire européen. Ces substances peuvent ne pas (ou ne plus) être autorisées en France, mais encore utilisées ailleurs, en Europe ou dans le monde, ou bien pas (ou plus) autorisées sur l'ensemble du territoire européen, mais utilisées ailleurs dans le monde. Cette situation rend particulièrement complexe l'interprétation de leur niveau de présence dans les cires.

Les contaminants qui correspondent à ce cas de figure et qui sont les plus fréquemment retrouvés dans les cires sont (cf. Tableau 18) :

- le coumaphos, le bromopropylate et le chlorobenzilate. Ces trois substances (et/ou leurs métabolites) ont été détectées dans plus de la moitié des échantillons de cire analysés ;
- ensuite, par ordre décroissant de fréquence de détection : le chlorfenvinphos (43,6 %), l'acrinathrine (35,2 %), le naphtalène (32 %), la cyperméthrine (22,5 %), le malathion (18 %) et le dicofol (15,7 %) ;
- et enfin, de manière plus anecdotique, la roténone, le tétradifon et le cymiazole ont été retrouvés dans respectivement 3,8 %, 1 % et 0,3 % des échantillons de cires.

Les niveaux d'informations obtenus vis-à-vis de ces différentes substances sont hétérogènes : certaines ont été largement étudiées, tandis que d'autres ne sont mentionnées que dans une seule publication, comme le chlorobenzilate, le naphtalène et le tétradifon. Ces trois dernières substances ne seront donc pas abordées de façon détaillée par la suite.

– Coumaphos

Il n'y a plus de médicament pour les abeilles dont le coumaphos constitue la substance active, autorisé en France depuis février 2005⁵³. Depuis 1999, plus de 40 études ont montré que le coumaphos est l'une des substances les plus fréquemment retrouvées dans la cire. En moyenne, cette molécule est détectée dans plus de 55 % des échantillons, et ses métabolites (coumaphos oxon ; chlorferon ; coralox) sont présents dans 75 à 81 % des cires analysées (cf. Tableau 18). La médiane des teneurs moyennes rapportées dans les 45 études recensées s'élève à 0,480 mg/kg de cire, avec une variation importante des valeurs moyennes observées, qui s'échelonnent de 0,0007 à 11,421 mg/kg de cire selon les études. Malgré l'interdiction de son utilisation pour l'ensemble des usages (MV apicole et non apicole, PPP, biocide), en Europe depuis de nombreuses années, le coumaphos a encore été détecté dans la totalité des échantillons analysés dans plusieurs études récentes menées en Europe (Albero, Miguel, et García-Valcárcel 2023; Marti, Kilchenmann, et Kast 2022) et aux États-Unis où son utilisation est toujours autorisée (Graham et al. 2022).

Dans une étude française réalisée en 2011, le coumaphos a été détecté dans près de la moitié des échantillons de cire apicole, avec une teneur moyenne de 0,648 mg/kg de cire (Chauzat et al. 2011). Une étude antérieure avait fait état d'une fréquence de contamination encore plus élevée : sur 47 échantillons de cires françaises du commerce testés, 42 étaient positifs au coumaphos avec des teneurs allant de 0,27 à 5,81 mg/kg de cire (Martel et al. 2007). Dans

⁵³ (ITSAP, 2018) [C3.pdf](#)

cette même étude, Martel et al. (2007) s'étaient aussi intéressés au devenir du coumaphos après l'application d'un médicament vétérinaire non apicole, utilisé hors AMM. Les cinq colonies de l'étude ont été traitées deux fois, à sept jours d'intervalle, avec 10 g de préparation (un mélange de 15 g du médicament étudié dans la publication et de 500 g de sucre en poudre), répartis en quantité égale entre les différents cadres. Ce traitement a été renouvelé l'année suivante, aux jours 347 et 354. Les résultats obtenus indiquent que le coumaphos est rapidement incorporé dans la cire, dès le lendemain de chaque application, et dans une moindre mesure, dans le miel. Les résidus de coumaphos persistent dans la cire, en particulier en périphérie des cadres, où les temps de demi-vie ($t_{1/2}$) ont été estimés à 346 jours, contre 138 jours au centre des cadres. Cinq mois après le second traitement réalisé aux jours 347 et 354, soit 488 jours après le premier traitement, les teneurs moyennes en coumaphos variaient de 1,61 mg/kg (au centre des cadres) à 4,71 mg/kg (en périphérie des cadres) dans les échantillons de cire provenant des corps de ruche, tandis que seules de très faibles quantités étaient encore détectées dans certains échantillons provenant des hausses⁵⁴.

– Bromopropylate

Le bromopropylate a été principalement utilisé contre l'acarien des trachées *Acarapis woodi* avant l'arrivée de *V. destructor* en Europe. L'acarien des trachées n'est actuellement que rarement suspecté et rarement mis en évidence dans les colonies. Le bromopropylate ne bénéficie plus d'aucune autorisation en Europe, que ce soit pour cet usage ou pour d'autres applications (PPP, biocides, MV non apicoles) depuis 2003. Néanmoins, il est possible qu'il soit encore utilisé dans certains pays tiers. En outre, la persistance du bromopropylate dans l'environnement ainsi que dans diverses matrices est bien documentée (Anses 2013). Ces éléments pourraient expliquer pourquoi cette substance est détectée dans près de la moitié des échantillons de cires analysés. Les fréquences de détection pour cette substance sont particulièrement variables : par exemple, dans une étude en Espagne, le bromopropylate n'a été détecté dans aucun des échantillons (Adamczyk et al. 2010), tandis que dans deux autres études, elles aussi réalisées en Espagne et publiées la même année, près de 90 % des échantillons analysés contenaient du bromopropylate (Serra-Bonvehí et Orantes-Bermejo 2010; Orantes-Bermejo et al. 2010). Sa teneur moyenne dans les cires est d'environ 0,034 mg/kg (cf. Tableau 18).

– Chlorfenvinphos

Le chlorfenvinphos, insecticide organophosphoré interdit en Europe depuis 2007, ne peut plus être utilisé, ni en filière apicole, ni pour d'autres usages. Pourtant, près de 20 études menées dans six pays d'Europe différents ont rapporté une fréquence de détection de 43,6 % (sur 2 473 cires analysées), avec des teneurs moyennes comprises entre 0,008 et 2,55 mg/kg de cire. Des teneurs individuelles maximales supérieures à 5 mg/kg ont été rapportées dans cinq de ces études.

– Acrinathrine

L'acrinathrine, principalement détectée en Espagne, avec une fréquence de détection de 32 %, a montré des niveaux de contamination des cires souvent élevés. D'après la revue de la bibliographie, les teneurs s'échelonnent entre 0,014 et 1,378 mg/kg de cire, mais les teneurs maximales relevées peuvent aller de 2,595 à 7,5 mg/kg de cire.

⁵⁴ Comme vu dans le glossaire, seul le corps de ruche fait l'objet de mise en place de traitements par l'apiculteur.

– Cyperméthrine

La cyperméthrine a été trouvée dans cinq études récentes, dont une en France, avec des teneurs moyennes variant de 0,0023 à 0,078 mg/kg de cire.

– D'autres molécules

D'autres molécules qui ont été utilisées par le passé contre la varroose dans certains pays comme le dicofol, le malathion et le tétradifon ou qui sont encore employées, comme la roténone, ou employés depuis peu comme les sels de lithium, ont été identifiées dans huit études. Parmi elles, seul le malathion a été détecté dans 4 % des échantillons de cire française analysés (Chauzat et al. 2011).

Lorsque des substances acaricides sont détectées dans la cire, il est légitime de s'interroger sur leur provenance. En effet, comme mentionné précédemment, leur présence peut être la conséquence de leur application directe dans les ruches, généralement dans le cadre de la lutte contre la varroose. Dans ce cas, il s'agit d'une utilisation à visée thérapeutique, réalisée soit dans un cadre légal avec des médicaments vétérinaires apicoles autorisés, soit de manière illégale (mésusages), avec des substances acaricides détournées de leur usage principal (produits phytopharmaceutiques, biocides, médicaments vétérinaires destinés à d'autres espèces, principe actif constitutif de médicament ou de produit acaricides, etc.). La présence de teneurs élevées en résidus d'une substance acaricide dans les cires, même en l'absence d'un médicament vétérinaire apicole autorisé contenant cette substance, évoque une application directe et volontaire au sein de la ruche. Néanmoins, la détection de ces substances acaricides peut aussi résulter d'une contamination environnementale, par exemple par l'utilisation de produits phytopharmaceutiques sur les cultures à proximité des ruchers.

5.1.1.5 Données de la littérature concernant les contaminations de la cire par des substances chimiques phytopharmaceutiques, biocides et médicaments non apicoles

En dehors des acaricides à usage apicole, de nombreuses autres substances présentant des activités insecticides, acaricides, fongicides ou herbicides sont régulièrement retrouvées dans la cire d'abeilles. Les experts ont extrait des données concernant 125 substances entrant dans cette catégorie de substances *a priori* à usage non apicole. Ces substances appartiennent à une quarantaine de familles chimiques différentes, dont les dix premières sont listées dans le Tableau 19 et les trente autres figurent dans le Tableau 65 en Annexe 5, classées par ordre d'occurrence (c'est-à-dire selon le nombre de détection d'un membre de cette famille chimique) décroissant.

Tableau 19 : Familles chimiques d'appartenance des substances relevées dans la revue de la littérature, activités associées, par ordre d'occurrence décroissant

Famille chimique	Type d'activité	Mode d'action selon classement IRAC (<i>Insecticide Resistance Action Committee</i>) ou FRAC (<i>Fungicide Resistance Action Committee</i>) ou HRAC (<i>Herbicide Resistance Action Committee</i>)
organophosphorés	fongicide ; herbicide ; insecticide	Pour l'activité insecticide, selon IRAC : Inhibiteurs de l'Acetylcholine-estérase (AChE) (Gr1B) Sites d'action : systèmes nerveux et musculaire
pyréthrinoides	insecticide	Pour l'activité insecticide, selon IRAC : Modulateurs du canal ionique sodium (Gr3) Sites d'action : systèmes nerveux et musculaire
formamidines	acaricide ; insecticide	Pour l'activité insecticide, selon IRAC : Agonistes des récepteurs octopaminergiques (Gr 9) Sites d'action : systèmes nerveux et musculaire
néonicotinoïdes	insecticide	Pour l'activité insecticide, selon IRAC : Agonistes des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) – modulateurs compétitifs (Gr 4) Sites d'action : systèmes nerveux et musculaire
organochlorés	acaricide ; fongicide ; insecticide	Pour l'activité insecticide, selon IRAC : Antagonistes du canal chlorure médié par le GABA (acide γ -aminobutyrique) (Gr2) Sites d'action : systèmes nerveux et musculaire
sulfites esters/ sulfites organiques	acaricide ; insecticide	Pour l'activité insecticide, selon IRAC : Inhibiteurs de la phosphorylation oxydative (Gr 12) Site d'action : respiration cellulaire
triazoles	fongicide	Pour l'activité fongicide, selon FRAC : Inhibiteurs de la déméthylation (DMI) (Gr 3) Site action : cible la biosynthèse des stérols chez les champignons et inhibe croissance et le développement
benzodioxoles / phenylpropène	synergisant	Ne constituent pas une catégorie distincte dans le classement IRAC. Le PBO (pipéronyl butoxyde) est principalement utilisé comme synergisant pour renforcer l'efficacité des insecticides, en particulier des pyréthrinoides (Groupe 3 de l'IRAC)
carbamates	acaricide ; fongicide ; insecticide ; nématocide	Pour l'activité insecticide, selon IRAC : Inhibiteurs de l'Acetylcholine-estérase (AChE) (Gr 1A) Sites d'action : systèmes nerveux et musculaire
strobilurines	fongicide	Pour l'activité fongicide, selon FRAC : Inhibiteurs de la respiration mitochondriale (complexe III) (Gr 11) Sites d'action : chaîne respiratoire mitochondriale

Les familles indiquées en gras dans le Tableau 19, correspondent aux six familles les plus fréquemment détectées et seront décrites ci-dessous.

Aucune donnée concernant le fipronil n'a été extraite de la bibliographie. Il faut néanmoins rappeler que pour les études employant une recherche multirésidus, seules les informations concernant les contaminants retrouvés dans plus de 20 % des échantillons ont été extraites. D'autres substances ont été retrouvées avec d'autres activités : propylène glycol, silicone, imides aromatiques, cyclo-pentanol, hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), hydrocarbures aromatiques, isoflavone.

– **Organophosphorés (regroupent des substances classées comme insecticide ou insecticide/acaricide)**

Parmi les études issues de la revue de la littérature, 14 substances appartenant à la classe des organophosphorés ont été détectées dans les cires d'abeilles. Ces substances présentent une activité insecticide et parfois acaricide. Pour chacune d'elles, les fréquences de détection, les intervalles des teneurs moyennes ainsi que le nombre de références recensées (parmi les 69 retenues) et leur statut d'autorisation en tant que produit phytopharmaceutique ou médicament vétérinaire (pour un usage non apicole) sont indiqués dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Organophosphorés retrouvés dans les cires à usage apicole selon la revue de la littérature

Substance	Fréquence de détection (nombre de cires positives / nombre de cires testées)	Intervalle* des teneurs moyennes [min. - max.] (mg/kg)	Nombre de références	Approuvée en Europe pour usage PPP ou MV hors apiculture
chlorfenvinphos	43,6 % (1079/2473)	[0,008 – 2,55]	19	non
chlorpyrifos	59,4 % (639/1076)	[0,0026 – 0,129]	21	non
chlorpyrifos-méthyl	20 % (1/5)	0,032	1	non
coralox métabolite du coumaphos	75 % (3/4)	0,017	1	non (coumaphos)
coumaphos	55,4 % (2730/4927)	[0,0007 – 11,431]	46	non
coumaphos-oxon métabolite du coumaphos	74,3 % (361/486)	[0,0031 – 0,1027]	4	non (coumaphos)
diazinon	33,3 % (5/15)	0,0003	2	non
dichlofenthion	47,6 % (10/21)	[0,039 – 0,109]	1	non
dichlorvos	20 % (1/5)	0,010	1	non
diméthoate	33,1 % (47/142)	0,0239	1	non
éthion	28,6 % (4/14)	0,011	2	non
malathion	18 % (136/754)	[0,0121 – 0,040]	9	autorisée (mais toutes les spécialités ont été retirées)
paraoxon-méthyl	20 % (1/5)	0,006	1	non (parathion)
phosmet	21,8 % (32/147)	[0,0158 – 0,2345]	2	non

Les cellules grisées représentent les substances pouvant être utilisées en tant qu'acaricides, déjà évoquées dans la partie précédente.

*Lorsqu'une seule publication mentionne une substance, une seule valeur de teneur moyenne est présentée dans la colonne « Intervalle ».

** : Sites internet ANMV (<https://www.anses.fr/fr/content/lagence-nationale-du-medicament-veterinaire-missions-et-actions>) et ephy (<https://ephy.anses.fr/>) consultés le 13 décembre 2024.

PPP : produit phytopharmaceutique.

Les substances présentant les teneurs les plus élevées sont celles ayant, ou ayant eu, un usage acaricide apicole (cf. Tableau 17). Néanmoins, la présence de substances à propriétés insecticides appartenant à cette classe a également été observée dans les cires, avec des teneurs pouvant dépasser 0,1 mg/kg (chlorpyrifos, phosmet, dichlofenthion). Pourtant, la plupart de ces substances ne sont pas autorisées pour des usages phytopharmaceutiques en Europe, ni en tant que MV en France, ce qui soulève des interrogations quant à l'origine de leur présence dans les cires. Différentes hypothèses peuvent être émises, comme la rémanence des substances liée à une exposition passée, une utilisation autorisée de ces

substances dans d'autres pays qui exportent leur cire ou éventuellement un usage autre que phytopharmaceutique.

– Pyréthriinoïdes

Certaines substances appartenant à la classe des pyréthriinoïdes ont aussi été évoquées parmi les substances pouvant être liées aux pratiques apicoles. Par exemple, la fluméthrine et le tau-fluvalinate sont des acaricides dont l'usage est autorisé en apiculture en France. Néanmoins, de nombreuses autres substances de cette famille sont détectées dans les cires (cf. Tableau 21).

Tableau 21 : Pyréthriinoïdes retrouvés dans les cires à usage apicole selon la revue de la littérature

Substance	Fréquence de détection (nombre de cires positives / nombre total de cires testées)	Intervalle des teneurs moyennes [min. - max.] (mg/kg) *	Nombre de références	Approuvée en Europe pour usage PPP ou biocide	Approuvée en Europe pour usage MV hors apiculture
acrinathrine	35,2 % (148/420)	[0,014 – 1,378]	10	non	non
bifenthrine	41,7 % (5/12)	0,003	2	non	non
cyperméthrine	22,5 % (152/675)	[0,0033 – 2,34]	11	oui	oui (APE ruminants)
3-phénoxybenzaldéhyde	63,5 % (33/52)	[0,150 – 0,440]	1	métabolite bêta_ cyperméthrine	sans objet
deltaméthrine	50 % (17/34)	0,760	1	oui	oui (APE CNV et ruminants)
fenpropathrine	33,3 % (36/108)	0,023	1	non	non
fenvalérate	21,9 % (14/64)	[1,900 – 1,9]	1	non	non
fluméthrine	18 % (263/1 462)	[0,0001 – 0,160]	11	non	oui (APE CNV, BV et apicole)
lambda-cyhalothrine	64,2 % (34/53)	[0,010 – 0,690]	3	oui	non
perméthrine	82,5 % (212/257)	[0,001 – 1,5977]	7	non	oui (APE CNV, ruminants)
phénothrine	100 % (6/6)	0,9788	1	non	non
tau-fluvalinate	60,2 % (2 879/4 784)	[0,015 – 11,625]	39	oui	oui (seulement apicole)
tétraméthrine	65,6 % (59/90)	0,010	3	non	oui (APE CNV)

Les cellules grisées représentent les substances utilisées en tant qu'acaricides apicoles.

*Lorsqu'une seule publication mentionne une substance, une seule valeur de teneur moyenne est présentée dans l'intervalle.

APE = antiparasitaire externe ; CNV = carnivores domestiques ; BV = bovins ; MV = médicament vétérinaire ; PPP = produit phytopharmaceutique.

Encore une fois, les substances à usage apicole ou définies comme telles à l'époque dans les publications concernées (en grisé dans le Tableau 21), sont quantifiées à des teneurs élevées. Cependant, d'autres pyréthriinoïdes ne présentant *a priori* aucun usage apicole peuvent aussi être retrouvés à des teneurs particulièrement élevées. C'est notamment le cas de la

deltaméthrine, de la perméthrine, de la lambda-cyhalothrine ou encore de la phénothrine (détectée dans 100 % des cas, mais l'étude ne porte que sur six échantillons de cires). Pour la deltaméthrine et la lambda-cyhalothrine, une contamination résultant d'activités agricoles est probable, ces substances étant autorisées dans plusieurs spécialités à usage phytopharmaceutique. De plus, la deltaméthrine et la perméthrine entrent dans la composition de MV antiparasitaires externes destinés aux carnivores (perméthrine et deltaméthrine, quasi-exclusivement pour les chiens) ou aux ruminants (deltaméthrine uniquement), ce qui pourrait constituer une autre source de contamination. La présence de phénothrine attire l'attention, puisque cette substance n'est plus commercialisée mais elle a pu être utilisée en tant que biocide jusqu'en 2019 (Anses, 2019⁵⁵) et elle n'est autorisée en Europe pour aucun usage (ni PPP, ni biocide, ni MV). Ici encore, les mêmes hypothèses que pour les organophosphorés peuvent être émises quant à la présence et la quantité des pyréthrinoïdes dans les cires, à savoir, la rémanence liée à une exposition passée, l'utilisation autorisée dans d'autres pays qui exportent leur cire, ou éventuellement, un usage autre que phytopharmaceutique.

– Formamidines

Les formamidines, qui, parmi les substances répertoriées dans la revue de la bibliographie, ne comprennent que l'amitraz et ses métabolites, constituent la troisième famille de substances les plus fréquemment retrouvées dans les analyses de cires. Ayant déjà été évoquées dans la section consacrée aux substances acaricides à usage apicole autorisées en France (cf. 5.1.1.4 - Les substances acaricides apicoles), elles ne seront pas de nouveau abordées ici. Il convient toutefois de souligner que l'amitraz peut entrer dans la composition de produits phytopharmaceutiques dans certains pays, bien qu'elles ne soient plus autorisées en Europe pour ces usages depuis le retrait des dernières autorisations en 2004 (<https://echa.europa.eu/fr/pic-factsheet/-/pic-detail/100.046.691>, source : ephy). De plus, l'amitraz entre dans la composition d'un MV non apicole toujours autorisé chez le chien (en tant qu'antiparasitaire externe), bien qu'il ne soit plus commercialisé actuellement en France. Ainsi, au-delà des applications directes d'amitraz dans les ruches, d'autres sources potentielles de contamination des cires ne peuvent être exclues.

– Néonicotinoïdes

Les néonicotinoïdes correspondent à une classe d'insecticides développés dans les années 1990. Ils font actuellement partie des insecticides les plus utilisés dans le monde, principalement en agriculture pour protéger les cultures contre les ravageurs. Particulièrement néfastes pour le règne animal, notamment pour les abeilles et les autres pollinisateurs en tant qu'espèces non cibles, les néonicotinoïdes de première génération sont désormais interdits pour ces usages en Europe, sauf dérogations mises en pratique⁵⁶. L'acétamipride est toutefois autorisée même si aucun produit phytopharmaceutique contenant cette substance, ne bénéficie d'une AMM en France (site ephy, consulté le 28/04/2025). Certains néonicotinoïdes peuvent également entrer dans la composition de médicaments vétérinaires à usage non apicole. C'est le cas, par exemple, de l'imidaclopride ou du dinotéfuran présents dans certains antiparasitaires externes destinés aux carnivores domestiques, parfois en association avec la perméthrine, notamment pour les traitements destinés aux chiens.

⁵⁵ Anses - n° BC-UX019685-93, non inflammable aircraft insecticide phenothrin

https://www.anses.fr/fr/system/files/biocides/evaluations/NONFLAMMAB_BC-UX019685-93_NA-MRP_Ans.pdf

<https://echa.europa.eu/fr/substance-information/-/substanceinfo/100.043.104>

⁵⁶ <https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-6966>

Plusieurs substances appartenant à cette famille ont été retrouvées dans les matrices apicoles, notamment dans les cires : acétamipride, clothianidine, dinotéfurane, imidaclopride, thiaclopride et thiaméthoxam.

Les fréquences de détection rapportées dans les références issues de la revue de la littérature sont variables. Les plus élevées sont observées dans les études portant sur des cires prélevées dans des ruchers situés dans des zones potentiellement exposées, par exemple, dans des ruchers situés à proximité de vergers (Yañez et al. 2013). Dans une autre étude menée en 2013 et 2014 (Lawrence et al. 2016), portant sur 93 échantillons de cire, les échantillons provenant de zones agricoles étaient plus susceptibles de contenir des résidus détectables de thiaméthoxam et de clothianidine (environ 50 % des échantillons) que ceux provenant d'autres zones rurales ou urbaines (moins de 10 %). Une autre étude réalisée en Allemagne sur 25 échantillons de cires, a mis en évidence la présence de deux néonicotinoïdes, le thiaclopride et l'imidaclopride, avec des fréquences de détection respectives de 50 % et de 20 % (Alkassab et al. 2020). Dans une autre étude, menée sur 72 colonies dans l'État de New York, plusieurs néonicotinoïdes ont été détectés dans les cires : le thiaméthoxam dans 38,9 % des échantillons, l'imidaclopride dans 25 % des échantillons et l'acétamipride dans 12,5 % des échantillons (Bischoff, Baert, et McArt 2023)⁵⁷. Cependant, d'autres études ont montré des fréquences de détection beaucoup plus faibles. Ainsi, Mullin et al. (2010), après avoir analysé plus de 250 échantillons, n'ont détecté des résidus de thiaclopride et d'imidaclopride que dans quatre et deux échantillons, respectivement. De même, une autre étude menée en Espagne sur 21 échantillons de cire provenant de différentes régions traitées avec des néonicotinoïdes a seulement détecté de l'imidaclopride, à des teneurs moindres (< 0,0037 mg/kg), dans deux échantillons (Valverde et al. 2018). Enfin, une dernière étude montre aussi la présence de néonicotinoïdes dans la cire, mais avec des fréquences inférieures à celles observées dans le pollen (Graham et al. 2022). En effet, l'imidaclopride est ainsi détectée dans environ 6 % des échantillons de cires, contre 90 % des échantillons de pollen. De même, le thiaméthoxam est présent dans un peu moins de 1 % des cires, alors qu'il est détecté dans 46 % des échantillons de pollen.

Dans toutes ces études, les teneurs moyennes détectées sont de l'ordre de 0,01 mg/kg, inférieures à celles d'autres substances évoquées précédemment. Les teneurs maximales ont pu être plus élevées pour l'acétamipride (0,011–0,061 mg/kg) et l'imidaclopride (0,040 mg/kg) (Yañez et al. 2013b; 2013a) et ont même dépassé 0,1 mg/kg pour le thiaméthoxam (Yañez et al. 2013a; Daniele et al. 2018).

Deux études ont été réalisées en France sur la détection de néonicotinoïdes dans les cires. La première étude menée par Jabot et al. (2015), et portant sur 60 échantillons de cires collectés dans différentes régions françaises en 2012 et 2013, a montré que 23 échantillons contenaient du thiaclopride en faibles quantités (22 échantillons en dessous de la limite de quantification (LQ) et un à la teneur de 0,0034 mg/kg). Trois échantillons étaient aussi positifs pour l'imidaclopride, avec des teneurs en dessous de la LQ (0,001 mg/kg). La seconde, menée entre 2012 et 2016, portait sur 488 échantillons, dont 87 échantillons de cires provenaient de ruchers où les colonies d'abeilles présentaient des signes cliniques, jusqu'à des mortalités (Daniele et al. 2018). Le thiaclopride a été détecté dans 26 % des échantillons, à des teneurs maximales atteignant 0,0034 mg/kg. Deux échantillons présentaient aussi des teneurs de thiaméthoxam allant jusqu'à 0,0509 et 0,1065 mg/kg.

⁵⁷ Publication non sélectionnée pour la revue de la littérature mais incluse par les experts.

– Organochlorés

Les organochlorés sont connus comme lipophiles, bioaccumulables, très stables, résistants dans l'environnement sur de très longues périodes (plusieurs décennies) et capables de s'accumuler dans les tissus gras des organismes vivants. Ils ont été utilisés en agriculture dans le traitement du bois et dans la lutte contre les maladies vectorielles à partir des années 1940 puis progressivement interdits entre 1980 et 2009. Les organochlorés sont aujourd'hui majoritairement interdits en Europe. Ils sont classés parmi les polluants organiques persistants (POP) dans le cadre de la Convention de Stockholm, un traité international ratifié par l'UE qui vise à éliminer ou restreindre l'utilisation de substances chimiques dangereuses. En Europe le règlement UE n°2019/1021 sur les POP interdit la production, la mise sur le marché et l'utilisation de ces substances, sauf cas très spécifiques et strictement contrôlés (par exemple à des fins de recherche scientifique). Malgré ces restrictions, la revue de la bibliographie (études publiées entre 1999 et 2023) démontre leur présence quasi-systématique dans les cires analysées (cf. Tableau 22).

Tableau 22 : Organochlorés retrouvés dans les cires à usage apicole selon la revue de la littérature

Substance	Fréquence de détection (nombre de cires positives / nombre total de cires testées)	Intervalle des teneurs moyennes [min. - max.] (mg/kg)	Nombre de références	Approuvée en Europe pour usage PPP ou biocide	Approuvée en Europe pour usage MV
2,4'DDT	57,1 % (8/14)	-	1	non	non
chlorobenzilate	100 % (18/18)	0,030	1	non	non
chlorothalonil	53,7 % (210/391)	[0,012 - 1,635]	4	non	non
DDD	94 % (47/50)	0,010	1	non	non
DDE	88,9 % (32/36)	0,010	1	non	non
DDT	85,1 % (74/87)	0,030	1	non	non
delta-HCH	70 % (7/10)	0,0116	1	non	non
dicofol	15,7 % (49/313)	[0,0023 - 0,008]	5	non	non
endosulfan	23,4 % (11/47)	0,0888	1	non	non
endosulfan I	43,4 % (168/387)	[0,0033 - 0,0087]	3	non	non
endosulfan II	27,9 % (108/387)	[0,0021 - 0,0062]	3	non	non
endosulfan sulfate	44,4 % (4/9)	0,290	1	non	non
HCH	94,9 % (56/59)	0,020	1	non	non
p,p'-DDT	30 % (3/10)	0,0193	1	non	non
p-dichlorobenzène	33,3 % (1/3)	0,0069	1	non	non
tétradifon	1 % (2/208)	0,0079	1	non	non

- : pas de mention de teneur moyenne dans la publication

MV = médicament vétérinaire ; PPP = produit phytopharmaceutique.

Le fait que ces substances chimiques soient encore détectées dans des cires pourrait être dû à leur faible biodégradabilité et à leur importante rémanence, sachant qu'ils ont été massivement utilisés depuis les années 1940 et pour certains d'entre eux jusqu'en 2019 en Europe et la poursuite de leur utilisation dans certains pays à partir desquels des importations de cires s'effectuent.

Une des substances, le p-dichlorobenzène (ou 1,4-dichlorobenzène), est un cas particulier, puisqu'elle a été utilisée par les apiculteurs pour lutter contre la grande fausse teigne *Galleria mellonella*. La fumigation des cadres stockés pendant l'hiver pourrait expliquer la contamination des cires observée dans certaines études (Mullin et al. 2010; Bogdanov 2004). Cet usage semble avoir disparu et le p-dichlorobenzène n'est plus détecté d'après les publications récentes.

– Sulfites esters

Le propargite est un acaricide utilisé pour lutter contre les acariens dans diverses cultures agricoles, notamment la vigne, les fruits et les légumes. Il agit en inhibant la respiration cellulaire des acariens, ce qui perturbe leur métabolisme énergétique. Cependant, son utilisation a été réévaluée en Europe en raison de préoccupations concernant ses effets sur la santé humaine et l'environnement. En conséquence, le propargite a été retiré de la liste des substances autorisées selon le règlement (CE) n°1107/2009, qui encadre l'autorisation des produits phytopharmaceutiques dans l'UE. Le propargite a longtemps été utilisé, notamment depuis 1969 aux États-Unis, mais ce n'est qu'en 1977 qu'une première évaluation toxicologique de ses résidus a été réalisée. Avant cette date, ces résidus n'étaient donc pas systématiquement recherchés. Plus de trente ans après, en 2009, l'UE a décidé d'interdire son utilisation.

Le propargite a été détecté dans 65 % des échantillons de cires dans les différentes études retenues par la revue de la littérature (cf. Tableau 23).

Tableau 23 : Sulfites esters retrouvés dans les cires à usage apicole selon la revue de la littérature

Substance	Fréquence de détection en % (nombre de cires positives / nombre de cires testées)	Intervalle des teneurs moyennes [min. - max.] (mg/kg) *	Nombre de références
propargite	65,3 % (192/294)	0,0348 [0,001 - 0,175]	9

Trois-cents échantillons ont été testés dans une dizaine de publications relativement récentes. L'une des premières études, conduite en 2015, suggère que la contamination pourrait être d'origine environnementale (Ravoet, Reybroeck, et De Graaf 2015). Toutefois, les teneurs élevées relevées dans ces publications et la forte fréquence de détection de cette substance interrogent les experts puisque cette substance est interdite depuis plus de 10 ans.

– Substances à activité fongicide

Une trentaine de substances différentes, appartenant à des familles chimiques diverses, présentent une activité fongicide et viennent enrichir la liste des contaminants retrouvés dans les cires. Les détections de fongicides sont fréquentes, le chlorothalonil, l'azoxystrobine, le boscalid ainsi que les triazoles figurant parmi les substances les plus souvent identifiées.

De nombreuses substances de la famille des strobilurines (inhibiteurs de la chaîne respiratoire) sont détectées dans la cire. La strobilurine la plus fréquente est l'azoxystrobine, référencée dans huit études (Graham et al. 2022; Ostiguy et al. 2019; Shimshoni et al. 2019; Harriet et al. 2017; Marti, Kilchenmann, et Kast 2022; S. Niell et al. 2015; Traynor et al. 2016; Bischoff, Baert, et McArt 2023). Trois autres strobilurines sont retrouvées dans les cires : la pyraclostrobine (trois études), la trifloxystrobine (trois études) et la dimoxystrobine (une seule étude). Dans l'étude de Graham et al. (2022), l'azoxystrobine a été détectée dans 97 % des échantillons avec une teneur maximale de 0,153 mg/kg, et la pyraclostrobine dans 86 % des

échantillons avec des teneurs atteignant 0,855 mg/kg. Ces deux substances sont aussi les plus fréquemment détectées par Ostiguy et al. (2019), avec une proportion de 39 % d'échantillons positifs pour l'azoxystrobine et 37 % pour la pyraclostrobine sur les 142 échantillons analysés. Une autre étude montre que les teneurs d'azoxystrobine sont plus élevées dans les échantillons de cires recyclées que dans la cire d'opercule (Harriet et al. 2017). Par ailleurs, dans une étude portant sur la recherche de 92 substances chimiques dans des échantillons collectés dans 72 colonies, Bischoff, Baert, et McArt (2023) rapportent que chaque échantillon de cire contient entre sept et 35 résidus, et que l'azoxystrobine, la pyraclostrobine et la trifloxystrobine sont retrouvées dans plus de la moitié des échantillons analysés, bien que les teneurs soient faibles, allant de 0,00152 à 0,00717 mg/kg.

Graham et al. (2022) montrent aussi que le boscalid et le fluopyram, deux molécules inhibitrices de la succinate déshydrogénase (famille des SDHI - *Succinate Dehydrogenase Inhibitors*), font partie des six substances les plus abondantes dans la cire avec des teneurs maximales de 0,60739 mg/kg pour le boscalid et de 0,29104 mg/kg pour le fluopyram. Quatre autres études indiquent une contamination des cires par ces substances (Daniele et al. 2018; Ravoet, Reybroeck, et De Graaf 2015; Ostiguy et al. 2019; Shimshoni et al. 2019; Bischoff, Baert, et McArt 2023). L'une d'elles a été menée en France entre 2012 et 2016 à partir de 87 échantillons de cires (Daniele et al. 2018). Le boscalid était le plus fréquemment détecté (39 % des échantillons) avec des teneurs pouvant atteindre 0,3023 mg/kg. Le boscalid fait aussi partie des 20 fongicides identifiés dans l'étude d'Ostiguy et al. (2019) avec des teneurs allant de 0,0006 à 0,043 mg/kg dans la cire de corps (rayon de cire) et de 0,0022 à 0,010 mg/kg dans les feuilles de cire gaufrée. Enfin, 50 % des échantillons de cire analysés sont également contaminés par du fluopyram dans l'étude de Bischoff, Baert, et McArt (2023).

Une autre catégorie de fongicides détectés dans la cire appartient à la famille des triazoles, des substances largement utilisées en agriculture pour protéger les cultures céréalières, maraîchères et viticoles des moisissures phytopathogènes. Les principaux triazoles retrouvés dans les matrices apicoles, et notamment dans la cire, comprennent le tébuconazole (Graham et al. 2022; Harriet et al. 2017; Ostiguy et al. 2019; Shimshoni et al. 2019; Lozano et al. 2019), le propiconazole (Graham et al. 2022; Lozano et al. 2019; Ostiguy et al. 2019; Murcia-Morales et al. 2020), le difénoconazole (Graham et al. 2022; Issa et al. 2020), le tétraconazole (Lozano et al. 2019), le fenbuconazole (Graham et al. 2022; Ostiguy et al. 2019) et le metconazole (Graham et al. 2022). Les fréquences de détection sont parfois élevées. Par exemple, l'étude de Graham et al. (2022) a mis en évidence que 83 % des échantillons analysés contenaient du fenbuconazole (0,050 mg/kg max), 65 % du propiconazole (0,18793 mg/kg max) et 52 % du difénoconazole (0,06993 mg/kg max). La recherche de 30 substances chimiques dans des échantillons de cire recyclée et de cire d'opercules en Uruguay a montré que huit substances, dont le tébuconazole, étaient retrouvées dans les cires recyclées et les cires d'opercules (Harriet et al. 2017). Le tébuconazole était plus fréquemment détecté, et à des teneurs dix fois plus élevées, dans les échantillons de cire recyclée que dans ceux de cire d'opercules. Des fréquences de détection élevées du difénoconazole (93,1 % des échantillons, n = 72) et du propiconazole (55,6 %), avec des teneurs allant de 0,00554 à 0,00953 mg/kg, ont également été rapportées dans l'étude de Bischoff, Baert, et McArt (2023).

Cinq études révèlent la présence de carbendazime dans la cire, un fongicide à large spectre de la famille des benzimidazoles (Shimshoni et al. 2019; Ostiguy et al. 2019; Alburaki et al. 2018; Meikle, Weiss, et Beren 2020; Valdovinos-Flores et al. 2017). Dans l'étude d'Ostiguy, le carbendazime était la substance la plus abondante parmi tous les fongicides détectés dans la cire, avec une teneur de 0,137 mg/kg. Une étude au Mexique montre aussi que 36 % des échantillons de cire (n = 28) contiennent du carbendazime avec un taux maximal de

0,010 mg/kg (Valdovinos-Flores et al. 2017). Enfin, ce fongicide était retrouvé dans 95 % des échantillons de cire (n = 21) collectés dans des ruchers en Allemagne, avec des teneurs pouvant atteindre 0,1 mg/kg (Shimshoni et al. 2019).

D'autres fongicides ont été détectés dans les cires : le cyprodinil (anilinopyrimidine), des dérivés phénoliques, ou encore de l'iprodione. Cette liste n'est donc pas exhaustive, mais elle illustre que les fongicides utilisés en tant que produits phytopharmaceutiques, entraînent une contamination importante des cires, tant en termes de fréquences de cires contaminées que de teneurs pouvant être atteintes.

– Substances à activité herbicide

Bien que moins fréquemment rapportés que les insecticides/acaricides et les fongicides, certains herbicides peuvent se retrouver dans la cire d'abeilles. Dans les études répertoriées par les experts, 13 substances herbicides, appartenant à sept familles différentes, ont été détectées dans les cires. Quatre font partie des triazines dont la plus fréquemment détectée est l'atrazine. Des herbicides de la famille des dinitroanilines (pendiméthaline, trifluraline, prodiamine et DCPA) sont aussi retrouvés dans la cire. Les cinq autres substances sont le diuron, le glyphosate (et son métabolite AMPA [acide aminométhylphosphonique]), le métalochlore, le chlorprophame et l'oxyfluorène.

Dans l'étude d'Harriet et al. (2017) menée en Uruguay, tous les échantillons analysés (cire recyclée (n = 16) et cire d'opercules (n = 12)), étaient contaminés par l'atrazine, avec des niveaux allant de 0,001 à 0,002 mg/kg. L'atrazine (34 %) comme le diuron (29 %) sont les deux herbicides les plus fréquemment détectés dans les 142 échantillons analysés par Ostiguy et al. (2019). Une autre étude indique aussi que l'atrazine est l'herbicide le plus fréquent dans la cire, avec une teneur moyenne de 0,0437 mg/kg (Manning 2018). Des teneurs d'atrazine supérieures (0,09087 mg/kg) ont été mesurées par Li et al. (2015).

Le méthoprotrotyne et le diuron sont les deux herbicides les plus fréquents dans la cire dans l'étude de Graham et al. (2022), avec des fréquences de détection de 71 % et 33 %, respectivement, et des teneurs atteignant 0,027 mg/kg pour le diuron. Mullin et al. (2010) montrent que l'herbicide le plus fréquemment détecté dans la cire est la pendiméthaline (dinitroaniline), présente dans 27,8 % des 176 échantillons analysés, avec une teneur maximale de 0,084 mg/kg, suivie de l'atrazine (14 % d'échantillons positifs). Dans l'étude d'Ostiguy et al. (2019), la pendiméthaline, comme la prodiamine, sont détectées dans de la cire gaufrée à des teneurs maximales de 0,017 mg/kg.

En ce qui concerne le glyphosate, une étude récente menée en Belgique a montré que cet herbicide était présent dans 32 % des échantillons de cire (n=100), avec des fréquences de détection différentes selon les régions (53,8 % d'échantillons positifs en Wallonie contre 8,3 % d'échantillons positifs en Flandre (El Agrebi et al. 2020). Les teneurs en glyphosate atteignaient une valeur maximale de 0,320 mg/kg.

5.1.1.6 Données de la littérature concernant les contaminations de la cire par des substances chimiques phytopharmaceutiques, biocides et médicaments non apicoles en France

Dans les données de la littérature extraites par le groupe de travail et portant sur des cires françaises (Chauzat et Faucon 2007; Chauzat et al. 2011; Daniele et al. 2018; Jabot et al. 2015), les quelques substances à usage phytopharmaceutique ou biocides détectés appartenaient aux familles des organophosphorés (malathion, 4,3 %), pyréthrinoides (cyperméthrine, 22 % et 16,1 % des cires contaminées), carboxamides (boscalid, dans 39 %

des cires), cyclodiène (endosulfan, 23 % des échantillons) et néonicotinoïdes (thiaclopride, 26 % et 38 % et imidaclopride dans 5 % des cires).

La diversité des substances pouvant être retrouvées dans la cire indique que les abeilles sont exposées à un large éventail de composés potentiellement toxiques pour elles ainsi que pour la colonie et aux mécanismes d'action variés, ce qui rend probables des interactions entre ces substances.

5.1.1.7 Données de la littérature concernant les contaminations de la cire par des éléments traces métalliques

Les connaissances sur la contamination des cires par les éléments traces métalliques (ETM) sont assez limitées. Seules 23 publications scientifiques internationales parues entre 2000 et 2024 ont été recensées parmi les 69 retenues et prises en compte pour cette synthèse. La plupart d'entre elles avait pour but d'évaluer l'intérêt des matrices apicoles comme sentinelles de la contamination environnementale par les ETM, ou (plus rarement) d'autres objectifs, comme par exemple, l'exposition du consommateur (miel en rayon).

Les études se sont consacrées à une liste variable d'ETM comme contaminants des cires d'abeilles, le plus souvent sans justification claire de leur choix dans les protocoles expérimentaux. Les données descriptives de la littérature scientifique sur la contamination de la cire par les ETM sont donc hétérogènes. En combinant tous les ETM recherchés au moins une fois dans une de ces études, 40 éléments sont décrits. Le cadmium et le plomb occupent une place prépondérante dans les protocoles (recherchés chacun 20 fois sur les 23 études mentionnées) tandis que 24 ETM (sur les 40) ont été pris en compte minoritairement dans les études (recherchés seulement dans une, deux ou trois études sur les 23).

Outre le peu de données disponibles, l'état des lieux de la contamination des cires par les ETM est rendu difficile pour différentes raisons, en partie du fait de protocoles expérimentaux non comparables. En effet, les publications s'appuient sur de multiples méthodes de dosage (avec des limites de détection et de quantification distinctes), analysent des cires de différentes natures (cires de corps, cires d'opercules, feuilles de cires récemment gaufrées, cire en cours de transformation) et concernent des cires d'origines géographiques différentes (issues de régions éloignées) et produites dans des environnements variés (zones urbaines, zones industrielles, zones rurales). Enfin, la présentation des résultats des études ne permet pas toujours de disposer de l'ensemble des données brutes. La synthèse figurant dans le Tableau 24 présente donc des limites dont il convient de tenir compte.

Concernant les résultats obtenus, certaines études détectent des niveaux élevés de contamination de la cire par les ETM, en particulier pour le plomb, le fer, le zinc, le chrome et le molybdène (Végh et al. 2023b; Hassona et El-Wahed 2023; Ullah et al. 2022; Ngat et al. 2020; Bommuraj et al. 2019; Ćirić et al. 2021). Ces niveaux sont parfois si élevés que, selon certains auteurs, ils pourraient représenter un danger pour la santé des consommateurs, notamment dans des scénarios extrêmes où des enfants consommeraient du miel et de la cire contaminés par des ETM et d'autres substances chimiques contaminantes (Bommuraj et al. 2019). Lorsqu'elle est comparée aux autres matrices utilisées dans le cadre du suivi des contaminations environnementales (*biomonitoring*), la cire d'abeilles est considérée comme présentant un intérêt supérieur au miel par sa capacité à concentrer des ETM, mais elle se révèle moins performante que la propolis, le pollen, le pain d'abeilles ou surtout les abeilles ouvrières (Conti et Botrè 2001; Conti et al. 2022; Aljedani 2020; Ćirić et al. 2021). Globalement, la contamination de la cire d'abeilles par les ETM est fonction d'un certain nombre de paramètres environnementaux, parmi lesquels figurent la nature des sols, les conditions météorologiques, les ressources florales, les pratiques apicoles et les activités humaines

(Végh et al. 2023b). L'anthropisation du milieu est probablement le facteur principal de contamination des cires : celles produites par les abeilles en milieux urbains ou situées à proximité d'industries ou de voies de circulation sont généralement plus contaminées que celles provenant d'abeilles évoluant dans les milieux naturels (Aljedani 2020; Desoky et al. 2019; Ngat et al. 2020; Zavrtnik et al. 2024). Lorsqu'elles sont comparées entre elles et dans une même ruche, la cire et les autres matrices diffèrent en termes de quantité et de nature des contaminants, et de niveaux de contamination par les ETM (Formicki et al. 2012) : les ETM présents dans les cires produites par une colonie ne reflètent donc pas nécessairement ceux retrouvés dans les autres produits de la ruche ou chez les abeilles adultes. De plus, la contamination de la cire par les ETM semble augmenter avec son vieillissement (Gajger et al. 2019; Hassona et El-Wahed 2023) : la teneur en ETM dans la cire plus ancienne (de couleur foncée) semble croître, ce qui souligne une fois de plus la nécessité pour les apiculteurs de renouveler régulièrement les cires de corps. Lorsque la cire est recyclée, son niveau de contamination par les ETM peut alors diminuer significativement, en particulier lorsque le fond de cuve est éliminé (Gajger et al. 2016). Cela peut se produire aussi grâce à des méthodes actives de purification, bien que certaines techniques, notamment celle utilisant de la terre de diatomées, puissent aussi contribuer à sa contamination (Navarro-Hortal et al. 2019). En principe, les feuilles de cires gaufrées, produites dans de bonnes conditions par des ciriers professionnels et à partir de cires d'opercules, ne devraient pas présenter des niveaux élevés d'ETM.

Tableau 24 : Relevé des teneurs (exprimées en mg/kg) en ETM dans les publications retenues par la recherche bibliographique (LD : Limite de détection ; LQ : limite de quantification ; N/A : non disponible)

Référence bibliographique	Zinc (Zn)	Chrome (Cr)	Cuivre (Cu)	Aluminium (Al)	Manganèse (Mn)	Plomb (Pb)	Nickel (Ni)	Sélénium (Se)	Arsenic (As)	Cadmium (Cd)	Cobalt (Co)	Mercure (Hg)	Palladium (Pd)	Antimoine (Sb)	Vanadium (V)
Zafeiraki et al. (2022)	4,04-118,61	0,08-0,98	<LQ - 12,97	5,85-132,24	16,63-30,57	0,06-3,19	0,09-1,92	N/A	<LQ - 0,06	<LQ - 0,06	<LQ - 0,13	0,01-0,09	N/A	0,02-0,17	<LQ - 0,24
Gajger et al. (2019)	93,80-262,90	41,03-56,28	12,80-40,93	N/A	16,63-32,87	1,23-5,43	12,17-17,83	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Kim et al. (2022)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0,01	N/A	N/A	<LQ	N/A	N/A	<LQ	N/A	N/A	N/A
Ullah et al. (2022)	1,26-8,30	0,02-0,26	<LD - 0,32	N/A	0,03-0,49	<LQ - 0,93	<LQ - 0,32	N/A	N/A	<LD - 0,09	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Conti et al. (2022)	3,00-729,00	0,02-1,21	N/A	N/A	N/A	0,04-6,51	<LQ - 1,70	N/A	0,03-0,14	<LQ - 0,29	N/A	<LQ - 0,01	N/A	N/A	N/A
Astolfi et al. (2021)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	<LQ - 0,01	N/A	N/A	N/A
Astolfi et al. (2020)	N/A	0,02	<LD	<LD	N/A	N/A	N/A	N/A	<LD	<LD	<LD	N/A	N/A	N/A	N/A
Murashova et al. (2019)	0,78	N/A	0,57	N/A	N/A	0,18	N/A	N/A	<LD	0,01	N/A	<LD	N/A	N/A	N/A
Aljedani (2020)	0,78-19,70	<LD-2,31	0,09-1,91	N/A	0,36-1,31	<LQ -0,21	<LQ - 0,68	N/A	N/A	<LD-0,07	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Bommuraj et al. (2019)	<LQ-34,40	0,26-0,60	N/A	N/A	0,37-1,96	0,08-0,50	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	N/A	<LQ - 0,06	N/A	N/A	N/A
Navarro-Hortal et al. (2019)	1,30-10,30	<LQ	<LQ	7,80-9,90	0,14-0,51	2,90-3,50	<LQ	<LQ - 0,02	0,01-0,05	0,01 - 0,02	<LQ	0,10-1,70	N/A	N/A	0,02-0,04
Kosanovic et al. (2019)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0,02-0,03	<LQ - 0,05	N/A	0,00-0,09	N/A	N/A	N/A
Desoky et al. (2019)	2,05-4,61	N/A	0,39-0,62	N/A	N/A	1,39-1,75	N/A	N/A	N/A	0,16 - 0,19	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Eskov et al. (2015)	47,52	N/A	12,35	N/A	N/A	0,74	N/A	N/A	N/A	0,15	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Formicki et al. (2013)	19,10-81,20	N/A	N/A	N/A	N/A	0,15-3,13	1,89-7,35	N/A	N/A	0,01 - 0,10	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Saunier et al. (2013)	1,52	N/A	N/A	N/A	16,10	<LD	N/A	N/A	0,01	0,01	N/A	N/A	N/A	<LQ	N/A
Conti & Botré (2000)	N/A	0,03-0,09	N/A	N/A	N/A	0,06-0,15	N/A	N/A	N/A	<LQ - 0,03	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Hassona & Abd El-Wahed (2023)	0,36-2,48	1,01-2,73	0,65-2,57	N/A	0,22-1,20	0,04-0,18	0,89-2,55	N/A	N/A	0,02 - 0,05	0,03-0,05	N/A	N/A	N/A	N/A
Losfeld et al. (2014)	1,52	N/A	N/A	N/A	16,10	<LD	N/A	N/A	0,01	0,01	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Ciric et al. (2021)	4,71-21,04	0,09-0,25	<LQ	N/A	0,32-3,83	0,03-0,40	<LQ	N/A	<LQ - 0,03	<LQ - 0,01	<LQ - 0,02	N/A	N/A	N/A	N/A
Gajger et al. (2016)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	82,50-171,00	N/A	N/A	0,01-0,88	1,26 - 4,45	N/A	0,29-1,46	N/A	N/A	N/A
Ngat et al. (2020)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0,01-5,84	N/A	N/A	<LQ - 0,09	<LQ - 0,05	N/A	<LQ	N/A	N/A	N/A
Scarfone et al. (2024)	14,35-36,03	0,11-0,22	0,26-0,37	78,66-159,26	1,47-3,59	0,33-0,38	0,08-0,21	N/A	N/A	0,012 - 0,022	0,01-0,02	N/A	N/A	N/A	N/A

5.1.1.8 Bilan quant à l'état des lieux bibliographique de la contamination des cires

Au regard de la situation d'accumulation et de persistance des substances chimiques dans la cire, de la disparité de statut réglementaire des produits (biocides, MV, PPP) qui les contiennent, de l'internationalisation du marché de la cire et d'éventuels mésusages de certains produits, la contamination de la cire par des acaricides, qu'ils soient autorisés en France ou non, est systématique. Ceci est confirmé par les nombreuses études épidémiologiques descriptives, internationales et européennes, qui révèlent la présence dans les cires (cire brute, cire de corps usagée, cire gaufrée recyclée, etc.) de multiples substances acaricides, dont seulement certaines entrent dans la composition de médicaments vétérinaires apicoles autorisés en France. À juste titre, la plupart des auteurs considèrent que le niveau de teneur d'une substance acaricide dans la cire peut être indicateur de la source de contamination : une teneur élevée dans la cire suggérant un usage thérapeutique varroocide, légal ou illégal, alors qu'une teneur faible résulterait d'une contamination environnementale. Cependant, ce dernier point doit être modulé en fonction de nombreux paramètres, notamment des propriétés physico-chimiques de la substance considérée : solubilité de la molécule dans la cire, stabilité, cinétique de dégradation, méthodes d'analyses, etc. Complexifiant la situation, de nombreuses substances acaricides possèdent également des propriétés insecticides et sont classées comme telles dans les produits phytopharmaceutiques ou biocides, qu'elles soient encore approuvées en Europe ou dorénavant retirées (telles que l'acrinathrine, le bromopropylate ou le chlorfenvinphos). Ces substances insecticides sont donc susceptibles d'entraîner des effets indésirables sur la santé des abeilles mellifères et de la colonie. Seuls les médicaments vétérinaires apicoles autorisés sont en mesure de garantir une moindre nocivité pour leur santé, au moins en termes de balance bénéfiques/risques. Ces acaricides ont été identifiés dans les cires apicoles principalement en Allemagne, Belgique, Espagne, Italie, Suisse, États-Unis et France, dans la mesure où ces pays ont mené des études pour les quantifier contrairement aux cires provenant de autres pays. Cette synthèse bibliographique ne permet donc pas de conclure que seuls ces pays seraient concernés par une contamination de leurs cires à usage apicole. Il semble évident que les cires d'autres pays dans le monde, utilisateurs de substances chimiques de traitement (biocides, MV, PPP), sont également contaminées, mais il n'est pas possible de l'objectiver ni d'en connaître le niveau. D'autres phénomènes peuvent également venir compliquer la problématique : par exemple Obregon et al. (2024) ont démontré que la biotransformation par certaines plantes d'une substance anti-parasitaire injectée aux bovins pouvait aboutir à l'exposition d'abeilles mellifères (*Tetragonisca angustula*) à un dérivé de la substance initiale. Étonnés de détecter de l'abamectine dans le pain d'abeilles, alors que cette substance phytopharmaceutique n'était pas utilisée dans l'environnement des colonies étudiées, les auteurs ont vérifié expérimentalement cette exposition indirecte. Ils démontrent l'existence d'une biotransformation de l'ivermectine excrétée par les bovins, qui, métabolisée par la plante peut aboutir à l'exposition des abeilles à un dérivé actif aux propriétés insecticides (ici, l'abamectine).

5.1.1.9 Limites et incertitudes de l'état des lieux bibliographique

Plusieurs dizaines d'études, effectuées dans différents pays, objectivent à un niveau mondial la contamination des cires apicoles. La revue de la littérature a été conduite sur deux bases de données bibliographiques scientifiques : Scopus et Pubmed, selon la méthode PRISMA (cf. Annexe 4). Sur l'ensemble des articles obtenus, la qualité scientifique était variable, certaines études présentant des biais méthodologiques importants. L'hétérogénéité de méthodologie des études, de choix des molécules recherchées, des méthodes d'analyses (LD, LQ, incertitude de

mesure), de nature des échantillons (cire de la ruche, pain de cire ou cire gaufrée) a pu rendre compliquée la comparaison des études entre elles. Des incertitudes reposent sur :

- le fait que toutes les zones géographiques ne sont pas représentées, avec notamment, une absence de données concernant des pays fortement pourvoyeurs de cires au niveau mondial ;
- un biais de déclaration quant à l'origine géographique des cires, car les échantillons des cires gaufrées sont prélevés dans un pays mais leur origine réelle est rarement connue, il existe des pays de transfert en Europe ;
- un biais de déclaration quant à la date de production de la cire, qui peut correspondre au moment où la cire est produite, mais aussi au moment où elle est analysée. Le décalage de date peut représenter plusieurs années ;
- un biais de déclaration quant à la nature de la cire, certaines publications traitant de plusieurs types de cires (de corps, d'opercules) ;
- le recensement de la fréquence de détection des substances dans les différentes études. L'absence de détection d'une substance lors de l'analyse de l'échantillon peut être liée à un défaut de recherche de la molécule, à une absence réelle de la molécule, à la méthode d'analyse et au seuil de détection. Par exemple, s'agissant de la recherche d'amitraz, le seuil de détection pouvait varier selon les études entre 0,001 et 0,05 mg/kg ;
- le fait que certaines substances (ou leurs métabolites) nouvellement mises sur le marché ne sont pas encore recherchées, en raison de méthodes analytiques en cours de développement (pyradifurone, par exemple) ;
- la méthode de sélection et compilation des données adoptée par les experts. Pour les études dont le protocole mettait en œuvre une recherche multirésidus (nombre de substances recherchées supérieur à dix), seules les données correspondant aux substances présentes dans au moins 20 % des échantillons de l'étude ont été extraites et compilées dans un fichier Excel. Autrement dit, certaines substances, rarement détectées, n'ont pas été enregistrées et la diversité réelle des substances présentes dans les cires est sans doute plus élevée que ce qui est indiqué précédemment ;
- les limites de la recherche bibliographique (notamment des mots-clés utilisés). Des publications supplémentaires ont été trouvées et utilisées *a posteriori* (Jabot et al. 2015; Daniele et al. 2018; Bischoff, Baert, et McArt 2023) ;
- le fait que la dénomination du contaminant « amitraz » varie selon les études entre « amitraz » ; « amitraz et ses métabolites » et chaque métabolite : « DMA », « DMF », « DMPF » ;
- le fait que les teneurs moyennes de substance, qui, selon les publications, ont été calculées sur le nombre total d'échantillons analysés ou sur le nombre total des échantillons positifs pour la substance ;
- le fait que les substances recherchées et étudiées peuvent être enregistrées comme médicament vétérinaire apicole, biocide, produit phytopharmaceutique et/ou médicament vétérinaire à destination d'autres espèces que les abeilles mellifères. De nombreuses substances peuvent être enregistrées pour plusieurs types d'usages. L'absence d'une base de données unique alourdit considérablement la recherche d'informations fiables sur les molécules concernées, et augmente aussi les risques d'erreurs. De plus, certaines ont été autorisées et ne le sont plus, pour un usage ou un autre, mais la traçabilité par rapport à ces informations (dates d'obtention ou de retrait des autorisations) n'est pas disponible sur tous les sites officiels d'autorisation des substances qui doivent être consultés ;
- le choix des ETM, chaque auteur se fondant sur une définition et un classement particulier des ETM, susceptibles de varier d'un auteur à l'autre ;

- l'absence d'article permettant d'évaluer les effets des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) ou des per- et polyfluoroalkylées, plus connus sous le nom de PFAS. La plupart des articles sont consacrés aux effets sur les êtres humains. En outre, les méthodes de détection et de quantification de ces substances ne sont pas appliquées sur la cire. Par exemple, l'avis de l'EFSA (European Food Safety Authority (EFSA) 2020) envisage les HAP mais uniquement pour leurs effets sur les êtres humains.

Ce grand nombre d'incertitudes montre la nécessité de mettre en place des règles communes visant une homogénéité de la présentation des résultats dans les publications sur le sujet, ainsi que des données brutes disponibles, qui permettraient de mieux les exploiter par la suite.

5.1.2 Méthodes de laboratoire pour la recherche de substances chimiques dans la cire

La cire est composée essentiellement d'acides gras et d'hydrocarbures qui confèrent à cette matrice des propriétés lipophiles. De ce fait, les substances apolaires, comme le sont par exemple la plupart des acaricides, s'accumulent dans la cire qui capte les molécules liposolubles (Bogdanov, Kilchenmann, et Imdorf 1998; Adamczyk et al. 2010; Calatayud-Vernich et al. 2019; Alkassab et al. 2022). Des méthodes d'analyses en laboratoire sont donc mises en place pour extraire, identifier et doser les contaminants chimiques qui peuvent être présents dans la cire. Mais l'analyse de cette matrice s'avère complexe à réaliser. Elle consiste à récupérer les résidus liposolubles recherchés (cf. Tableau 25) tout en éliminant le plus possible les impuretés : matières grasses et traces de caroténoïdes (Niell et al. 2015), qui pourraient interférer lors de l'analyse quantitative des contaminants réalisée par chromatographie (Amulen et al. 2017). En conséquence, la préparation de l'échantillon de cire au laboratoire comprend plusieurs étapes d'extraction et de purification préalablement au dosage des contaminants chimiques.

Tableau 25 : Caractéristiques lipophiles de quelques contaminants chimiques (Sources : *Pesticides Properties DataBase* (PPDB), *Veterinary Substances DataBase* (VSDB), *Biopesticides DataBase* (BPDB) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) classés par ordre décroissant de lipophilie

Substance chimique	Solubilité dans l'eau à 20°C (mg/L)	Coefficient de partage octanol/eau log P _{o/w} (à 20°C) *	Caractère lipophile	Solubilité des résidus dans matières grasses
streptomycine	1 000 000	-7,50	Très faible	Pas de donnée
glyphosate	100 000	-6,28	Très faible	Insoluble
tétracycline	1 700	-1,30	Faible	Pas de donnée
acide oxalique	100 000	-0,81	Faible	Pas de donnée
nitenpyram	570 000	-0,66	Faible	Pas de donnée
dinotefuran	39 830	-0,55	Faible	Pas de donnée
acide formique	1 000 000 (à 25°C)	-0,54	Faible	Pas de donnée
sulfathiazole	Insoluble	0,05	Faible	Pas de donnée
imidaclopride	610	0,57	Faible	Pas de donnée
diméthoate	25 900	0,75	Faible	Insoluble
acétamipride	2 950	0,80	Faible	Insoluble
clothianidine	327	0,91	Faible	Pas de donnée
chloramphénicol	2 500	1,14	Faible	Pas de donnée
thiaclopride	184	1,26	Faible	Insoluble
bénomyl	2	1,40	Faible	Pas de donnée

Substance chimique	Solubilité dans l'eau à 20°C (mg/L)	Coefficient de partage octanol/eau log P _{ow} (à 20°C) *	Caractère lipophile	Solubilité des résidus dans matières grasses
carbendazime	8	1,48	Faible	Insoluble
pyrimicarbe	3 100	1,70	Faible	Insoluble
carbofuran	322	1,80	Faible	Insoluble
thirame	18	1,84	Faible	Insoluble
N,N-diéthyl-3-méthylbenzamide (DEET)	Insoluble	2,02	Faible	Pas de donnée
azoxystrobine	6,7	2,50	Faible	Insoluble
captan	5,2	2,50	Faible	Insoluble
hexythiazox	0,1	2,67	Faible	Pas de donnée
malathion	148	2,75	Modéré	Insoluble
pyrimethanil	110	2,84	Modéré	Insoluble
boscalid	4,6	2,96	Modéré	Soluble
iprodione	6,8	2,99	Modéré	Insoluble
fluopyram	16	3,30	Modéré	Insoluble
fénitrothion	19	3,32	Modéré	Pas de donnée
thymol	596	3,44	Modéré	Pas de donnée
lindane	8,52	3,50	Modéré	Soluble
tébuconazole	36	3,70	Modéré	Probablement soluble
methoxyfenozone	3,3	3,72	Modéré	Soluble
chlorfenvinphos	145	3,80	Modéré	Soluble
diphénylamine	25,8	3,82	Modéré	Pas de donnée
coumaphos	1,5	3,86	Modéré	Pas de donnée
cyprodinil	13	4,00	Modéré	Soluble
fénoxycarbe	7,9	4,07	Modéré	Soluble
spinosad	7,6	4,10	Modéré	Soluble
abamectine	0,02	4,40	Élevé	Soluble
deltaméthrine	0,0002	4,60	Élevé	Soluble
penthiopyrad	1,375	4,62	Élevé	Insoluble
chlorpyrifos	1,05	4,70	Élevé	Soluble
cyclufénamid	0,52	4,70	Élevé	Soluble
endosulfan	0,32	4,75	Élevé	Soluble
pipéronyl butoxyde	14,3	4,75	Élevé	Pas de donnée
spirodiclofen	0,05	5,10	Élevé	Soluble
bromopropylate	0,1	5,40	Élevé	Soluble
pentachloroanisole	Insoluble	5,45	Élevé	Pas de donnée
amitraze	0,1	5,50	Élevé	Pas de donnée
lambda-cyhalothrine	0,005	5,50	Élevé	Soluble
cyperméthrine	0,009	5,55	Élevé	Soluble
fenpyroximate	0,021	5,70	Élevé	Soluble
propargite	0,215	5,70	Élevé	Soluble
methoxychlore	0,1	5,83	Élevé	Soluble
perméthrine	0,011	6,10	Élevé	Soluble
fluméthrine	200	6,20	Élevé	Pas de donnée

Substance chimique	Solubilité dans l'eau à 20°C (mg/L)	Coefficient de partage octanol/eau $\log P_{o/w}$ (à 20°C) *	Caractère lipophile	Solubilité des résidus dans matières grasses
acrinathrine	0,0022	6,30	Élevé	Soluble
pyridabene	0,022	6,37	Élevé	Soluble
tau-fluvalinate	0,00103	7,02	Élevé	Soluble

* : si le $\log P_{o/w}$ est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement, si le $\log P_{o/w}$ est négatif cela signifie que la molécule considérée est hydrophile. Un $\log P_{o/w}$ nul signifie que la molécule est aussi soluble dans un solvant que dans l'autre. La méthode des arbres de régression a permis de déterminer les groupes de substances statistiquement différents, selon leur $\log P_{o/w}$ identifiés par des couleurs : groupe 1 en rouge (très faible lipophilie), 2 en orange (faible lipophilie) ; 3 en jaune (lipophilie modérée) ; 4 en vert (lipophilie élevée).

Concernant l'analyse des ETM dans la cire, l'objectif est de détruire la matière organique et de dissoudre les éléments minéraux présents dans l'échantillon en vue de leur dosage. Différentes méthodes pour rechercher les substances chimiques et les ETM sont présentées ci-après (cf. 5.1.2.2).

5.1.2.1 Analyses de la présence des produits phytopharmaceutiques, des biocides et des médicaments vétérinaires dans la cire

Des méthodes d'analyse multirésidus sont mises en œuvre par les laboratoires afin de rechercher plusieurs contaminants chimiques ou différentes familles de contaminants chimiques simultanément dans un même échantillon. Pour la mise au point et la validation d'une nouvelle méthode d'analyse, les laboratoires peuvent rencontrer des difficultés pour disposer de cires témoins exemptes de résidus de substances contaminantes (Gil García et al. 2017; Calatayud-Vernich et al. 2019). En effet, certains contaminants chimiques sont présents et persistent dans la cire car ils ne se dégradent pas ou peu au cours du temps ou lors du recyclage de la cire (cf. Tableau 26) et d'autres, comme l'amitraz, sont instables dans la cire mais leurs métabolites peuvent être présents et persistants.

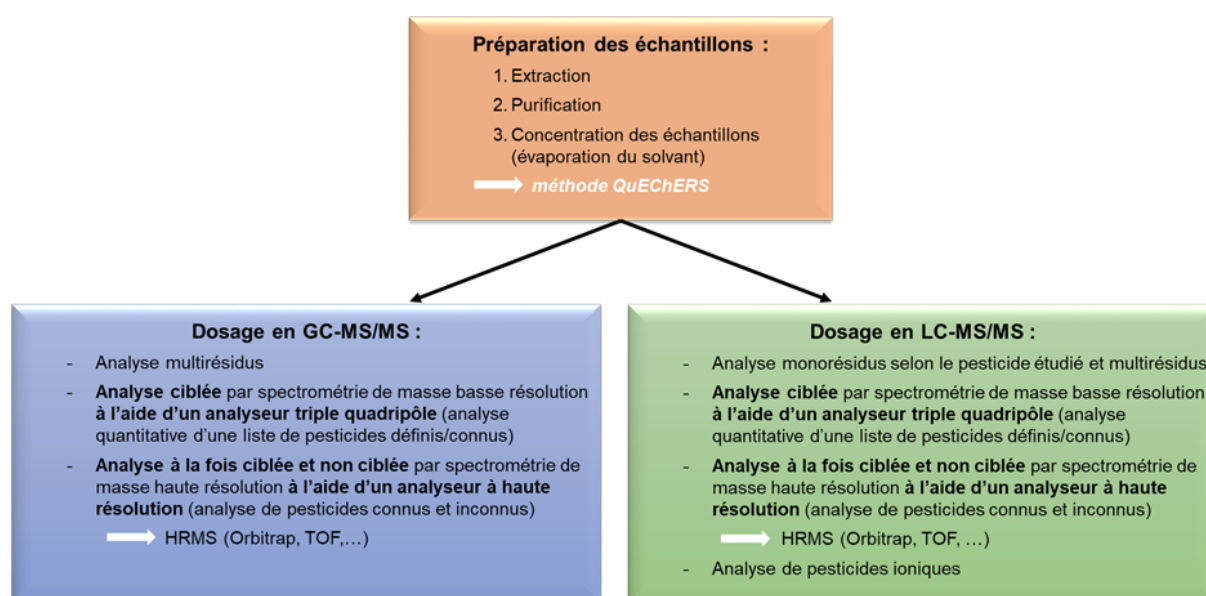
Tableau 26 : Classification des contaminants chimiques d'après leurs propriétés physico-chimiques et leur stabilité dans la cire (Wallner 1999; Calatayud-Vernich et al. 2019)

Composés non dégradés dans la cire	Composés métabolisés ou dégradés dans la cire
La plupart des molécules lipophiles dont le coumaphos, le tau-fluvalinate, le bromopropylate, la fluméthrine	amitraz

Afin de quantifier les résidus de contaminants chimiques présents dans une cire, différentes étapes de préparation de l'échantillon (congélation, centrifugation, extraction liquide/liquide, extraction liquide/solide) sont appliquées pour obtenir un extrait final le plus épuré possible de substances interférentes, tout en récupérant le maximum de résidus de contaminants chimiques recherchés.

Dans les études de suivi de contaminations des cires dans les ruches, les auteurs prélèvent des morceaux de cadres de 10 cm x 10 cm qui sont ensuite broyés (Bogdanov, Kilchenmann, et Imdorf 1998; Amulen et al. 2017). Une congélation de la cire permet de broyer plus facilement l'échantillon et de le rendre plus homogène pour la recherche des résidus. Sur cet échantillon homogénéisé, la quantité nécessaire à l'analyse (la prise d'essai) peut varier entre 0,5 g et 5 g selon la méthode d'analyse employée (Tableau 66, Annexe 6). L'étape suivante consiste à extraire les résidus de la cire à l'aide d'un solvant organique et de dissoudre la cire soit par chauffage à 70-80°C, soit par ultrasons, soit par agitation de l'échantillon (cf. Tableau 66). Afin

d'éliminer la matière grasse, une ou plusieurs étapes successives de congélation et/ou de centrifugation de l'extrait sont effectuées à température ambiante ou au froid négatif (-10°C). Les extraits sont ensuite purifiés sur phase solide en utilisant des cartouches SPE (*Solid Phase Extraction*) remplies de florisil par exemple, ou des tubes contenant une phase dispersive (dSPE) type PSA (*Primary Secondary Amine* : amine primaire/secondaire) et C18. La purification de l'extrait sur phase solide dispersive est basée sur la méthode QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe*) qui permet d'analyser un large panel de contaminants chimiques comme par exemple, les insecticides, les acaricides, les fongicides, les herbicides (cf. Figure 30). Le dosage est ensuite réalisé à l'aide de la chromatographie liquide (HPLC : *High Performance Liquid Chromatography*) et gazeuse (GC), technique séparative couplée à différents détecteurs selon les molécules à détecter (GC-ECD, GC-NPD, HPLC-DAD, HPLC-FLD)⁵⁸. En raison des faibles teneurs des contaminants susceptibles de se retrouver dans les échantillons, il est indispensable de disposer de méthodes d'analyse fiables, spécifiques et sensibles, capables de déterminer les différents résidus. Actuellement, les techniques les plus utilisées sont la chromatographie liquide et la chromatographie gazeuse couplées à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS et GC-MS/MS), techniques avec lesquelles les molécules sont identifiées et quantifiées (cf. Figure 31). La chromatographie en phase gazeuse s'applique aux molécules apolaires ou moyennement polaires, volatiles et thermostables. La chromatographie en phase liquide permet de résoudre les problèmes analytiques posés par les molécules plus polaires, non volatiles et thermosensibles. L'ESI (ionisation par électrospray) est une technique d'ionisation douce qui génère des ions moléculaires. Elle permet également d'obtenir des ions multichargés pour le dosage des macromolécules, comme les protéines. Le dosage des petites molécules comme les produits phytopharmaceutiques, les biocides et les médicaments vétérinaires est principalement effectué avec la source ESI, source d'ionisation la plus utilisée dans les laboratoires de routine, en raison de ses capacités de couverture étendue des composés.



QuEChERS : Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged and Safe ; **HRMS** : High Resolution Mass Spectrometry (spectrométrie de masse à haute résolution) ; **Orbitrap** : nom commercial de spectrométrie de masse à trappe orbitale ; **TOF** : Time of Flight (temps de vol) ; **GC-MS/MS** : gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem) ; **LC-MS/MS** : liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem)

Figure 30 : Les différentes étapes de l'analyse de résidus de contaminants chimiques (Source : GT Cires)

⁵⁸ ECD : détecteur à capture d'électrons ; NPD : détecteur azote-phosphore ; DAD : détecteur à barrette de diodes ; FLD : détecteur par fluorescence

Toute recherche de résidus de contaminants chimiques dans une matrice biologique nécessite plusieurs étapes de préparation en vue de l'analyse quantitative de ces résidus. Mais plus ces étapes sont nombreuses, plus le risque de perdre ces résidus augmente. Le dosage par des techniques chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse peut être également perturbé par des substances co-extraites persistantes dans l'extrait final obtenu. Ces impuretés peuvent interférer avec les résidus de contaminants à doser et potentiellement modifier la réponse du détecteur par des effets de matrices influençant la fiabilité de la détection. Ces effets de matrices (interactions entre les analytes d'intérêt et les composants autres de la matrice) entraînent, soit une augmentation du signal du résidu à doser, soit une diminution du signal du résidu à doser, ce qui impacte la quantification de ces résidus de contaminants. Afin d'éviter de rendre des résultats faussement négatifs ou faussement positifs, l'analyste doit déterminer l'impact de la matrice sur son analyse et mettre en place différents contrôles pour vérifier chacune des étapes du protocole de préparation de l'échantillon et du dosage analytique (cf. Tableau 27). Ces points de contrôle peuvent être par exemple :

- l'ajout d'un étalon interne dans tous les échantillons afin de vérifier si l'extraction s'est bien déroulée ;
- l'ajout d'échantillons supplémentés avec les substances à rechercher à des teneurs connues afin de vérifier le taux de récupération de ces substances.

Après avoir développé une méthode d'analyse de résidus (méthode mono ou multirésidus), l'analyste procède à sa validation pour caractériser les différents paramètres de sa méthode (exemples : guide Anses (Anses 2015a)⁵⁹ et document SANTE/11312/2021 v2⁶⁰) et répondre aux exigences des guides analytiques. Une fois la méthode validée, celle-ci est appliquée en routine sur les échantillons à analyser en respectant les critères d'acceptabilité définis (points de contrôle de la méthode).

Le laboratoire peut confronter sa méthode d'analyse en participant, lorsqu'ils existent, à des essais inter-laboratoires organisés par différents organismes certifiés et/ou des laboratoires de référence (nationaux et/ou européens). Les organisateurs de ces essais inter-laboratoires préparent des échantillons en les supplémentant à des teneurs connues en résidus de contaminants. Puis ces échantillons sont envoyés aux participants pour analyses. Les participants communiquent leurs résultats d'analyses puis reçoivent ensuite un bilan de leurs performances obtenues. Cependant, sur la matrice cire, aucun essai inter-laboratoire n'existe sur l'analyse des résidus de produits phytopharmaceutiques, biocides et médicaments vétérinaires.

⁵⁹ [ANSES_GuideValidation.pdf](#)

⁶⁰ https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-11/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf

Tableau 27 : Points à surveiller pour la préparation des échantillons de cire en vue du dosage des contaminants chimiques (Source : GT Cires)

Étapes	Points à surveiller
Préparation de la cire (homogénéisation, extraction, purification et concentration de l'extrait à doser)	- Conditions de stockage des échantillons avant analyse - Homogénéité du broyage - Stabilité de la molécule selon le pH, la température, le type de solvant utilisé - Contenant utilisé (exemple : pour l'analyse du glyphosate, éviter le verre) - Contamination de la verrerie, contamination croisée - Conditions de stockage des extraits avant dosage
Dosage (technique de dosage, contrôle de l'appareillage)	- Molécule volatile ou non - Molécule thermostable ou non - Colonnes chromatographiques (en GC et LC) - Qualité des phases mobiles (en LC) - Étalons certifiés - Conditions de stockage des solutions étalons - Contrôle des solutions étalons - Étalonnage de l'appareil - Effets de matrices - Dérive du détecteur - Répétabilité d'injections - Stabilité des molécules
Résultats (critères d'acceptabilité de la série analytique, expression du résultat)	- Limite de quantification - Rendement d'extraction - Étalon interne d'extraction - Incertitude de mesure

Chromatographie liquide (LC) et chromatographie gazeuse (GC)

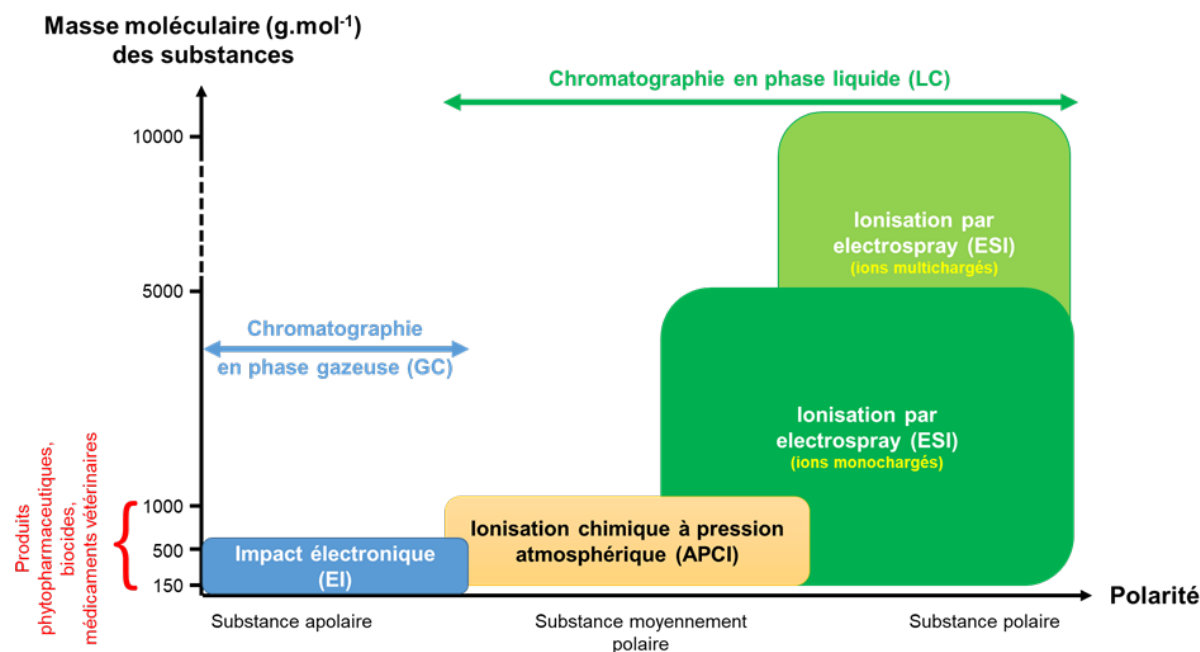


Figure 31 : Les différents modes d'ionisation en chromatographie couplée à la spectrométrie de masse et leurs applications selon la polarité des substances chimiques analysées (Source : GT Cires)

Les techniques d'analyses préférentiellement employées pour le dosage des contaminants chimiques sont présentées en Annexe 6 ; Tableau 69 pour quelques exemples de familles chimiques de contaminants recherchés dans la cire.

5.1.2.2 Analyses de la présence des éléments traces métalliques (ETM) dans la cire

Les analyses d'ETM sont réalisables sur différentes matrices (denrées alimentaires, sédiments, air, eau par exemple), mais peu d'études et de méthodes d'analyse ont été mises en place pour déterminer le niveau de contamination de la matrice cire. Les analyses des traces de métaux ont pour objet d'identifier et de quantifier les métaux et métaux lourds présents en très faibles quantités dans les échantillons biologiques. Des équipements d'analyse ultrasensibles sont requis pour mesurer ces très faibles quantités de résidus potentiellement toxiques après prétraitement de l'échantillon, en particulier, la minéralisation pour les échantillons solides.

Des méthodes de digestion ont été développées pour extraire ces métaux présents à l'état de traces dans des matrices complexes contenant une grande quantité de substances organiques ou autres composés. L'objectif de la préparation de l'échantillon, étape essentielle, est de détruire la matière organique et de dissoudre les métaux à doser afin de réduire les effets de matrice et autres interférences. Les éléments traces dont la teneur peut être déterminée à l'aide de la digestion acide, sont les métaux tels que l'aluminium, le cadmium, le chrome, le cuivre, le fer, le magnésium, le manganèse, le sélénium, le nickel, le zinc par exemple. Avant cette étape de minéralisation acide, il peut être nécessaire de prétraiter l'échantillon, par exemple, de fondre ou de broyer la cire afin d'obtenir un échantillon homogène (Tableau 67, Annexe 6). Après la digestion de l'échantillon, l'analyte est converti sous une forme adaptée où il peut être analysé par l'appareil d'analyse choisi.

Une étape importante est la validation de la méthode de minéralisation. Ceci implique qu'un matériau de référence certifié et/ou un échantillon supplémenté subisse le même traitement (Zafeiraki et al. 2022). Cela permet d'assurer et de contrôler la qualité de la méthode de préparation de l'échantillon et de déterminer le taux de récupération de chaque élément métallique dosé. La principale méthode de minéralisation des échantillons est la digestion avec un acide fort (souvent, de l'acide nitrique) ou avec un mélange d'acides forts en présence ou non d'un agent oxydant comme l'eau oxygénée. La digestion est assistée par micro-ondes en utilisant des réacteurs fermés en téflon. Cette technique utilisant des contenants fermés permet de réduire la perte des ETM par volatilisation, de contrôler la température et la pression dans les réacteurs et enfin de réduire les risques de contamination provenant de l'extérieur.

Les techniques classiques utilisées pour l'analyse d'ETM sont la spectrométrie d'absorption atomique (AAS : *Atomic Absorption Spectroscopy*), la spectrométrie à émission optique sur plasma à couplage inductif (ICP-OES : *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*) et la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS : *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*) ainsi que la fluorescence X (Végh et al. 2023b). Le choix de la technique d'analyse d'un métal dans une matrice déterminée doit prendre en compte sa composition, ses réactions potentielles et la présence d'éléments interférents. La principale technique de dosage élémentaire employée ces dernières années est l'ICP-MS, car, pour la majorité des éléments, elle est plus sensible, elle est linéaire sur une très grande étendue de mesure et elle peut être considérée comme une technique multi-élémentaire même si les éléments sont mesurés séquentiellement (Poupon 2021). Elle est basée sur la séparation des éléments sous forme ionisée dans un spectromètre de masse en fonction de leur rapport masse sur charge noté m/z (cf. Tableau 28). L'extrait acide obtenu lors de la minéralisation par micro-ondes est introduit par vaporisation au plasma d'argon puis placé à très hautes températures lors

de l'analyse par ICP. Ces excitations thermiques entraînent des phénomènes d'ionisation et de séparation des éléments, permettant ainsi de caractériser et de détecter chaque élément selon les analyseurs utilisés.

Tableau 28 : L'analyse par ICP (*Inductively Coupled Plasma*)

ICP couplé à un spectromètre à émission atomique	ICP couplé à un spectromètre de masse
ICP-AES ou ICP-OES : appareil qui mesure les longueurs d'ondes émises par les ions.	ICP-MS ou ICP-MS/MS : appareil d'analyse des éléments selon leurs charges et masse. Il existe quatre types d'ICP-MS : quadripolaire (Q-ICP-MS), à secteur magnétique appelé aussi haute résolution (HR-ICP-MS), à temps de vol (TOF-ICP-MS) et multicollecteur (MC-ICP-MS).
Sensibilité élevée : appareil utilisé pour l'analyse de teneurs élevées et moyennes (par exemple : 0,1 à 100 µg/kg selon l'élément à doser).	Sensibilité très élevée : appareil utilisé pour l'analyse de traces et d'ultra-traces (par exemple : 0,001 à 1 µg/kg selon l'élément à doser).
Analyses quantitatives d'éléments minéraux et de traces d'éléments appliquées dans le cadre de contrôle de qualité (industriel).	Analyses quantitatives de traces et d'ultra-traces appliquées dans les domaines de l'environnement, de l'alimentaire et du pharmaceutique.

ICP-AES ou ICP-OES car il s'agit de la même technique.

ICP-OES : *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry* (spectrométrie d'émission optique à plasma à couplage inductif).

ICP-AES : *Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry* (spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif).

ICP-MS : *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry* (spectrométrie de masse à plasma à couplage Inductif).

5.1.2.3 Analyses de la présence d'autres contaminants chimiques potentiels dans la cire

D'autres contaminants chimiques peuvent se retrouver dans l'environnement et la chaîne alimentaire, comme les résidus d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), de substances per- et polyfluoroalkylées (PFAS) et de dioxines et furanes (cf. Tableau 29). Ces substances chimiques peuvent se retrouver dans la ruche et contaminer indirectement la cire. Cependant, de trop rares études ont été mises en place sur l'analyse des résidus de ces substances dans la cire.

Tableau 29 : Caractéristiques lipophiles des HAP, PFAS, dioxines et furanes (Sources : *Pesticides Properties DataBase* (PPDB), *Veterinary Substances DataBase* (VSDB), *Biopesticides DataBase* (BPDB) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Substance chimique	Solubilité dans l'eau à 20°C (mg/L)	Coefficient de partage octanol/eau log P _{o/w} (à 20°C)	Caractère lipophile	Solubilité des résidus dans matières grasses
naphtalène	Très faible	3,30	Élevé	-
anthracène	Insoluble	4,45	Élevé	Soluble
fluoranthène	Insoluble	5,16	Élevé	Soluble
chrysène	Très faible	5,73	Élevé	-
acide perfluorooctanoïque (PFOA)	Insoluble	6,30	Élevé	-
sulfonate de perfluorooctane (PFOS)	519	Non mesurable (plusieurs couches dans le mélange octanol/eau)	-	-
polychlorodibenzo-furanes (PCDF) – exemple du 2,3,7,8-TCDF	0,0000419	6,53	Élevé	Soluble
polychlorodibenzo-p-dioxines (PCDD) – exemple du 2,3,7,8-TCDD	0,0000193	6,80	Élevé	Soluble

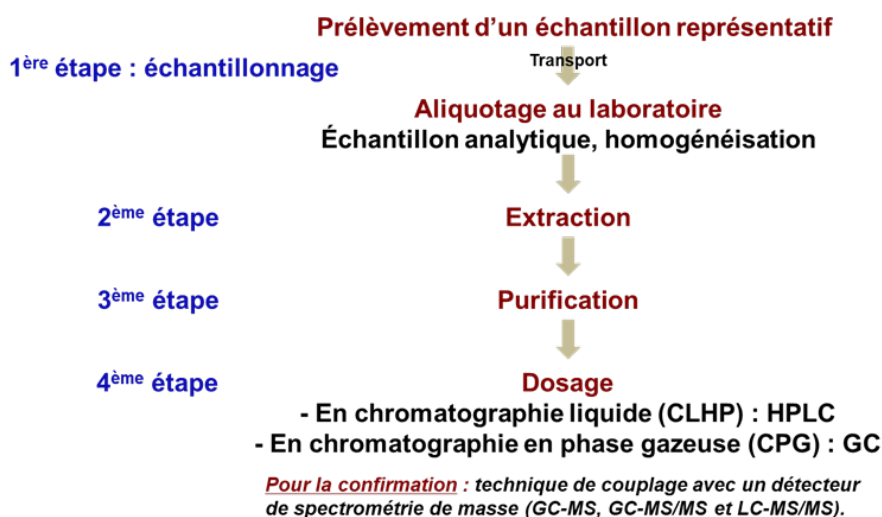
- : pas de donnée

S'agissant des dioxines et PCB dans la cire d'abeilles, trop peu d'études leur ont été consacrées dans la littérature. Par conséquent, ces substances n'ont pas fait l'objet d'extraction et d'analyse des données dans le cadre de ces travaux.

5.1.2.4 Limites et incertitudes des méthodes d'analyses et des résultats de laboratoire sur la matrice cire

La chimie analytique est un des outils majeurs de la démarche scientifique employée au laboratoire pour déterminer la présence d'un contaminant dans un échantillon et le quantifier le cas échéant. La cire d'abeilles est une matrice apicole qui est de plus en plus analysée lors de mortalités anormales d'abeilles. Cependant, peu de laboratoires sont capables de répondre à cette demande.

Le dosage d'un contaminant consiste en une série d'étapes allant du prélèvement au rendu du résultat (cf. Figure 32). Chaque étape est bien codifiée et contrôlée.



GC-MS/MS : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

Figure 32 : Description du processus analytique en vue du dosage d'un contaminant dans la cire d'abeilles (Source : GT Cires)

Dans le processus analytique, il est important d'identifier toutes les sources d'erreurs possibles qui peuvent nuire aux performances de la méthode d'analyse (cf. Tableau 68, Annexe 6).

L'incertitude d'un résultat analytique en laboratoire est liée aux phases suivantes :

- opérations externes : échantillonnage, emballage/conditionnement, transport et stockage des échantillons ;
- préparation de la prise d'essai : quantité d'échantillon, préparation de l'échantillon, homogénéisation ;
- analyse : extraction, purification, évaporation, dosage.

Chaque laboratoire travaillant sur la cire développe sa propre méthode d'analyse en interne. Les méthodes d'analyse employées sont fondées principalement sur le protocole QuEChERS pour les recherches multirésidus (cf. Figure 30). Les laboratoires peuvent développer des méthodes de performances techniques différentes et obtenir des résultats dissemblables.

Le laboratoire établit un protocole pour caractériser les performances de la méthode d'analyse quantitative en vue de sa validation. Il estime l'incertitude de mesure pour chaque contaminant recherché.

Le laboratoire met en place des procédures de contrôle qualité et vérifie périodiquement les critères de performances initialement établis. Il doit surveiller d'une part, la validité de ses résultats par l'intermédiaire des contrôles internes qu'il a mis en place et d'autre part, sa performance par des contrôles externes. La mise en œuvre de ces contrôles internes et externes doit être planifiée et revue par le laboratoire. Pour les contrôles internes, le laboratoire peut recourir à des échantillons supplémentés à différents niveaux (LQ et autre niveau pertinent). Cependant, pour la cire, il est difficile d'obtenir des matrices blanches (témoins) exemptes de résidus de contaminants. Il est donc indispensable d'avoir recours à des cires blanches construites par les abeilles. Concernant les contrôles externes, la participation du laboratoire à un essai inter-laboratoires permet de confronter sa méthode à celles des autres laboratoires. Cependant, sur la matrice cire, aucun essai inter-laboratoires n'existe sur l'analyse des résidus de produits phytopharmaceutiques, biocides et médicaments vétérinaires.

Le risque d'obtenir des résultats variables entre plusieurs laboratoires peut être dû à l'échantillonnage (par exemple, prélèvements différents et hétérogènes envoyés aux laboratoires) et aux méthodes de préparation et d'analyse employées par les laboratoires (par exemple, liste de contaminants recherchés et limites de quantification différentes, incertitudes de mesure variables pouvant être supérieures à 50 % pour certaines molécules quantifiées). Ces différentes étapes et procédures peuvent impacter le résultat rendu. Par conséquent, l'interprétation des résultats et la comparaison des données obtenues entre plusieurs études est rendue délicate si les informations et les étapes de préparation des échantillons ne sont pas connues en amont de l'analyse et harmonisées.

Les experts ont constaté durant leurs travaux que plusieurs points sont encore aujourd'hui à l'origine d'incertitudes sur les résultats délivrés par les laboratoires. Ils listent prioritairement les suivants :

- la situation particulière de la matrice cire, pour laquelle, contrairement au miel, il n'existe aucune normalisation ;
- aucun laboratoire en France n'est aujourd'hui accrédité pour la réalisation d'analyses dans la cire ; la plupart des laboratoires en France et en Europe réalisent ces analyses sur la cire sans être accrédités au moment de la rédaction de ce rapport ;
- certains laboratoires possèdent leurs méthodes internes, mais les essais inter-laboratoires manquent aujourd'hui pour comparer les performances de ces méthodes ;
- les résultats adressés au demandeur de l'analyse sont fournis, lorsqu'elle est précisée, avec une incertitude de l'ordre de 50 % (et parfois supérieure à 50 %) ;
- lors de l'étude de Martel et al. (2007), des prélèvements supplémentaires ont été réalisés chez un cirier pour suivre le devenir des résidus de coumaphos et de tau-fluvalinate, avant et après le processus de fabrication de la cire gaufrée, et pour déterminer la répartition de ces résidus dans les cires gaufrées. Ces prélèvements ont été effectués dans la cuve du cirier, sur des mélanges de cires liquides, et sur des cires gaufrées produites à partir de ces mélanges (trois échantillons de cire gaufrée analysés par mélange). Des résidus de coumaphos et de tau-fluvalinate ont été détectés dans ces mélanges de cires liquides, avec des teneurs variant de 0,49 à 2,12 mg/kg pour le coumaphos et de 0,54 à 2,07 mg/kg pour le tau-fluvalinate. Ces deux acaricides ont aussi été retrouvés dans les trois échantillons de cire gaufrée produite à partir de ces mélanges avec des teneurs allant de 0,96 à 2 mg/kg pour le coumaphos et de 0,13 à 2,91 mg/kg pour le tau-fluvalinate. Les résultats analytiques sont donc variables d'une cire gaufrée à l'autre (cires gaufrées

pourtant issues du même bain) et tout particulièrement pour le tau-fluvalinate, ce qui soulève la question de la répartition des résidus dans la matrice cire lors de son recyclage et de son échantillonnage pour analyse.

5.1.3 État des lieux de la contamination des cires en France : résultats des enquêtes conduites

En France, peu d'études représentatives ont été réalisées concernant la contamination par des résidus de substances chimiques et l'adultération de la cire d'abeilles (Chauzat et Faucon 2007; Daniele et al. 2018). Afin de compléter ces données et pour répondre aux objectifs de la saisine, le GT a utilisé trois sources de données différentes et complémentaires :

- les autocontrôles des ciriers : données de résultats d'analyses de laboratoire obtenues auprès de ciriers français, sur la base du volontariat ;
- l'étude Cimeqa⁶¹ (Cires – Méthodes d'Évaluation de leur Qualité pour l'Apiculture) : cires obtenues auprès d'apiculteurs professionnels dans le cadre d'une étude menée par l'ITSAP ;
- une CRD Anses (convention recherche et développement - projet financé par l'Anses dans le cadre du traitement de cette saisine) : cires obtenues auprès de différents professionnels et correspondant à des cires susceptibles d'être utilisées par des apiculteurs de loisir.

5.1.3.1 État des lieux de la contamination des cires provenant des autocontrôles fournis par les ciriers français

Dans le cadre de leurs autocontrôles, certains ciriers recourent périodiquement à des analyses de lots de cires, ce qui peut constituer une source d'informations sur les contaminations des cires françaises. Il a été proposé aux ciriers français de partager leurs données d'autocontrôles sous le couvert de l'anonymat. Cinq ciriers sur 15 sollicités ont accepté de partager leurs données et ont envoyé leurs résultats sous forme de fichiers Excel® ou de rapports d'analyse (format PDF). Les experts ont rassemblé ces données dans un fichier de calcul unique pour ensuite l'analyser. Les analyses chimiques des cires ayant été réalisées à la demande des ciriers, sans cadre réglementaire précis (la législation n'imposant aucune analyse), une hétérogénéité sur les données (provenance des échantillons analysés, laboratoires et paramètres mesurés) a été notée par les experts, ainsi que les critères de décision orientant vers l'analyse d'une cire pour autocontrôle. Ainsi, il n'a toutefois pas été possible d'obtenir des résultats d'analyses homogènes (différents laboratoires sollicités, différentes LD et LQ, différentes listes de molécules recherchées) et totalement comparables. Les résultats de cette étude ne sont donc pas représentatifs et doivent être interprétés avec prudence. Au total, 365 échantillons de cire ont fait l'objet d'analyses dans le cadre des autocontrôles de cinq ciriers français en vue de quantifier des substances chimiques contaminantes entre les années 2018 et 2023.

➤ **Nombre de substances chimiques par échantillon**

En moyenne, 11,4 substances chimiques (écart type = 7,9) sont détectées par échantillon avec une valeur médiane de 10 substances et un minimum et un maximum de respectivement 0 et 34

⁶¹ [CIMEQA | Ada Occitanie](#)

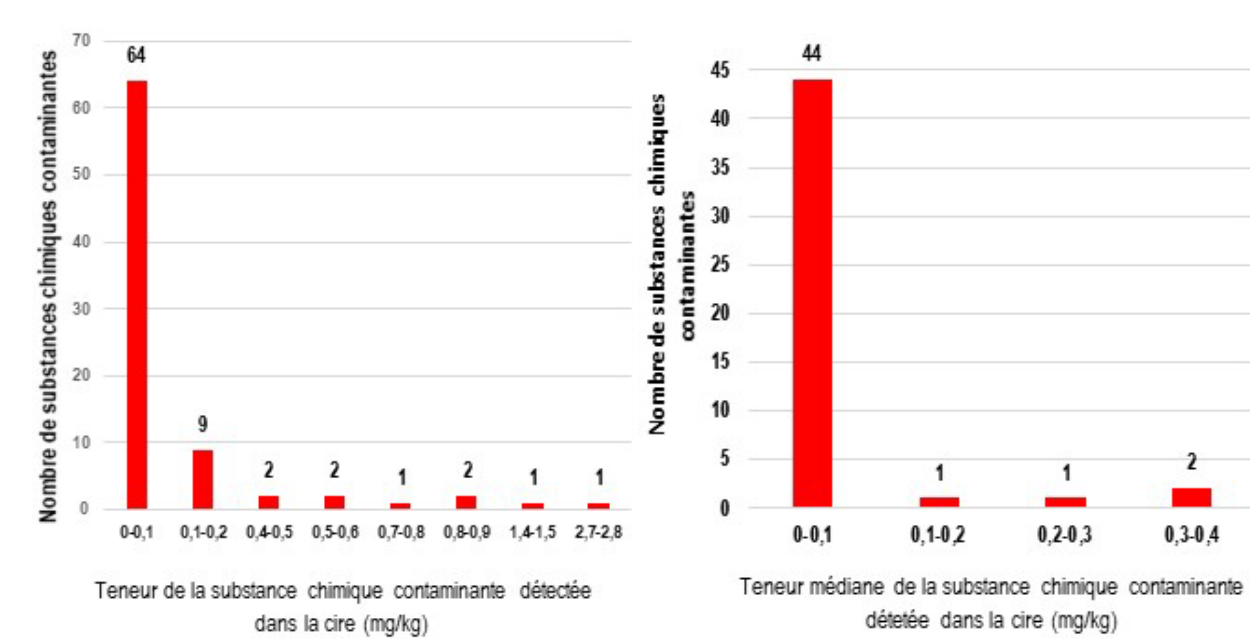
substances par échantillon. Dans 41 échantillons (11 %) aucune des substances chimiques recherchées n'a été retrouvée.

➤ Quantification des substances chimiques dans les échantillons analysés

Parmi 510 substances chimiques recherchées au total (nombre de substances recherchées variable en fonction du laboratoire sollicité pour l'analyse) dans les 365 échantillons testés, 83 ont été détectées. Les substances chimiques les plus fréquemment rencontrées (> 100 occurrences), étaient, par ordre décroissant d'occurrence : le tau-fluvalinate (n = 270), le coumaphos (n = 232), l'amitraz et ses métabolites (n = 215), le PBO (pipéronyl butoxyde) [substance à effet synergique] (n = 176), la cyperméthrine (n = 140), la perméthrine (n = 136), le propargite (n = 134) et le chlorpyrifos (n = 110).

➤ Teneurs moyennes et médianes de substances chimiques contaminantes

Pour chaque substance chimique contaminante détectée dans les cires, une teneur moyenne et une teneur médiane (cf. Figure 33) ont été calculées pour respectivement 82 et 48 cires⁶². Les teneurs moyennes et médianes sont le plus souvent comprises entre 0 et 0,1 mg/kg. Les teneurs moyennes et médianes les plus élevées l'ont été respectivement pour le quinzène (moyenne de 2,8 mg/kg) et le coumaphos (médiane de 0,36 mg/kg).



Légende : les chiffres figurant au-dessus des barres de l'histogramme correspondent au nombre d'échantillons concernés

Figure 33 : A gauche : teneur moyenne en mg/kg des substances chimiques trouvées dans 82 échantillons de cire d'abeilles. A droite : teneur médiane en mg/kg trouvés dans 48 échantillons de cire d'abeilles (Source : données d'autocontrôles réalisés par les ciriers en France)

⁶² Le nombre de valeurs retenues pour calculer la moyenne et la médiane est différent. Lorsqu'une seule valeur quantifiée était disponible pour une substance chimique donnée, le GT a assimilé cette valeur à une moyenne (pour avoir un point de comparaison grossier entre substances). Toutefois, il n'a pas souhaité utiliser cette valeur unique comme une médiane.

➤ Étude des profils de substances détectées

Pour identifier chaque échantillon en fonction des substances qui y ont été détectées, les experts ont mis en place une codification binaire : 0 si la substance est non détectée ; 1 si la substance est détectée. Ainsi, chaque échantillon est représenté par un code en fonction des substances qu'il contient (les substances étant classées dans le même ordre pour chaque échantillon). Cela a permis de mettre en évidence des profils communs, c'est-à-dire des échantillons contenant les mêmes substances contaminantes. Ainsi, neuf échantillons sur les 140 analysés au total contiennent 12 substances chimiques contaminantes identiques. De la même manière, les 28 mêmes substances chimiques contaminantes ont été mises en évidence dans sept échantillons. Il s'agit d'un élément indicateur d'une possible origine commune des cires analysées. Si la traçabilité en était connue, il serait alors possible de confirmer si ces cires présentaient ou non une origine commune.

Bilan de l'analyse des données issues des autocontrôles

Des résultats des autocontrôles réalisés par les ciriers sur les échantillons de cire d'abeilles, il ressort que le nombre de substances chimiques quantifiées allait de 0 à 34 avec une médiane de 10 par échantillon. Les 15 substances les plus fréquemment quantifiées et les 15 substances dont la teneur moyenne était la plus élevée sont répertoriées dans le Tableau 30. Pour environ 10 % des échantillons de cire, aucune substance n'a été détectée mais il est important de rappeler que l'encodage des données issues de ces autocontrôles ne permettait pas forcément de savoir, en l'absence de détection, si la molécule avait été effectivement recherchée (ou non) (ce qui implique une possible surévaluation de cette part de cires indemnes). L'étude de ces résultats d'analyses d'autocontrôles démontre ainsi la très fréquente contamination des cires par des substances chimiques. Certaines d'entre elles sont particulièrement prévalentes, que ce soit en termes d'occurrence et/ou de teneur. L'élaboration d'un guide méthodologique à destination des ciriers pour la détermination d'un plan d'échantillonnage, la préparation des échantillons, la réalisation des analyses de laboratoire en vue de rechercher les substances contaminantes semble nécessaire afin d'homogénéiser ces pratiques d'autocontrôles.

Tableau 30 : Classement des quinze premières substances chimiques retrouvées dans les analyses des autocontrôles par rang d'occurrence et de teneur moyenne

Substance	Rang d'occurrence (% quantification)	P	B	V	Va	A	Substance	Rang (teneur moyenne*)	P	B	V	Va	A
tau-fluvalinate	1 (74,8)	P			Va	X	quintozène**	1 (2,8)	P				
coumaphos	2 (65,2)			V	Va		propargite	2 (1,405)	P	B			
amitraze (somme des métabolites)	3 (59,5)			V	Va	X	HCH bêta	3 (0,83)	P				
pipéronyl butoxyde	4 (48,8)	P	B	V		X	chlorpyriphos-méthyl	4 (0,815)	P				
propargite	5 (39,5)	P	B				coumaphos	5 (0,708)			V	Va	
cyperméthrine	6 (38,4)	P	B	V		X	tau-fluvalinate	6 (0,585)	P			Va	X
perméthrine	7 (37,5)	P	B	V		X	HCH alpha	7 (0,534)	P				
chlorpyriphos	8 (30,7)	P					pentachloroaniline (métabolite quintozone)	8 (0,46)	P				
pyridaben	9 (21,6)	P				X	dodine	9 (0,42)	P				X
acrinathrine	10 (20,3)	P	B		Va		pipéronyl butoxyde	10 (0,190)	P	B	V		X
DDT p,p' (somme)	11 (19,2)	P					perméthrine	11 (0,148)	P	B	V		X
deltaméthrine	12 (18,6)	P	B			X	amitraze (somme des métabolites)	12 (0,147)			V	Va	X
bromopropylate	13 (17,8)	P	B	V	Va		biphényle	13 (0,109)		B			
DEET	14 (17,3)	P	B			X	spirodiclofène	14 (0,108)	P				
lindane	15 (16,4)	P					bifenthrine	15 (0,106)	P	B			

Légende : La méthode des arbres de régression (cf. Annexe 10) a permis de déterminer les groupes de substances statistiquement différents identifiés par des couleurs : groupe 1 en rouge, 2 en orange ; 3 en jaune ; 4 en vert. Seules les quinze premières substances sont reprises ici, appartenant aux premiers groupes. En gras figurent les substances retrouvées parmi les quinze premières les plus fréquentes et les plus concentrées. A= autorisé en UE pour au moins l'un des usages au moment de la rédaction de ce rapport, notifié par le sigle : **X**; P=produits phytopharmaceutiques ; B=biocides ; V=médicaments vétérinaires ; Va= médicaments vétérinaires apicoles.

* : il faut noter que la moyenne est réalisée sur les échantillons dans lesquels une même substance a été détectée, elle est exprimée en mg/kg.

** : le quintozone est placé en rang 1 mais il faut noter qu'il ne s'agit que d'un seul échantillon, la moyenne étant réalisée sur les échantillons dans lesquels une même substance a été détectée, elle est exprimée en mg/kg.

Limites et incertitudes de l'analyse des données des autocontrôles des ciriers

Les données collectées n'étant pas suffisamment documentées, il convient de remarquer que les conclusions issues des analyses réalisées ne peuvent pas être étendues à tous les ciriers de France. Une vision plus exhaustive de la situation a été réalisée dans le cadre de l'étude CRD (cf. 5.1.3.3).

Il n'existe pas de normes, ni de bonnes pratiques pour les ciriers au regard de la qualité des cires utilisées, les autocontrôles sont basés sur le volontariat. Chaque cirier possède son protocole d'échantillonnage et de prélèvements, réalise ses analyses selon ses propres motifs, choisit ses laboratoires d'analyses et en conséquence les substances recherchées, et les LD et LQ respectives.

Les résultats des autocontrôles transmis au groupe de travail ont été recueillis sur la base du volontariat (cinq répondants). Les résultats transmis sont liés à la saisie par différents opérateurs sur laquelle aucune maîtrise n'est possible, ni aucune garantie de l'homogénéité de saisie de ces résultats. En outre, la liste précise des substances recherchées pour chaque échantillon ne peut être formellement établie, et est à l'origine d'une incertitude importante par rapport à ce jeu de données. En effet, la diversité d'encodage des données dans les fichiers reçus ne permettait pas de savoir avec certitude, pour certaines substances et analyses, si la substance était considérée comme absente (ou plutôt, à une teneur trop basse pour être détectée, c'est-à-dire en dessous des seuils de détection) ou non recherchée.

5.1.3.2 État des lieux de la contamination des cires provenant des apiculteurs professionnels : étude Cimeqa de l'ITSAP (Cires – Méthodes d'Évaluation de leur Qualité pour l'Apiculture)

Le réseau des ADA et l'ITSAP ont réalisé une étude dénommée Cimeqa⁶³, auprès des apiculteurs professionnels français, entre 2021 et 2023, afin de faire un état des lieux de la qualité de leurs cires. Un total de 345 échantillons a fait l'objet d'analyses et d'une saisie centralisée dans une base de données.

En parallèle de l'envoi d'échantillons de leurs cires, les apiculteurs participants ont renseigné un questionnaire quant à :

- leur mode de production : conventionnel ; en conversion ; sous label AB ;
- la nature de la cire à partir de laquelle les feuilles de cire gaufrée ont été confectionnées : opercules de hausse ; mélanges d'opercules et de brèches ; inconnue ;
- la provenance de la cire : issue de l'exploitation ; d'un groupement d'apiculteurs ; du commerce.

Parmi les apiculteurs enquêtés dans le cadre de Cimeqa, ceux pratiquant une apiculture conventionnelle sont majoritaires (65,5 %) et représentent plus du double des apiculteurs pratiquant une apiculture sous label AB (29 %), les autres apiculteurs étant en conversion vers une apiculture labellisée AB. Une majorité (57,7 %) emploie uniquement des feuilles gaufrées confectionnées à partir de cire d'opercules. La plupart des apiculteurs répondants sont autosuffisants en cire sur leur exploitation (70,7 %) et l'achat de cire dans le commerce n'est un recours que pour une faible partie d'entre eux (15,7 %), certains achètent aussi leurs cires auprès de collègues apiculteurs (14,6 %).

Les indicateurs pris en compte pour cette étude ont été les suivants : nombre de substances, teneur totale (soit la somme des teneurs de chaque substance dans un échantillon), teneur moyenne et teneur médiane. La teneur moyenne ou médiane désigne la moyenne ou la médiane des teneurs totales de tous les échantillons dans lesquels a été détectée la substance.

➤ **Nombre de substances chimiques par échantillon**

Sur un total de 345 cires analysées issues de 323 apiculteurs⁶⁴, 95,7 % sont contaminées par au moins un résidu. Les résultats font apparaître une diversité de 83 résidus différents parmi lesquels

⁶³ Cimeqa pour Cires – Méthodes d'évaluation de leur Qualité pour l'Apiculture, piloté par l'ITSAP-Institut de l'abeille. Lauréat de l'appel à projet FranceAgrimer Expérimentation (2021-2023), il réunit les associations de développement apicole de six régions de France (ADA). <https://itsap.asso.fr/articles/dossier-special-projet-cimeqa?fbclid=IwAR3yrQUOZ65mZ2IWWullg-86NVZyzFSDjxPXerkUQ4W9dRg9dMrr2fAgEJE>

⁶⁴ Treize paires d'échantillons provenaient d'un même apiculteur. Un autre apiculteur avait également fourni trois échantillons, un autre quatre échantillons et un dernier cinq échantillons. Pour obtenir la base de données de 345 échantillons, les doublons ont été supprimés : les échantillons similaires entre eux en termes de critères (nature, mode de production) et qui appartenaient à un même apiculteur. Ceux qui se distinguaient par au moins un de ces critères ont été conservés, les autres ont subi une sélection aléatoire.

on dénombre 25 fongicides, 20 insecticides, 21 substances qui possèdent une double activité insecticide et acaricide, deux acaricides et 13 herbicides.

Si un grand nombre de substances a été quantifié (83 au total), elles ne sont pas toutes retrouvées à la même fréquence. Deux substances ont été quantifiées plus d'une fois sur deux dans la cire : le tau-fluvalinate et le coumaphos. Trois substances l'ont été dans plus de 110 échantillons (soit 32 % des échantillons) : le DMF (métabolite de l'amitraz), le PBO (synergisant) et le propargite. Cinq autres substances ont été retrouvées dans plus de 10 % des échantillons : fluopyram, boscalide, DEET, pentachloroanisole et fenpyroximate. Enfin, 72 autres substances sont plus rarement retrouvées dont 56 dans moins de 2 % des 345 échantillons de cire analysés. Ces résultats traduisent la grande diversité possible de mélanges incluant parfois dans leur composition des substances qui ne sont plus utilisées en France, comme l'acaricide coumaphos, le fongicide diphénylamine ou l'insecticide lindane. Des substances hautement toxiques pour les abeilles, telles que les insecticides perméthrine et fluméthrine sont aussi identifiées, dans respectivement 7,5 et 6,4 % des échantillons.

➤ Teneur moyenne des substances chimiques

La plupart des substances retrouvées le sont à des teneurs moyennes inférieures à 0,1 mg/kg. Les teneurs maximales peuvent néanmoins dépasser le mg par kg, voire atteindre plusieurs dizaines de mg par kg. C'est le cas pour le coumaphos (35 mg/kg), le tau-fluvalinate (9,8 mg/kg) et le chlorfenvinphos (2,1 mg/kg), trois substances incluses dans des traitements acaricides encore autorisés pour la lutte contre *V. destructor* dans certains pays européens. Le propargite, acaricide qui n'est plus autorisé en France en tant que produit phytopharmaceutique, depuis 2011, est aussi retrouvé à forte teneur (30 mg/kg), de manière fréquente (45,8 % des échantillons) et à une teneur moyenne de 0,91 mg/kg. Ce phénomène interroge car le propargite ne rentre dans la composition d'aucun médicament recensé parmi les moyens de lutte contre la varroose et n'est pas autorisé, que ce soit pour une utilisation en tant que phytopharmaceutique, ou en tant que biocide. Sa présence reste donc énigmatique et préoccupante, d'autant que très peu de références toxicologiques existent quant à ses potentiels effets délétères sur la santé des abeilles adultes et du couvain.

Les 15 substances les plus fréquemment quantifiées et les 15 substances dont la teneur moyenne était la plus élevée sont répertoriées dans le Tableau 31.

➤ Contamination et mode de production de la cire

Les indicateurs étudiés pour l'émission du danger (le nombre de substances, la teneur moyenne de chaque substance) ainsi que la teneur totale, (c'est-à-dire la somme des concentrations de chaque substance dans un échantillon) sont largement favorables à la cire employée par les apiculteurs travaillant sous le label AB. Le nombre de résidus médian pour cette catégorie de cire est d'environ trois résidus par échantillon, soit 1,7 fois moins que le nombre de substances chimiques médian quantifié par échantillon de cires provenant d'apiculteur travaillant en système conventionnel. De plus la teneur totale de résidus est plus de trois fois inférieure à celle retrouvée dans la cire conventionnelle. Ainsi, même si elle n'est pas forcément exempte de toute contamination, la cire AB se distingue de la cire conventionnelle par une qualité toxicologique bien meilleure qui reflète vraisemblablement les efforts consentis en termes d'intrants, de choix d'emplacements et de recyclage de cire par les apiculteurs convertis à la certification AB. Il convient toutefois de nuancer ce constat puisque le thymol n'a pas été recherché dans les analyses conduites pour l'étude Cimeqa. Or, il s'agit de la seule substance autorisée (avec les acides oxalique et formique) en apiculture sous le label AB. Le chapitre suivant (cf. 5.1.3.3)

consacré à une autre étude de terrain française montre que le thymol se situe parmi les premières molécules en termes de rang d'occurrence et de teneur.

➤ Contamination et pratiques d'approvisionnement

En matière de qualité toxicologique, il existe une forte disparité entre les apiculteurs autosuffisants, qui utilisent des feuilles gaufrées constituées de cires issues de leur exploitation, et ceux qui ont recours à des cires gaufrées achetées dans le commerce. Ces dernières renferment en médiane neuf résidus par échantillon, alors que les feuilles employées par les apiculteurs autosuffisants en cire en contiennent 3,5, soit 2,3 fois moins. L'écart est encore plus marqué si l'on se fonde sur l'indicateur de teneur totale (somme des teneurs de chaque substance dans un échantillon). Celui-ci indique en effet que la teneur totale de substances chimiques dans les cires issues des exploitations est de 0,14 mg/kg contre 1,8 mg/kg pour les cires issues du commerce, c'est-à-dire une quantité de résidus en moyenne presque treize fois plus élevée. La troisième catégorie de feuilles de cire gaufrées, qui correspond à celles confectionnées à partir de pains de cires collectés par des regroupements d'apiculteurs professionnels, se situe à un niveau intermédiaire : elle présente une meilleure qualité que les cires provenant du commerce mais dans une proportion moindre que celle des cires qu'utilisent les apiculteurs autosuffisants.

➤ Contamination et nature de la cire

Les indicateurs utilisés par l'ITSAP pour estimer la qualité chimique de la cire sont tous favorables à la cire d'opercules (dans ce rapport sont présentés les deux indicateurs : nombre de substance(s) et teneur moyenne en substance(s)). Celle-ci renferme en médiane trois résidus par échantillon et une teneur totale de résidus en médiane de 0,13 mg par kg de cire. Ces valeurs sont respectivement 1,7 fois et 2,1 fois inférieures aux valeurs de ces mêmes indicateurs calculés pour les feuilles gaufrées issues de mélanges de cire de brèches et d'opercules.

Comme déjà observé auparavant, le mode de production des exploitations influence aussi la qualité des cires d'opercules. En comparant la qualité des cires d'opercules issues d'exploitations en système de production AB et celles issues d'exploitations pratiquant l'apiculture conventionnelle, les résultats révèlent que la cire d'opercules issue des exploitations en conventionnel contient deux fois plus de substances pour une teneur totale médiane 2,1 fois plus élevée que la cire d'opercules issue d'exploitations en AB.

Bilan de l'analyse des données de l'étude Cimeqa

Une grande variabilité de contaminations entre les différents types de cires est observée. La meilleure qualité est généralement retrouvée pour les cires issues d'exploitations labellisées AB, et en particulier lorsque ces cires sont issues du recyclage exclusif de cire d'opercules de hausse. La cire d'opercules, qu'elle soit issue d'exploitation AB ou conventionnelle, peut toutefois être également contaminée. La mise en commun de lots individuels de cires présentant des volumes insuffisants pour être pris en charge isolément par les ciriers, peut être aussi une alternative à l'achat de cire dans le commerce, par le gaufrage personnalisé du lot commun.

Tableau 31 : Classement des quinze substances chimiques retrouvées dans les analyses de l'étude Cimeqa par occurrence et teneur moyenne

Substance	Rang occurrence (% quantification)	P	B	V	Va	A	Substance	Rang (teneur moyenne*)	P	B	V	Va	A
tau-fluvalinate	1 (65,7)	P			Va	X	propargite	1 (0,906)	P	B			
coumaphos	2 (62,8)			V	Va		phtalimide	2 (0,51)	P				X
propargite	3 (45,7)	P	B				coumaphos	3 (0,420)			V	Va	
pipéronyl butoxyde	4 (33,0)	P	B	V		X	pirimiphos M	4 (0,417)	P				X
DMF	5 (32,1)			V	Va	X	tau-fluvalinate	5 (0,379)	P			Va	X
diphénylamine	6 (28,9)	P					S-421	6 (0,356)	P				X
fluopyram	7 (19,7)	P				X	pyriproxifène	7 (0,3)	P	B	V		X
boscalide	8 (18,5)	P				X	cinérine I	8 (0,28)	P	B			X
DEET	9 (15,6)		B	V		X	pyréthrine I	9 (0,255)	P	B	V		X
pentachloroanisole	10 (13,6)	P				X	tétraméthrine	10 (0,225)	P		V		x
fenpyroximate	11 (12,1)	P				X	pyroquilon	11 (0,225)	P				
lindane	12 (8,60)	P					chlorfenvinphos	12 (0,207)	P	B			
orthophenylphénol	13 (8,10)	P				X	pyrifénos	13 (0,2)	P				
chlorfenvinphos	14 (7,50)	P	B			X	cyperméthrine	14 (0,181)	P	B	V		X
perméthrine	14 (7,50)	P	B	V		X	terbutryne	15 (0,18)	P				

Légende : La méthode des arbres de régression (cf. Annexe 10) a permis de déterminer les groupes de substances statistiquement différents identifiés par des couleurs : groupe 1 en rouge, 2 en orange ; 3 en jaune ; 4 en vert. Seules les quinze premières substances sont reprises ici, appartenant aux premiers groupes. En gras figurent les substances retrouvées parmi les quinze premières les plus fréquentes et les plus concentrées. A= autorisé en UE pour au moins l'un des usages au moment de la rédaction de ce rapport, notifié par le sigle : **X** ; P=produits phytopharmaceutiques ; B=biocides ; V=médicaments vétérinaires ; Va= médicaments vétérinaires apicoles.

* : il faut noter que la moyenne est réalisée sur les échantillons dans lesquels une même substance a été détectée, elle est exprimée en mg/kg.

Limites et incertitudes de l'analyse des données de l'étude Cimeqa

La majorité des participants étant des apiculteurs professionnels fonctionnant avec un autoapprovisionnement en cire, cela constitue un biais dans le plan d'échantillonnage réalisé pour l'état des lieux de l'étude Cimeqa. Les échantillons recueillis pour cette étude l'ont été sur la base du volontariat des participants. Certaines régions comme la Normandie, par exemple, sont très faiblement, voire pas représentées du tout, seules six ADA ayant participé à cette étude. Les apiculteurs de loisir étant en déficit numérique dans cette étude, les résultats d'analyse de leurs cires sont peu connus. Ils se fournissent, pour la plupart, chez des ciriers et des distributeurs de matériel apicole ou récupèrent des feuilles de cire après avoir mis en commun le gaufrage de leur production sous l'égide d'une coopérative, d'un syndicat, ou d'un GDSA (groupement de défense sanitaire apicole). Pour combler ce manque d'informations, une étude complémentaire focalisée sur la cire distribuée dans le commerce a été réalisée dans le cadre de cette expertise par la mise en œuvre d'une convention recherche-développement liant l'ITSAP et l'Anses.

5.1.3.3 État des lieux de la contamination des cires provenant des apiculteurs de loisir : étude CRD (convention recherche et développement ITSAP-Anses)

Contexte et objectif de l'étude CRD

Une convention recherche développement a été établie entre l'Anses et l'ITSAP en 2023 dans l'objectif d'étudier la qualité des cires commercialisées par des distributeurs ou des groupements et principalement employées par les apiculteurs de loisir. Comme dit précédemment, cette étude vient donc compléter l'état des lieux réalisé par l'étude Cimeqa, lequel avait principalement pour objet la qualité des cires employées par les apiculteurs professionnels. En outre, afin de répondre aux questions de l'autosaisine, il était nécessaire de s'intéresser aux teneurs en ETM et en thymol des échantillons de cire qui seraient collectés. Le rapport complet de cette étude de terrain est accessible en rapport associé au présent rapport et mis à disposition sur le site de l'Anses. Le protocole de l'étude a été élaboré par le GT Cires de l'Anses qui a constitué un comité de pilotage tout au long de sa réalisation.

Échantillonnage et analyses

Une campagne d'échantillonnage a été réalisée entre avril et octobre 2023 auprès de quatre grands types de fournisseur de cires : les ciriers, les groupements d'apiculteurs, les enseignes spécialisées en apiculture et les enseignes générales (magasins de bricolage/ jardinerie).

Les ciriers et groupements, peu nombreux, ont fait l'objet d'au minimum une sollicitation. Pour les enseignes spécialisées et les enseignes générales, en revanche, cinq zones ont été définies sur le territoire français, sur la base de critères géographiques (régions administratives) et du nombre de colonies déclaré par les apiculteurs de loisir de ces régions (détenteurs d'un nombre de colonies inférieur ou égal à 73), de façon à obtenir cinq lots équivalents en termes de nombre de colonies pour ces zones (cf. Figure 34).

Un total de 152 échantillons de feuilles de cire gaufrée, ainsi que des informations associées à leur nature (opercule ou mélange de brèche), leurs pays de production ainsi que leur mode de production (conventionnel ou AB), ont pu être collectés.

Chaque échantillon, constitué de trois feuilles de cire, a été réduit en poudre par broyage à froid afin d'obtenir un mélange homogène. La préparation de chaque échantillon a été la plus homogène possible, réalisée par la même personne, au sein du laboratoire de l'Anses Sophia-Antipolis. Chaque échantillon ainsi broyé et homogénéisé a été fractionné en aliquotes⁶⁵ d'environ 25-30 g et une aliquote a été envoyée à chacun des trois laboratoires prestataires d'analyses pour les analyses respectives des substances chimiques contaminantes, des adultérants et des ETM.

La mise en ligne sur le site de l'Anses d'un marché à procédure adaptée a permis à tout laboratoire de postuler pour les analyses à réaliser. La procédure encadrée de l'étude des candidatures a déterminé le choix de trois d'entre eux. La recherche de substances chimiques contaminantes a été réalisée par le laboratoire du GIRPA (Angers, France) au moyen de méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse⁶⁶ permettant de rechercher 502 molécules. La recherche de métaux lourds et d'ETM a été confiée au laboratoire Meurice (Anderlecht, Belgique). La recherche d'adultérants a été réalisée par le laboratoire CREA (Bologne, Italie).

⁶⁵ Une partie aliquote est une fraction connue d'une quantité totale d'une solution, utilisée pour effectuer une analyse. Académie nationale de pharmacie, « Aliquotage [archive] », sur dictionnaire.acadpharm.org, 9 juin 2017 (consulté le 7 août 2025).

⁶⁶ Détection et quantification de l'ensemble des molécules en chromatographie liquide et gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LCMSMS et GCMSMS).

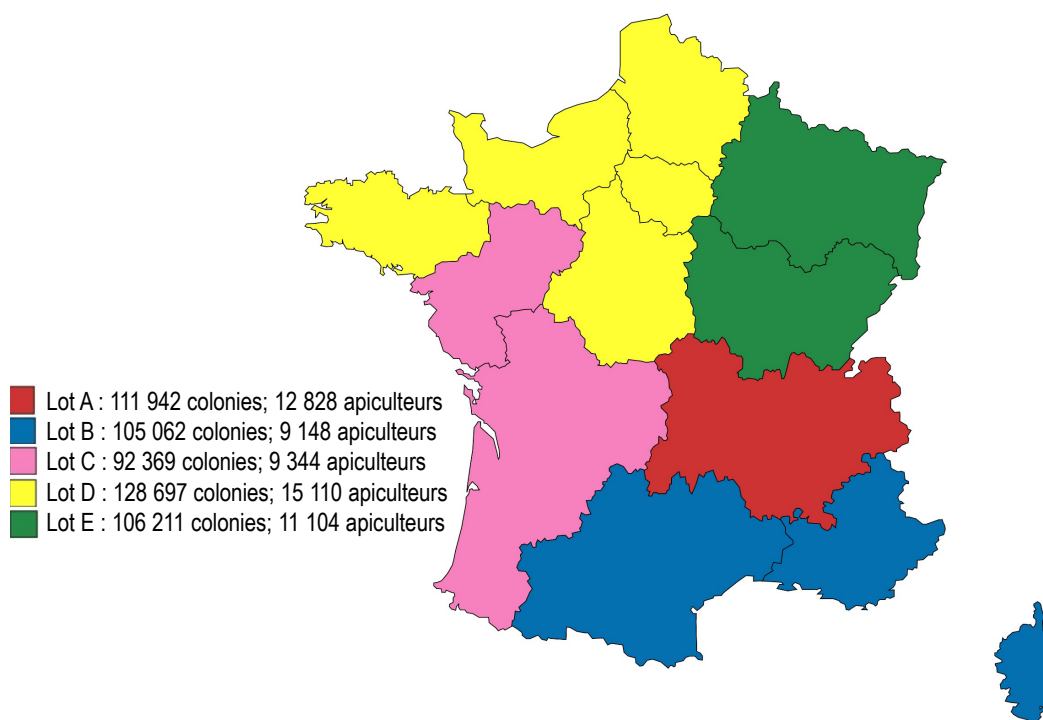


Figure 34 : Représentation des cinq zones géographiques définies dans le cadre de la CRD. Les lots (A à E) ont été définis afin que les effectifs (en nombre de colonies) soient à peu près équivalents entre eux

➤ Nombres de substances chimiques par échantillon

Les analyses des contaminants ont révélé que 100 % des échantillons de cire (n = 152) étaient contaminés par au moins un résidu de produit phytopharmaceutique et/ou biocide et/ou de médicament vétérinaire (acaricides apicoles) et, qu'en moyenne, ils contenaient 10 substances. Les résultats montrent que la cire peut être contaminée par une diversité importante de substances. Sur l'ensemble des échantillons analysés, 70 résidus différents ont été retrouvés parmi lesquels 42 substances sont dotées d'une activité insecticide ou acaricide. Les substances présentant une activité insecticide et/ou acaricide figurent parmi les substances les plus fréquemment retrouvées dans la cire. Cinq substances sont retrouvées dans plus des trois quarts des échantillons analysés :

- le tau-fluvalinate (92,1 %) ;
- le coumaphos (86,8 %) ;
- le thymol (81,6 %) ;
- le PBO (77,6 %) ;
- le propargite (76,3 %).

En plus de ces cinq substances, la fluméthrine (47,4 %), la perméthrine (47,4 %), le fenpyroximate (43,4 %), l'amtiraze sous forme de DMF (30,9 %), le spiroadiclofen (29,6 %), le chlorpyrifos (28,9 %) et l'hexythiazox (28,9 %) forment la liste des 12 substances les plus fréquemment retrouvées dans la cire. Les acaricides et insecticides sont donc les principaux contaminants de la cire (cf. Tableau 32).

➤ Teneurs moyenne et maximale des substances chimiques contaminantes

La teneur moyenne en substances chimiques contaminantes par échantillon atteint 4,7-4,8 mg/kg de cire.

Parmi les substances retrouvées, ce sont des acaricides à usage apicole utilisés pour la lutte contre *V. destructor* (le tau-fluvalinate, le coumaphos et le thymol) qui présentent les teneurs moyennes les plus importantes après le propargite. Le thymol enregistre la teneur maximale la plus élevée dans cette étude (36 mg/kg). L'agent synergisant PBO et l'acaricide propargite sont retrouvés dans plus de 75 % des cires analysées. Sa présence, très fréquente, ainsi que les fortes teneurs retrouvées (2,21 mg/kg en moyenne) interrogent sur son origine.

La tétraméthrine, l'acrinathrine et la fluméthrine, pyréthrénoïdes connus pour leur forte toxicité pour les abeilles, figurent parmi les dix substances les plus concentrées retrouvées dans les 152 échantillons analysés.

Les 58 autres substances restantes (dont 39 sont retrouvées dans moins de 5 % des échantillons), sont présentes à des teneurs moyennes inférieures à 0,5 mg/kg. Le HCH-gamma, correspondant au lindane, insecticide/acaricide qui n'est plus autorisé en France depuis 1998 pour les usages phytopharmaceutiques et depuis 2006 pour les usages biocides, fait exception et est quantifié dans 13 % des échantillons, où il est retrouvé avec une teneur maximale de 0,95 mg/kg.

➤ Contamination et mode de production de la cire

Les cires assorties du label AB sont moins contaminées que les cires non estampillées de ce label. En moyenne, les cires AB (n = 10) sont contaminées par 3,8 substances (médiane : 3,0) alors que les cires d'usage conventionnel (n = 137) renferment en moyenne 10,3 substances (médiane : 10,0). L'échantillon de cire AB le plus contaminé contenait huit substances différentes alors qu'un maximum de 20 substances a été retrouvé dans un échantillon de cire conventionnelle.

➤ Contamination et pratiques d'approvisionnement

- La qualité de la cire varie en fonction de son origine géographique

En comparant les cires issues d'apiculteurs français (n = 104) à celles produites par des apiculteurs d'autres pays (n = 41), il apparaît que les cires françaises présentent sensiblement une meilleure qualité. Elles contiennent en moyenne 8,7 substances par échantillon (médiane : 8,0), alors que les cires en provenance d'autres pays en contiennent en moyenne 10 (médiane : 10).

- La qualité de la cire varie en fonction des circuits de distribution

La qualité de la cire obtenue auprès de ciriers (n = 37) ou de groupements (n = 32) est sensiblement comparable. En moyenne 8,27 substances sont retrouvées dans les cires provenant de groupements d'apiculteurs et 8,7 substances dans les cires obtenues auprès des ciriers. Les cires présentant les indicateurs les moins favorables sont retrouvées auprès des enseignes générales (12,8 substances, n = 34) et spécialisées (10,2 substances, n = 49).

➤ Contamination et nature de la cire

Les résultats d'analyse des échantillons de cire permettent aussi de distinguer la qualité de la cire issue exclusivement d'opercules (n = 53) et celle de feuilles de cires confectionnées à partir de mélange d'opercules et de cire de brèches (n = 93). Les cires issues d'opercules contiennent en moyenne 7,7 substances par échantillon (médiane : 8,0), alors que les cires issues de

mélanges en contiennent en moyenne 11,1 (médiane : 11,0). Les cires issues d'opercules sont donc moins contaminées, bien que des échantillons de ces cires contiennent jusqu'à 18 substances.

Comparaison des données de la CRD avec les données de Cimeqa et bilan de l'analyse des données de la CRD ITSAP/Anses

Le contexte de mise en place de la CRD s'appuie sur le fait que l'étude Cimeqa procure, pour l'essentiel, des données issues d'apiculteurs professionnels, autosuffisants en cire. Afin de compléter cet état des lieux, il s'agit avec la mise en place de l'étude CRD, de vérifier la qualité des cires du commerce, issues de quatre grands types de fournisseurs auprès desquels les apiculteurs de loisir s'approvisionnent en cires gaufrées et dans une moindre mesure, certains apiculteurs professionnels. En outre, pour répondre aux questions de l'autosaisine, les recherches ont été élargies au thymol et aux ETM. En comparaison des cires qu'emploient les apiculteurs professionnels, il apparaît clairement que les cires distribuées dans le commerce présentent des niveaux de contamination supérieurs à ceux observés chez les apiculteurs qui utilisent la cire de leur propre exploitation pour faire confectionner des feuilles de cires gaufrées. Il apparaît toutefois que les substances contaminantes les plus fréquemment retrouvées dans ces deux catégories de cires sont globalement les mêmes : le tau-fluvalinate, le coumaphos, le propargite et le PBO. Le thymol apparaît en 3^e (occurrence) et 2^e (teneur moyenne) positions dans l'étude CRD, mais n'avait pas été recherché dans le cadre de l'étude Cimeqa (cf. Tableau 32). La présence d'insecticides pyréthrinoïdes (perméthrine et fluméthrine sont retrouvées dans plus de 40 % des échantillons) est plus fréquente dans les cires issues du commerce. S'agissant de la qualité de cires en fonction des fournisseurs, le nombre maximum de substances par échantillon est sensiblement comparable (19 et 20, respectivement pour les enseignes générales et spécialisées ; 17 et 18 respectivement pour les ciriers et les groupements). Le nombre minimum de substance(s) présente(s) dans les échantillons varie de 1 (ciriers) à 5 (enseignes générales) ; les échantillons issus des groupements et des enseignes spécialisées comportent un minimum de 2 substances. Le nombre moyen de substances par échantillon varie également selon les enseignes, avec, par ordre décroissant : enseignes générales (12,8) ; enseignes spécialisées (10,2) ; ciriers (8,7) ; groupements (8,2). Les cires d'origine française disponibles dans le commerce sont de meilleure qualité que celles ayant une origine extraterritoriale (pays de l'UE et hors UE).

Tableau 32 : Classement des quinze premières substances chimiques retrouvées dans les analyses de l'étude CRD par occurrence et teneur moyenne

Substance	Rang occurrence (% quantification)	P	B	V	Va	A	Substance	Rang (teneur moyenne*)	P	B	V	Va	A
tau-fluvalinate	1 (92,1)	P			Va	X	propargite	1 (2,214)	P	B			
coumaphos	2 (86,8)			V	Va		thymol	2 (1,669)				Va	X
thymol	3 (81,5)				Va	X	coumaphos	3 (0,857)			V	Va	
pipéronyl butoxyde	4 (77,6)	P	B	V		X	tau-fluvalinate	4 (0,520)	P			Va	X
propargite	5 (76,3)	P	B				HCH alpha	5 (0,483)	P				
fluméthrine	6 (47,3)			V	Va	X	HCH bêta	6 (0,28)	P				
perméthrine	6 (47,3)	P	B	V		X	tétraméthrine	7 (0,207)	P		V		x
fenpyroximate	8 (43,4)	P				X	acrinathrine	8 (0,180)	P	B		Va	
DMF	9 (30,9)			V	Va	X	pipéronyl butoxyde	9 (0,152)	P	B	V		X
spirodiclofen	10 (29,6)	P					cyperméthrine	10 (0,135)	P		V		X
chlorpyriphos	11 (28,9)	P	B				fenpyroximate	11 (0,114)	P				X
hexythiazox	11 (28,9)	P	B			X	HCH delta	12 (0,112)	P				
fluopyram	13 (26,9)	P				X	chlorfenvinphos	13 (0,104)	P	B			
pyridaben	14 (25,0)	P				X	fluméthrine	14 (0,097)			V	Va	X
pentachloroanisole	15 (22,3)	P					perméthrine	15 (0,093)	P	B	V		X

Légende : La méthode des arbres de régression (cf. Annexe 10) a permis de déterminer les groupes de substances statistiquement différents identifiés par des couleurs : groupe 1 en rouge, 2 en orange ; 3 en jaune ; 4 en vert. Seules les quinze premières substances sont reprises ici, appartenant aux premiers groupes. En gras figurent les substances retrouvées parmi les quinze premières les plus fréquentes et les plus concentrées.

A= autorisé en UE pour au moins l'un des usages au moment de la rédaction de ce rapport, notifié par le sigle : **X**; P=produits phytopharmaceutiques ; B=biocides ; V=médicaments vétérinaires ; Va= médicaments vétérinaires apicoles.

* : il faut noter que la moyenne est réalisée sur les échantillons dans lesquels une même substance a été détectée, elle est exprimée en mg/kg.

Limites et incertitudes de l'analyse des données de l'étude CRD

Dans le protocole qu'il a élaboré, le GT a souhaité limiter au maximum les incertitudes en s'assurant d'un nombre équivalent d'acteurs, pour chacun des quatre types de distributeurs et dans chacune des zones géographiques prises en compte (cf. Figure 34). Il existe, toutefois, un biais déclaratif relevant d'un manque global de traçabilité : une cire achetée par un particulier à un cirier ou à un distributeur est souvent déclarée par son acquéreur comme provenant de France, sans en connaître l'origine réelle. Une cire échantillonnée dans une enseigne spécialisée de la région Auvergne-Rhône-Alpes, par exemple, se fournissant chez un cirier du Grand-Est, ne présentera pas non plus un référencement géographique exact. Une cire de mélange contenant de la cire française sera amenée à être considérée comme française en raison de l'absence de renseignement quant aux proportions de chaque type de cires incluses dans le mélange.

L'incertitude de mesure due à la technique d'analyse mise en œuvre par le laboratoire est de l'ordre de 50 % voire plus.

Pour limiter les incertitudes dues à l'échantillonnage, le groupe de travail a envoyé à chaque laboratoire, deux aliquotes d'un même broyat d'échantillon de cire pour analyse en aveugle, afin

de vérifier la concordance des résultats d'analyses au sein d'un même laboratoire. Plusieurs échantillons ont ainsi été analysés en doublon par chaque laboratoire.

En complément de cet essai, dix aliquotes d'un même broyat ont également été analysées en aveugle pour évaluer l'homogénéité des échantillons adressés aux laboratoires. L'analyse des résultats obtenus montre que la méthode de cryobroyage des échantillons semble appropriée pour aboutir à des échantillons homogènes (cf. Annexe 6).

La cire française est aussi contaminée par les ETM

À titre exploratoire et pour combler le déficit de connaissances en la matière ainsi que pour répondre aux questions de l'autosaisine, un état des lieux de la contamination par les ETM des cires utilisées en France par les apiculteurs était souhaitable. La liste des ETM retenus pour l'analyse descriptive de cette contamination reprend les ETM généralement recherchés dans la littérature scientifique (cf. 5.1.1.7), à savoir : le cadmium (Cd), le plomb (Pb), le zinc (Zn), l'arsenic (As), le chrome (Cr) et le cuivre (Cu), auxquels s'ajoutent (parce que les méthodes analytiques disponibles le permettent) le manganèse (Mn), le mercure (Hg), le nickel (Ni), le cobalt (Co), l'aluminium (Al), l'antimoine (Sb), le sélénium (Se), le vanadium (V) et le palladium (Pd). Ces 15 ETM ont été recherchés dans les échantillons de cires gaufrées échantillonnées (n = 152) parmi les cires à usage apicole vendues en France en 2023. Ces ETM ont été sélectionnés sur la base de la recherche bibliographique (cf. Annexe 4) parmi les articles faisant la preuve de la toxicité de métaux lourds pour la santé des abeilles. À ce jour, aucune étude publiée ne regroupe autant d'échantillons et d'analyses de cires à usage apicole avec l'objectif de rechercher la présence de contaminants ETM. Comme pour les autres contaminants, les résultats sont rendus en tenant compte de limites de détection et de quantification variables, avec les mêmes réserves sur les valeurs brutes de teneurs mesurées.

➤ Proportion de cires contaminées par les ETM

La présence de huit ETM parmi les 15 recherchés a été mise en évidence dans les échantillons de cire analysés. Le zinc et l'aluminium sont les métaux lourds les plus fréquemment détectés dans les cires gaufrées vendues en France pour un usage apicole, avec respectivement plus de 50 % et de 30 % de cires non négatives à l'analyse (teneur retrouvée au moins supérieure à la limite de détection). Le chrome et le manganèse sont eux détectés à une fréquence moindre mais non négligeable puisque plus d'une cire sur cinq en contient. Enfin, le cuivre et le plomb sont retrouvés dans plus de 5 % des échantillons, complétant ainsi la liste des six ETM retrouvés le plus fréquemment dans les cires analysées (cf. Figure 35).

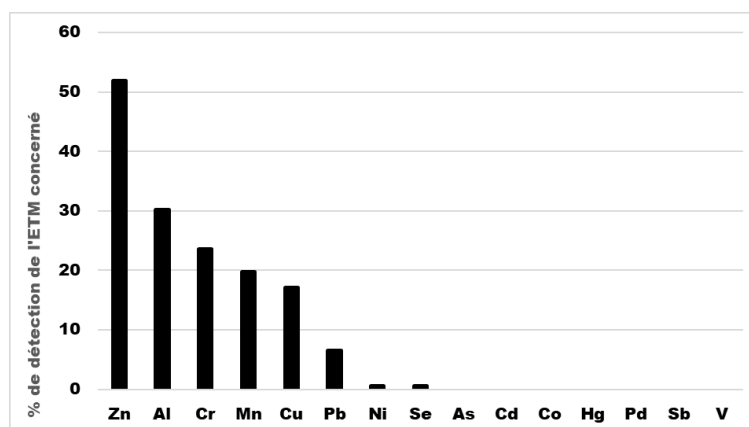
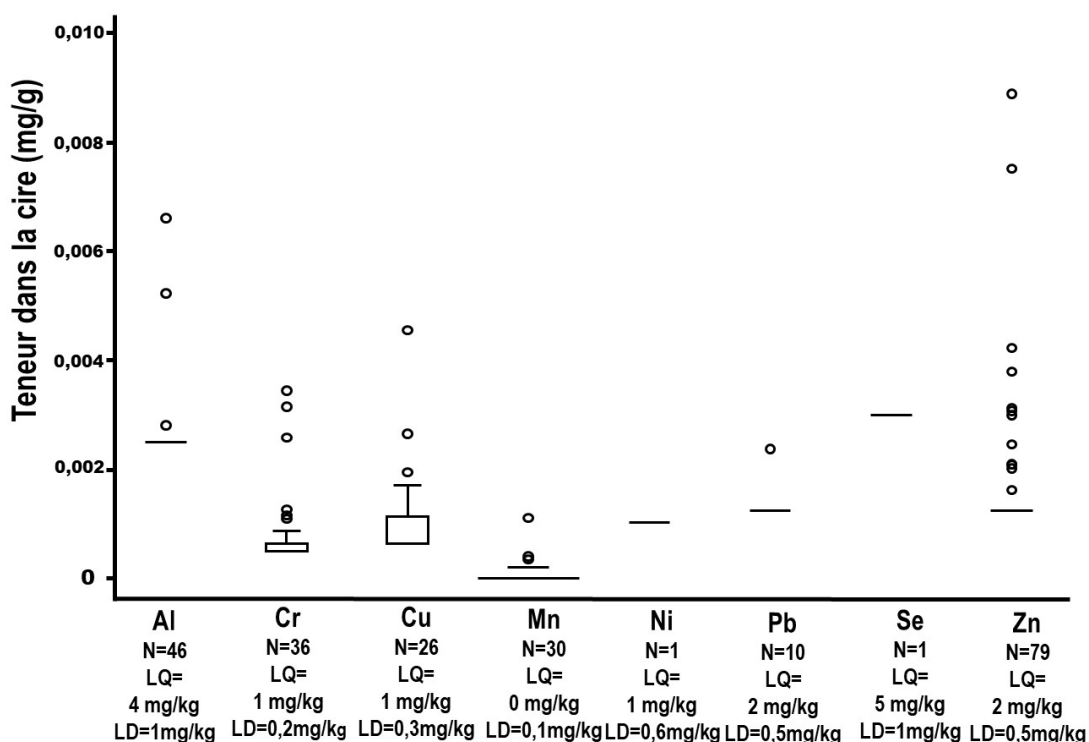


Figure 35 : Pourcentage de détection de chaque ETM recherché parmi les cires analysées (n=152)

➤ Teneurs en ETM retrouvés dans les cires

Bien que la proportion de cires contaminées soit élevée pour certains ETM, ils sont le plus souvent retrouvés à l'état de traces et quantifiables dans moins de 10 % des cas (LQ comprise entre 1 et 5 mg/kg, cf. Figure 36). En plus d'être les plus fréquemment mis en évidence dans les cires, le zinc et l'aluminium sont aussi les ETM dont les teneurs maximales retrouvées sont les plus élevées (respectivement 8,88 mg/kg et 6,62 mg/kg). Le cuivre et le chrome, bien que moins fréquemment détectés, peuvent aussi atteindre une teneur importante dans les cires (respectivement 4,55 mg/kg et 3,44 mg/kg). Les autres ETM, lorsqu'ils sont détectés, le sont dans des valeurs assez proches des limites de détection (cf. Figure 36).



La valeur 0 correspond à la limite de détection du laboratoire pour chaque ETM considéré

LQ=limite de quantification ; LD=limite de détection.

Étant donné la répartition des teneurs détectées, l'aspect des boîtes à moustache dans le graphique correspond à une seule barre représentant la médiane.

Figure 36 : Teneurs médianes (en mg/kg) des ETM retrouvés dans les cires (seuls les échantillons dans lesquels des ETM ont été détectés par les analyses apparaissent sur cette figure)

➤ Contaminations mono- ou multi- ETM

Parmi les cires contaminées, certains échantillons présentent des contaminations par plusieurs ETM, avec au maximum cinq éléments retrouvés ensemble dans une même feuille de cire gaufrée. La présence d'au moins un ETM a été plus fréquemment retrouvée (n = 119) que l'absence de toute détection d'ETM (n = 33) (cf. Figure 37).

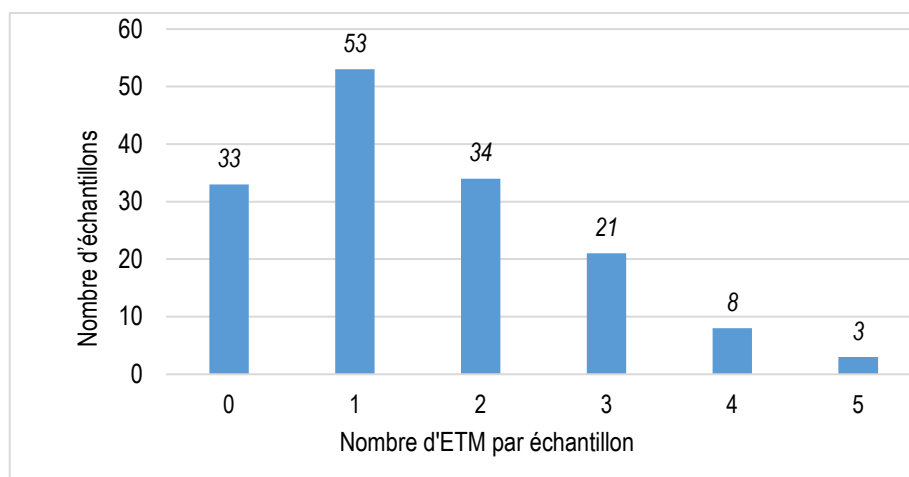


Figure 37 : Nombre d'ETM quantifiés par échantillon de cire

Les résultats semblent indiquer que les cires issues de mélange sont plus fréquemment contaminées que les autres (les experts considèrent ici comme cires de mélange, celles qui sont clairement identifiées comme telles ou celles issues de gaufrage de lots d'apiculteurs différents). Toutefois, les analyses statistiques réalisées ne montrent pas de différence significative de la tendance observée (manque de puissance statistique de l'effectif).

➤ Origine des contaminations des cires par les ETM

L'origine des ETM retrouvés dans les cires n'est pas toujours identifiable. En effet, ils sont couramment présents dans l'environnement (sol, air, eau), soit à l'état naturel (selon la nature géologique des sols), soit apportés par l'être humain au travers d'applications d'engrais, de produits phytopharmaceutiques ou, par exemple, en lien avec des activités industrielles (Shimshoni et al. 2019; Zavrtnik et al. 2024). Le chrome, le plomb, l'aluminium et le cuivre sont considérés comme provenant majoritairement de sources anthropiques, tandis que les sources de zinc et de manganèse seraient plutôt naturelles (Gajger et al. 2019).

L'origine du zinc, qui se distingue significativement parmi les ETM retrouvés dans les cires analysées dans le cadre de cette CRD, interroge. Bien qu'il soit généralement considéré comme d'origine naturelle, les experts estiment qu'il serait intéressant de vérifier s'il n'existe pas une autre source de contamination des cires d'opercules. Des investigations complémentaires (l'étude CRD n'avait pas cet objectif initial et certaines données manquantes ne permettent pas d'explorer cette hypothèse) permettraient notamment de vérifier si les procédés de transformation des cires, de l'apiculteur au cirier, pourraient (ou non) être à l'origine de cette importante contamination. Les experts indiquent, par exemple, que l'usage de matériel en métal galvanisé peut, lors d'un chauffage, libérer du zinc dans le substrat qu'il contient.

Comme la plupart des autres contaminants, les ETM sont capables de s'accumuler dans les cires avec le temps. C'est pourquoi, la teneur en ETM d'une cire est généralement corrélée à son ancienneté (Gajger et al. 2019; Hassona et El-Wahed 2023). Dans le cadre de la CRD, les cires échantillonnées correspondent à des feuilles gaufrées prêtes à l'usage après transformation par les ciriers : ces cires sont théoriquement neuves, non issues d'un recyclage de cadres de corps. En outre, les procédés de transformation peuvent participer à diminuer la contamination par les ETM, notamment par l'élimination des fonds de cuve qui contiennent les plus fortes teneurs en ETM (Gajger et al. 2016). Toutefois, et comme le montrent les résultats, une contamination résiduelle de feuilles de cires nouvellement gaufrées et prêtes à l'usage apicole est possible.

➤ Comparaison avec les données de la littérature scientifique

Les résultats de la CRD rassemblent un nombre particulièrement élevé d'analyses, rarement atteint dans les études bibliographiques disponibles. Ces résultats, comparés à ceux des données de la littérature, montrent que les moyennes, médianes et teneurs maximales des ETM retrouvés sont assez voisines des intervalles de valeurs publiés, voire inférieures. Le plomb fait exception car, bien que détecté dans seulement 5,92 % des cas, les valeurs quantifiées moyennes et médianes sont supérieures à celles de la majorité des études publiées (dans 12 cas sur 20 études ayant recherché et quantifié le plomb dans les cires). Toutefois, les résultats de la CRD sont issus d'analyses de feuilles de cires gaufrées neuves tandis que les données bibliographiques intègrent tout type de cires parmi lesquelles des cires noires anciennes et, par nature, plus contaminées. Les résultats de la CRD démontrent donc une contamination non nulle des cires à usage apicole pour certains ETM parmi ceux recherchés.

Limites et incertitudes de l'analyse des ETM dans les cires

Pour cette étude, la liste des ETM déterminée par les experts est basée sur une revue de la bibliographie mais n'est pas exhaustive.

Le laboratoire avait développé une méthode à la suite d'une recherche d'ETM déjà réalisée pour des échantillons de cire d'une étude à moindre échelle, puis a développé et consolidé sa propre méthode à la demande du GT, ce qui constitue une incertitude analytique.

5.1.3.4 Bilan de l'état des lieux de la contamination des cires françaises

Les résultats des trois bases de données sont synthétisés dans le Tableau 33 ci-dessous et comparés pour les indicateurs de rang d'occurrence de chaque substance et rang de teneur moyenne de chaque substance respectivement dans les Tableau 34 et Tableau 35 qui suivent.

Tableau 33 : Synthèse des résultats des trois études françaises

	Autocontrôles	Cimeqa	CRD (hors ETM)
Sources données ou échantillons	Données des ciriers (volontariat, non homogènes)	Cires envoyées par des apiculteurs professionnels	Cires collectées dans le commerce (ciriers, groupements, magasins apicoles...)
Nombre d'échantillons de cires inclus	365	345	152
Nombre de substances détectées et quantifiées	83	83	70
Proportion d'échantillons contaminés par au moins une substance (en %)	Non calculé (incertitudes sur les données)	95,7 %	100 %
Substances par échantillon (médiane)	10	Pratiques : • Conventionnel : 5,1 • AB : 3 Approvisionnement : • Autosuffisant : 3,5 • Commerce : 9 Nature : • Opercule : 3	Pratiques : • Conventionnel : 10 • Cire AB : 3 Nature : • Opercule : 8 • Mélange : 11
Nombre de substance(s) détecté par échantillon [min-max]	[0 - 34]	[0 - 19]	[1 - 20] Nombre maximal de résidus : cires AB : 8 autre : 20

Tableau 34 : Tableau comparatif des rangs d'occurrence des quinze premières molécules selon les études de terrain conduites en France

Autocontrôles		Cimeqa		CRD	
Substance	Rang occurrence (%quantification)	Substance	Rang occurrence (%quantification)	Substance	Rang occurrence (%quantification)
tau-fluvalinate	1 (74,8)	tau-fluvalinate	1 (65,7)	tau-fluvalinate	1 (92,1)
coumaphos	2 (65,2)	coumaphos	2 (62,8)	coumaphos	2 (86,8)
amitrazé (somme des métabolites)	3 (59,5)	propargite	3 (45,7)	thymol*	3 (81,5)
PBO	4 (48,8)	PBO	4 (33,0)	PBO	4 (77,6)
propargite	5 (39,5)	DMF métabolite de l'amitrazé	5 (32,1)	propargite	5 (76,3)
cyperméthrine	6 (38,4)	diphénylamine	6 (28,9)	fluméthrine	6 (47,3)
perméthrine	7 (37,5)	fluopyram	7 (19,7)	perméthrine	6 (47,3)
chlorpyrifos	8 (30,7)	boscalide	8 (18,5)	fenpyroximate	8 (43,4)
pyridaben	9 (21,6)	DEET	9 (15,6)	DMF métabolite de l'amitrazé	9 (30,9)
acrinathrine	10 (20,3)	pentachloroanisole	10 (13,6)	spirodiclofen	10 (29,6)
DDT p,p' (somme)	11 (19,2)	fenpyroximate	11 (12,1)	chlorpyrifos	11 (28,9)
deltaméthrine	12 (18,6)	lindane	12 (8,60)	hexythiazox	11 (28,9)
bromopropylate	13 (17,8)	orthophénylphénol	13 (8,10)	fluopyram	13 (26,9)
DEET	14 (17,3)	chlorfenvinphos	14 (7,50)	pyridaben	14 (25,0)
lindane	15 (16,4)	perméthrine	14 (7,50)	pentachloroanisole	15 (22,3)

Légende : La méthode des arbres de régression (cf. Annexe 10) a permis de déterminer les groupes de substances statistiquement différents identifiés par des couleurs : groupe 1 en rouge, 2 en orange ; 3 en jaune ; 4 en vert. Seules les quinze premières substances sont reprises ici, appartenant aux premiers groupes. En gras figurent les substances retrouvées parmi les quinze premières les plus fréquentes et les plus concentrées.

*Le thymol a été recherché uniquement dans l'étude CRD.

Tableau 35 : Tableau comparatif des teneurs moyennes des vingt premières molécules selon les études de terrain conduites en France

Autocontrôles		Cimeqa		CRD	
Substance	Rang de teneur (teneur moyenne*)	Substance	Rang de teneur (teneur moyenne*)	Substance	Rang de teneur (teneur moyenne*)
quintozone	1 (2,8)	propargite	1 (0,906)	propargite	1 (2,214)
propargite	2 (1,405)	phtalimide	2 (0,51)	thymol	2 (1,669)
HCH bêta	3 (0,83)	coumaphos	3 (0,420)	coumaphos	3 (0,857)
chlorpyrifos-méthyl	4 (0,815)	pirimiphos M	4 (0,417)	tau-fluvalinate	4 (0,520)

Autocontrôles		Cimeqa		CRD	
Substance	Rang de teneur (teneur moyenne*)	Substance	Rang de teneur (teneur moyenne*)	Substance	Rang de teneur (teneur moyenne*)
coumaphos	5 (0,708)	tau-fluvalinate	5 (0,379)	HCH alpha	5 (0,483)
tau-fluvalinate	6 (0,585)	S-421	6 (0,356)	HCH bêta	6 (0,28)
HCH alpha	7 (0,534)	pyriproxyfène	7 (0,3)	tétraméthrine	7 (0,207)
pentachloroaniline	8 (0,46)	cinérine I	8 (0,28)	acrinathrine	8 (0,180)
dodine	9 (0,42)	pyréthrine I	9 (0,255)	pipéronyl butoxyde	9 (0,152)
pipéronyl butoxyde	10 (0,190)	tétraméthrine	10 (0,225)	cyperméthrine	10 (0,135)
perméthrine	11 (0,148)	pyroquilon	11 (0,225)	fenpyroximate	11 (0,114)
amitraze (somme des métabolites)	12 (0,147)	chlorfenvinphos	12 (0,207)	HCH delta	12 (0,112)
biphényle	13 (0,109)	Pyriproxyfène	13 (0,2)	chlorfenvinphos	13 (0,104)
spirodiclofène	14 (0,108)	cyperméthrine	14 (0,181)	fluméthrine	14 (0,097)
bifenthrine	15 (0,106)	terbutryne	15 (0,18)	perméthrine	15 (0,093)

Légende : La méthode des arbres de régression (Annexe 10) a permis de déterminer les groupes de substances statistiquement différents identifiés par des couleurs : groupe 1 en rouge, 2 en orange ; 3 en jaune ; 4 en vert. Seules les quinze premières substances sont reprises ici, appartenant aux premiers groupes. En gras figurent les substances retrouvées parmi les quinze premières les plus fréquentes et les plus concentrées. * : la teneur moyenne est exprimée en mg/kg.

La contamination des cires est caractérisée par une forte diversité de substances. Cette diversité se retrouve dans la multiplicité des combinaisons de contaminants retrouvés dans les cires analysées dans les études Cimeqa et CRD.

➤ Une grande diversité de mélanges

Dans l'étude Cimeqa, 83 substances différentes ont été retrouvées dans les 345 échantillons analysés. Elles forment en tout 241 mélanges différents constitués de deux à 19 composés (cf. Figure 38), mais seulement une minorité des échantillons de cire (6,9 %) contient plus de dix substances (cf. Figure 38). La même tendance est observée dans les résultats de la CRD (avec exclusion du thymol, pour la comparaison avec les résultats de Cimeqa) : un total de 69 substances a été retrouvé dans les 152 échantillons de feuilles de cire analysés. Ces substances forment 148 mélanges différents constitués de deux à 19 composés (cf. Figure 38). Mais à la différence des résultats obtenus dans Cimeqa, la proportion d'échantillons (40,1 %) contenant plus de 10 substances est plus importante (cf. Figure 39). La comparaison des jeux de données des deux études Cimeqa et CRD ci-après a été réalisée en excluant le thymol pour la CRD.

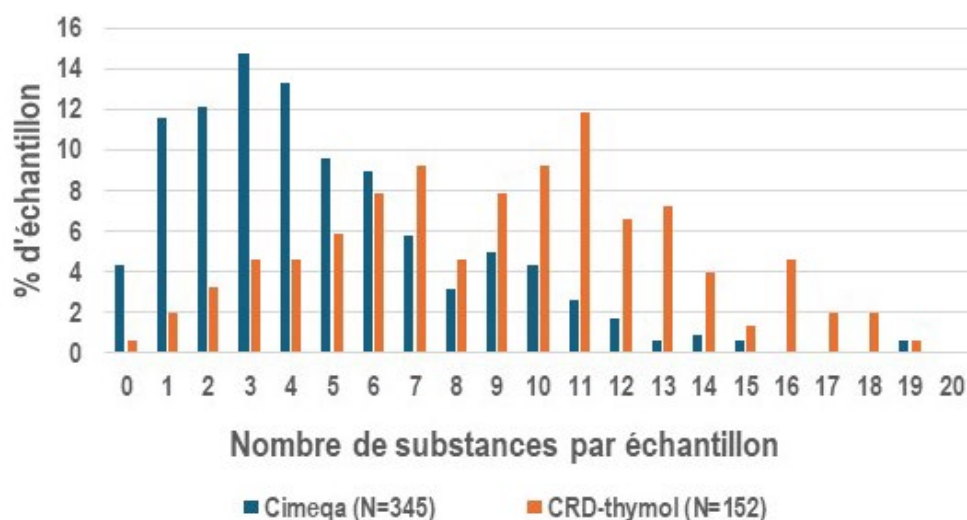


Figure 38 : Distribution des échantillons de cire en fonction du nombre de substances par échantillon selon l'étude Cimeqa ou CRD (avec retrait de la substance thymol pour la CRD)

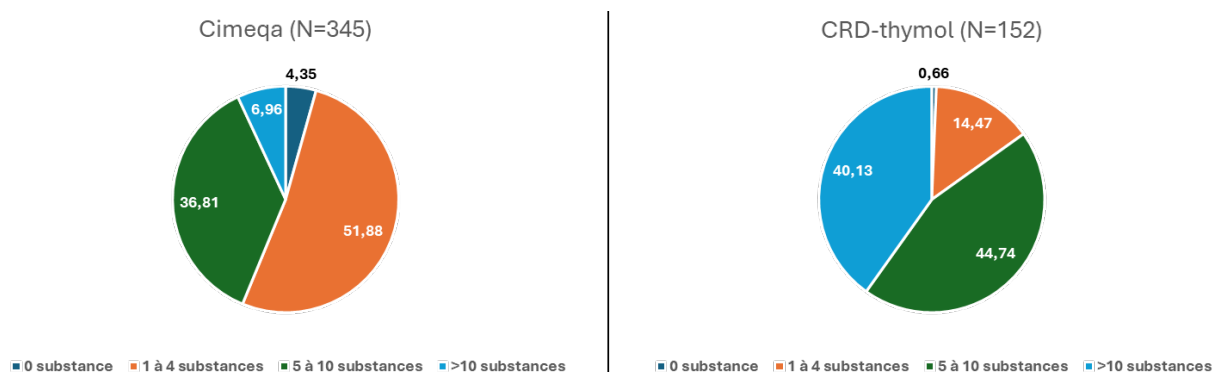


Figure 39 : Pourcentage d'échantillons en fonction du nombre de substances par échantillon selon l'étude Cimeqa ou CRD (avec retrait de la substance thymol pour la CRD)

La comparaison des deux jeux de données à l'aide d'une régression binomiale indique que le nombre de mélanges est statistiquement plus faible ($p < 0,001$) dans les échantillons de cire collectés dans le projet Cimeqa (cf. Figure 40). Cette différence n'est pas influencée par la présence d'acaricides à usage apicole (amitraze, tau-fluvalinate, fluméthrine) puisque la même analyse réalisée en faisant abstraction de ces derniers indique le même résultat (cf. Figure 40).

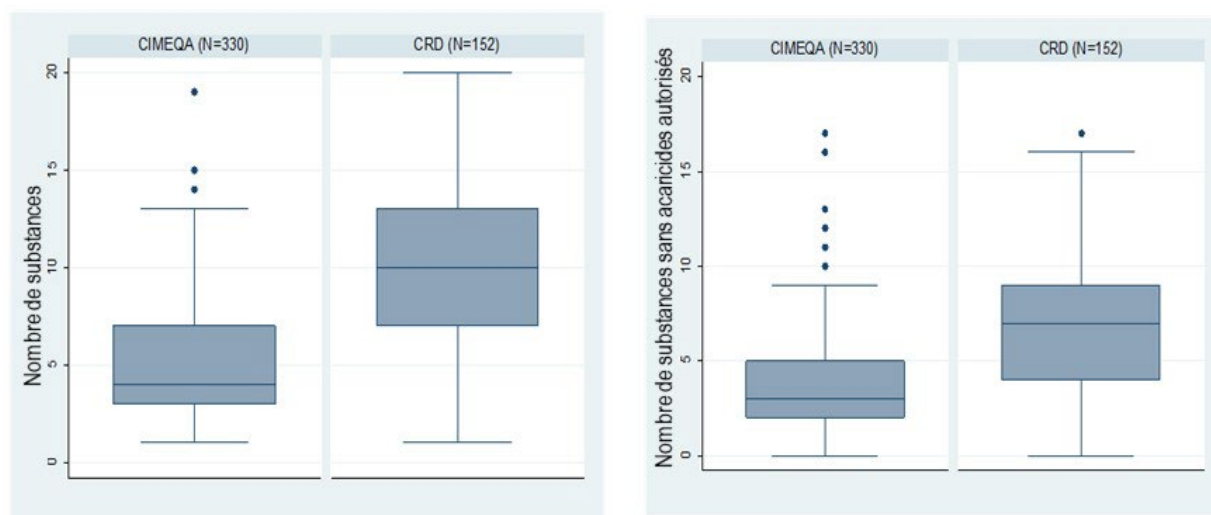


Figure 40 : À gauche : comparaison du nombre de substances (acaricides inclus) par échantillon entre les études Cimeqa et CRD ; à droite : comparaison du nombre de substances (acaricides exclus) par échantillon entre les études Cimeqa et CRD

➤ Les acaricides au cœur des mélanges

Les acaricides à usage apicole font partie des substances les plus fréquemment retrouvées dans les échantillons de cire analysés dans les projets Cimeqa et CRD. Ils sont par conséquent présents dans une grande majorité des mélanges précédemment identifiés. Lorsque l'on exclut les acaricides des jeux de données, le nombre médian de substances est statistiquement plus faible aussi bien dans le projet Cimeqa que dans le projet CRD (cf. Figure 41).

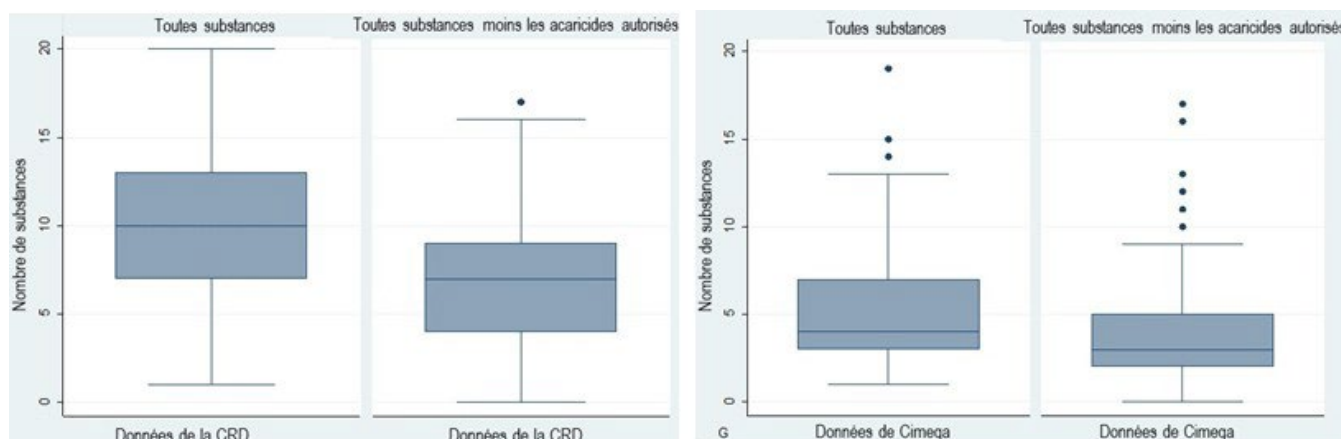


Figure 41 : À gauche : comparaison du nombre de substances avec ou sans les acaricides apicoles (CRD) ; à droite : comparaison du nombre de substances avec ou sans les acaricides apicoles (Cimeqa)

La présence des acaricides joue donc un rôle important dans la composition des mélanges. Il existe d'ailleurs une relation de proportionnalité entre leur nombre et le nombre total de substances retrouvées dans ces mélanges (cf. Figure 42). Plus le nombre d'acaricides présents dans les mélanges est important, plus le nombre total de substances est élevé.

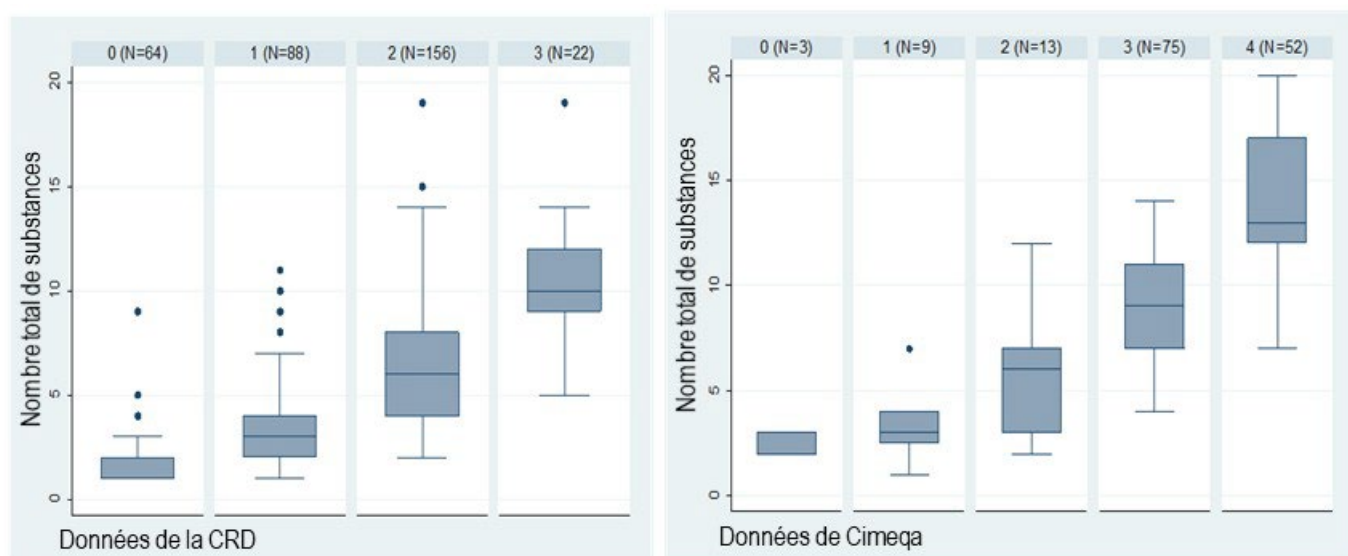


Figure 42 : À gauche : relation entre le nombre d'acaricides apicoles et le nombre total de substances dans les mélanges retrouvés dans l'étude CRD ; à droite : relation entre le nombre d'acaricides apicoles et le nombre total de substances dans les mélanges retrouvés dans l'étude Cimeqa

➤ Des combinaisons de substances plus fréquemment retrouvées

Bien qu'il existe une grande diversité de mélanges, certaines combinaisons de substances semblent plus représentées.

Combinaison de deux substances

Les substances quantifiées plus de cinq fois dans l'étude Cimeqa forment 170 combinaisons de deux substances. Vingt-cinq d'entre elles sont retrouvées dans plus de 10 % des échantillons (cf. Tableau 36). Pour rappel le thymol ne faisait pas partie des substances recherchées dans le cadre de cette étude.

Tableau 36 : Fréquences d'apparition des combinaisons de deux substances retrouvées dans plus de 10 % des échantillons de l'étude Cimeqa

	tau-fluvalinate	coumaphos	propargite	pipéronyl-butoxide
tau-fluvalinate	NA*	51,59 %	42,03 %	31,3 %
coumaphos	51,59 %	NA*	39,42 %	28,7 %
propargite	42,03 %	39,42 %	NA*	26,38 %
pipéronyl-butoxide	31,30 %	28,7 %	26,38 %	NA*
DMF métabolite	25,51 %	23,48 %	15,65 %	14,49 %
amitraz				
diphénylamine	16,23 %	17,1 %	11,3 %	<10 %
fluopyram	15,65 %	11,3 %	<10 %	<10 %
pentachloroanisole	12,75 %	<10 %	<10 %	<10 %
boscalide	12,46 %	12,46 %	<10 %	<10 %
fenpyroximate	12,17 %	12,17 %	12,7 %	<10 %
DEET	11,30 %	<10 %	11,3 %	<10 %

* : NA : non applicable

Parmi les substances quantifiées plus de cinq fois dans l'étude CRD, celles-ci forment 346 combinaisons de deux substances. Cent quarante-cinq d'entre elles sont retrouvées dans plus de 10 % des échantillons (cf. Tableau 37).

Tableau 37 : Fréquences d'apparition des combinaisons de deux substances retrouvées dans plus de 10 % des échantillons de l'étude CRD

S1 TAU-FLUVALINATE Substance 2 et % avec d'occurrence	S1 COUMAPHOS Substance 2 et % d'occurrence	S1 THYMOL Substance 2 et % d'occurrence	S1 PBO Substance 2 et % d'occurrence	S1 PROPARGITE Substance 2 et % d'occurrence	S1 PERMETHRINE Substance 2 et % d'occurrence	S1 FLUMETHRINE Substance 2 et % d'occurrence
coumaphos 86,18 %	propargite 75,66 %	PBO 65,13 %	propargite 67,11 %	fluméthrine 44,08 %	fluméthrine 33,55 %	fenpyroximate 37,50 %
thymol 77,63 %	PBO 75 %	propargite 62,50 %	fluméthrine 47,37 %	perméthrine 43,42 %	fenpyroximate 28,95 %	spirodiclofène 29,61 %
PBO 76,97 %	thymol 71,71 %	perméthrine 40,79 %	perméthrine 46,71 %	fenpyroximate 42,76 %	chlorpyriphos 25,66 %	hexithiazox 28,29 %
propargite 76,32 %	fluméthrine 46,71 %	fluméthrine 36,18 %	fenpyroximate 44,08 %	spirodiclofène 30,26 %	spirodiclofène 20,39 %	chlorpyriphos 26,97 %
perméthrine 48,03 %	perméthrine 46,71 %	fenpyroximate 32,24 %	spirodiclofène 30,26 %	hexithiazox 29,61 %	hexithiazox 19,08 %	pyridaben 25,00 %
fluméthrine 47,37 %	fenpyroximate 44,08 %	DMF 28,29 %	hexithiazox 29,61 %	chlorpyriphos 27,63 %	pyridaben 17,76 %	acétochlore 13,16 %
fenpyroximate 44,08 %	spirodiclofène 30,26 %	fluopyram 24,34 %	chlorpyriphos 28,95 %	pyridaben 25,66 %	DEET 14,47 %	DDT 12,50 %
spirodiclofène 30,26 %	hexithiazox 29,61 %	chlorpyriphos 24,34 %	pyridaben 25,66 %	fluopyram 22,37 %	acétochlore 13,82 %	DEET 11,84 %
DMF 30,26 %	chlorpyriphos 28,95 %	pentachloroanisole 21,71 %	DMF 23,03 %	DMF 21,71 %	deltaméthrine 13,16 %	acrinathrine 11,18 %
chlorpyriphos 29,61 %	DMF 26,97 %	hexithiazox 20,39 %	pentachloroanisole 21,05 %	DEET 19,08 %	DMF 13,16 %	
hexithiazox 29,61 %	pyridaben 25,66 %	DEET 19,74 %	fluopyram 18,42 %	pentachloroanisole 19,08 %	pentachloroanisole 11,84 %	
pyridaben 25,66 %	fluopyram 22,37 %	spirodiclofène 19,08 %	DEET 17,76 %	acétochlore 14,47 %	fluopyram 11,84 %	
fluopyram 24,34 %	DEET 19,74 %	pyridaben 16,45 %	acrinathrine 15,79 %	deltaméthrine 12,50 %	DDT 11,18 %	
pentachloroanisole 21,71 %	pentachloroanisole 19,74 %	acrinathrine 15,13 %	DDT 15,13 %	DDT 12,50 %		
DEET 19,74 %	chlorfenvinphos 18,42 %	chlorfenvinphos 15,13 %	chlorfenvinphos 15,13 %	chlorfenvinphos 12,50 %		
chlorfenvinphos 18,42 %	acrinathrine 16,45 %	DDT 14,47 %	acétochlore 14,47 %	lindane 11,84 %		
acrinathrine 16,45 %	DDT 15,13 %	lindane 13,16 %	lindane 13,16 %	acrinathrine 11,84 %		
acétochlore 14,47 %	acétochlore 14,47 %	esprocarbe 13,16 %	deltaméthrine 12,50 %	esprocarbe 11,18 %		
DDT 14,47 %	deltaméthrine 13,16 %	deltaméthrine 11,84 %	esprocarbe 10,53 %			
esprocarbe 13,82 %	lindane 12,50 %	acétochlore 10,53 %				
deltaméthrine 13,16 %	esprocarbe 11,18 %					
lindane 12,50 %	boscalide 10,53 %					
boscalide 10,53 %						

Combinaison de plus de deux substances

Il n'y a pas de combinaison de molécules qui soit retrouvée à une fréquence marquante, les combinaisons de substances sont variées.

5.1.4 Discussion quant à l'état des lieux de terrain de la contamination des cires en France hexagonale

Les trois sources de données françaises analysées dans ce rapport (autocontrôles réalisés par les ciriers, études Cimeqa et CRD) amènent à plusieurs constats. Si certains sont attendus, comme la confirmation de fréquences importantes d'occurrence des substances acaricides apicoles retrouvées dans les cires, actuellement ou auparavant autorisées (tau-fluvalinate, coumaphos, thymol pour la seule étude l'ayant recherché, métabolites de l'amitrazé, fluméthrine), d'autres sont moins prévisibles comme les occurrences du propargite, de la diphénylamine ou de certains insecticides, par exemple des organophosphorés ou des organochlorés (cf. 5.1.4.3).

5.1.4.1 Les acaricides apicoles autorisés en France

Pour les trois études, le tau-fluvalinate est l'acaricide apicole le plus fréquemment présent (65,7 % pour l'étude Cimeqa, 74,8 % pour les autocontrôles et 92,1 % pour la CRD), ce qui peut être relié à son utilisation depuis de nombreuses années, ainsi qu'à ses propriétés d'accumulation et de persistance au sein de la cire. Sa fréquence d'occurrence relativement moins élevée dans l'étude Cimeqa pourrait refléter la différence entre les pratiques professionnelles et non professionnelles (autorenouvellement des cires, moindre utilisation du tau-fluvalinate comme varroocide). L'amitrazé et ses métabolites ont une fréquence d'occurrence intermédiaire (de 30 à 50 % environ) avec des teneurs relativement limitées.

Le thymol n'a été recherché qu'au cours des analyses réalisées pour l'étude CRD. Il est très fréquemment présent dans les cires échantillonnées, puisque sa fréquence d'occurrence est de 81,5 %. De plus, sa teneur moyenne dans la cire, de 1,669 mg/kg, est considérable. Les experts estiment nécessaire de conduire d'autres études sur la présence dans la cire du thymol, acaricide apicole utilisable en production AB. Certaines publications indiquent que la cire représente une matrice favorable au stockage du thymol, avec une dissipation limitée et inférieure à 20 % (Manzano Sánchez et al. 2021) ce qui contredit l'hypothèse reposant sur sa propriété volatile, supposant que la molécule puisse s'évaporer de la cire dans certaines conditions d'aération lors du stockage des cires.

La fluméthrine n'est observée fréquemment que pour les échantillons de l'étude CRD, avec une occurrence de 47,3 % et une teneur moyenne de 0,097 mg/kg. Cette substance a été autorisée plus récemment (2017) que d'autres (telles que tau-fluvalinate, amitrazé) en tant que médicament vétérinaire apicole et son utilisation reste relativement modeste, notamment chez les apiculteurs professionnels, ce qui pourrait expliquer qu'elle ne soit pas aussi fréquemment retrouvée dans les autres études (Communications personnelles C. Vidau ; L. Grisot et C. Roy). Il convient de noter que l'indice de sécurité thérapeutique chez l'abeille de ce pyréthrianoïde est nettement plus faible que celui du tau-fluvalinate, qui appartient pourtant à la même famille. Elle fait d'ailleurs partie, après la deltaméthrine et la perméthrine (deux autres pyréthrianoïdes), des trois substances pour lesquelles les DL₅₀ orale et contact sont les plus faibles. Elles représentent donc des substances parmi les plus toxiques pour les abeilles. Ce constat est d'autant plus important que la fluméthrine, au contraire des deux autres substances citées, est une substance active autorisée en tant qu'acaricide apicole.

5.1.4.2 Les acaricides apicoles anciennement autorisés

Les substances concernées par une autorisation révolue sont le coumaphos et, dans une moindre mesure, le bromopropylate⁶⁷. Ce dernier, dont l'utilisation en tant que PPP a été interdite en 2003 (avant le coumaphos), n'a été retrouvé à une fréquence supérieure à 15 %, que dans les données issues des autocontrôles des ciriers (17,8 %). Le coumaphos occupe la deuxième position dans les données des trois études, derrière le tau-fluvalinate : 65,2 % pour les autocontrôles, 62,8 % pour l'étude Cimeqa et 86,8 % pour la CRD. Ces fréquences très importantes s'accompagnent de teneurs moyennes conséquentes, respectivement 0,708 mg/kg, 0,420 mg/kg et 0,857 mg/kg.

5.1.4.3 Les autres substances d'intérêt au regard de leur fréquence ou de leur teneur

Le propargite, substance aux propriétés acaricides de la famille des sulfites esters, était autorisé en Europe, en tant que produit phytopharmaceutique, jusqu'en 2011. Pour autant, son occurrence est de 39,5 % pour les autocontrôles, de 45,7 % pour l'étude Cimeqa et de 76,3 % pour la CRD, ce qui en fait une substance plus fréquemment retrouvée que certains acaricides apicoles autorisés (la fluméthrine par exemple). Le fait de retrouver cette substance à une telle fréquence reste difficile à expliquer, son utilisation en tant que PPP n'étant plus autorisée en Europe depuis de nombreuses années. Ces observations pourraient témoigner de son éventuelle persistance dans l'environnement, ou de son hypothétique accumulation et persistance dans la cire. Néanmoins, sa présence, en tant que contaminant d'origine strictement environnementale, est d'autant plus difficile à expliquer que ses teneurs moyennes observées pour les trois études sont particulièrement élevées. Avec une teneur moyenne de 1,405 mg/kg pour les autocontrôles des ciriers, le propargite se trouve juste derrière le quintozone (donnée non exploitable pour une analyse globale car cette substance n'a été retrouvée que dans un seul des échantillons) et, surtout, devant le coumaphos et le tau-fluvalinate. La teneur moyenne du propargite était de 0,906 mg/kg pour l'étude Cimeqa, ce qui le place largement au premier rang de cette étude, et de 2,214 mg/kg pour l'étude CRD, ce qui lui procure également la première position, devant le thymol, le coumaphos et le tau-fluvalinate dans cet ordre.

Même en excluant les deux substances autorisées en tant qu'acaricides apicoles (tau-fluvalinate et fluméthrine), les substances de la famille des pyréthrinoïdes sont très présentes dans les cires analysées pour les trois études, tant en termes de fréquences que de teneurs : la deltaméthrine, peu souvent présente (18,6 % des échantillons des autocontrôles) mais hautement toxique pour l'abeille, la cyperméthrine (38,4 % des autocontrôles), la perméthrine (47,3 % des cires de la CRD et 37,5 % des cires des autocontrôles), l'acrinathrine (20,3 % des cires des autocontrôles), la tétraméthrine, la bifenthrine, etc.

Parmi les substances les plus fréquemment retrouvées, il convient d'évoquer la présence extrêmement fréquente du PBO⁶⁸ : 33 % des échantillons de Cimeqa, 48,8 % des échantillons des autocontrôles des ciriers et 77,6 % de ceux de la CRD pour une teneur moyenne de 0,152 mg/kg dans cette dernière étude.

La diphénylamine est très fréquemment présente dans les échantillons de cire de l'étude Cimeqa (100 échantillons sur 345, soit 28,9 %), alors que sa présence est rare dans ceux de la CRD (trois des 152 échantillons). Cette fréquence considérable d'occurrence pour les seules cires des apiculteurs professionnels, avec des teneurs de 0,05 à 3,6 mg/kg, soulève la question de son origine, d'autant qu'il s'agit d'une substance active phytopharmaceutique interdite depuis 2010

⁶⁷ Le bromopropylate était jusqu'en 2003 indiqué pour le traitement de l'acarapiose, parasitose des trachées de l'Abeille provoquée par *Acarapis woodi*. Inefficace contre *V. destructor*, son autorisation d'utilisation n'a pas été maintenue.

⁶⁸ Le PBO est un synergisant inclus dans la plupart des spécialités phytopharmaceutiques contenant des pyréthrinoïdes : il renforce leur efficacité insecticide.

(fin d'utilisation en 2011) utilisée auparavant dans les entrepôts de stockage des fruits, notamment des pommes et des poires pour maintenir la qualité de l'épiderme durant la conservation en chambre froide et contrôler le risque d'échaudure de conservation. À ce propos, dans leur étude de 2012, Robatscher et al. (2012) ont évalué le potentiel des installations de stockage de fruits à contaminer des pommes qui n'avaient pas été traitées avec de la diphénylamine. La substance a été retrouvée sur les murs d'un local de stockage (jusqu'à 917 g) et a été associée à une contamination croisée des pommes non traitées qui y ont ensuite été stockées, même plusieurs années après le dernier traitement à la diphénylamine. Sur 689 échantillons de pommes, 481 échantillons contenaient de la diphénylamine à des concentrations allant de 0,41 à 2 mg/kg, ce qui dépasse la limite maximale de résidus (LMR) actuelle de l'UE qui est de 0,05 mg/kg (règlement (UE) 2018/1515). À partir des constats de cette étude, il pourrait être envisagé que des cires, brutes ou gaufrées, puissent être indirectement contaminées par la diphénylamine si elles ont été stockées dans des locaux utilisés auparavant pour l'entreposage de fruits traités lors de leur stockage. Dans certaines régions, les apiculteurs peuvent recourir à de telles conditions de stockage pour leurs cires et cadres gaufrés (Martel A.C., communication personnelle). Une autre hypothèse envisageable, mais qui resterait également à démontrer, serait celle de la contamination de la cire lors de son processus de recyclage. En effet, la diphénylamine peut être notamment incorporée dans les lubrifiants et les graisses (ECHA⁶⁹), composants susceptibles d'être utilisés pour l'entretien régulier du matériel mécanique destiné au recyclage de la cire. Les données dont disposent les experts au moment de la rédaction de ce rapport ne permettent pas de conclure sur l'origine de la diphénylamine.

Les organochlorés comme les isomères du HCH (alpha, bêta, gamma [lindane] et delta-HCH) ou le DDT sont encore actuellement régulièrement présents dans les cires étudiées (cf. chapitre 5.1.1.5 sur les organochlorés), malgré l'arrêt de leur utilisation depuis une trentaine d'années. Respectivement 19,2 % et 16,4 % des cires des autocontrôles menés par les ciriers contiennent du DDT et du lindane (teneurs moyennes de 0,83 mg/kg en bêta-HCH et 0,534 mg/kg en alpha-HCH), et par ailleurs 8,6 % des cires de l'étude Cimeqa sont contaminées par du lindane. En ce qui concerne les échantillons de cires de la CRD, bien que peu fréquemment contaminés, ils le sont à des teneurs non négligeables : 0,483 mg/kg pour l'alpha-HCH et 0,28 mg/kg pour le bêta-HCH, respectivement au 5^{ème} et 6^{ème} rang des teneurs moyennes (juste derrière le coumaphos à 0,857 mg/kg et le tau-fluvalinate à 0,520 mg/kg), et 0,112 mg/kg pour le delta-HCH (au 12^{ème} rang, devant le chlorfenvinphos, la fluméthrine et la perméthrine).

Enfin, il semble que les cires issues de l'étude Cimeqa soient plus fréquemment contaminées par des produits phytopharmaceutiques fongicides voire herbicides, ce qui pourrait être le reflet des pratiques apicoles des apiculteurs professionnels et de la conduite de leurs colonies (miellées sur grandes cultures monovariétales, par exemple).

5.1.5 Limites et incertitudes de l'état des lieux de la contamination des cires en France

Une limite commune à l'ensemble des analyses est l'origine géographique des cires pour laquelle il existe un biais déclaratif. L'existence en Europe de pays de transit complexifie encore l'obtention de cette donnée.

S'agissant des analyses de laboratoire, le dosage de l'amitraz ne fait pas l'objet d'un rendu de résultat homogène. Les méthodes de calculs peuvent varier d'un laboratoire à l'autre. Il fut difficile de comparer les résultats obtenus par extraction des données de la revue de la bibliographie et

⁶⁹[Diphenylamine - 1,1,1-Trichloroethane and Four Other Industrial Chemicals - NCBI Bookshelf](#)

également ceux des données des autocontrôles des ciriers. Cependant, les échantillons analysés pour les études CRD et Cimeqa l'ont été par le même laboratoire et ont bénéficié de rendus de résultats homogènes.

Enfin, la fréquence de détection des substances actives peut être liée à un réel usage, mais également résulter de leur coefficient de partage octanol/eau Log $P_{o/w}$ (lipophilie de la substance à laquelle est directement liée sa capacité de stockage dans la cire), ainsi que de la capacité des méthodes analytiques mises en œuvre dans les laboratoires à les identifier. Il existe en effet un certain nombre de substances non détectées, car certaines se dégradent et leurs métabolites ne sont pas recherchés ou ne sont pas listés dans les méthodes d'analyses appliquées qui sont des méthodes ciblées.

L'incertitude analytique sur les résultats de recherches multirésidus dans les échantillons de cires est de l'ordre de 50 % pour la plupart des substances recherchées. Néanmoins, les coefficients de variations étudiés pour les duplicats de la CRD montrent de faibles valeurs (inférieures ou égales à 20 %).

Il existe parfois une variabilité des résultats d'un laboratoire à l'autre, en lien non seulement avec la méthode analytique mise en œuvre mais également avec l'échantillonnage (l'endroit de prise de l'échantillon sur une même feuille de cire gaufrée, la qualité de l'échantillon envoyé, mais aussi la préparation de cet échantillon avant envoi aux laboratoires).

Certaines substances ont été trouvées dans les sources de données françaises (autocontrôles des ciriers, Cimeqa, CRD), mais ne figurent pas dans le tableau récapitulatif de substances retrouvées à travers la revue de la bibliographie. Après vérification, le quintozone ou le spirodiclofène sont cités dans certains articles mais leur fréquence d'occurrence étant inférieure à 20 % des échantillons testés, ils n'ont pas été retenus⁷⁰.

Compte tenu des disparités, des manques et de l'absence de base de données (BDD) commune et complète, les DL₅₀ orale et de contact utilisées pour ces travaux ont été référencées, en premier lieu par la base de données européenne OpenFoodTox⁷¹ et, en l'absence de référence de la BDD européenne, à partir de la BDD « PPDB » *Pesticide Properties Database*⁷² (2024). En l'absence de données pour ces deux bases, une recherche était effectuée dans la publication de Atkins, Greywood, et MacDonald (1975). Malgré cet ensemble de références, plusieurs DL₅₀ étaient toujours manquantes.

Enfin, les DL₅₀ orale et de contact qui ont été collectées par les experts correspondent à des données spécifiques des adultes et non des larves.

5.2 Exposition

L'exposition des individus de la ruche à la cire contaminée par des substances chimiques s'effectue par contact cuticulaire (voie topique) ou par ingestion directe de la cire (malaxage pour le bâtissage – voie orale) ou par ingestion des ressources nutritionnelles qui ont été stockées en contact avec la cire (voie digestive) (cf. Figure 43).

⁷⁰ Certains articles de la revue de la bibliographie portaient sur la détection de substances chimiques dans la cire par des méthodes d'analyses multirésidus. Dans ce cas, seules les données concernant les contaminants retrouvés dans plus de 20 % des échantillons ont été extraites.

⁷¹ [Chemical Hazards Database \(OpenFoodTox\) | EFSA](https://chem.spa.ars-esch.ch/foodtox/)

⁷² <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>

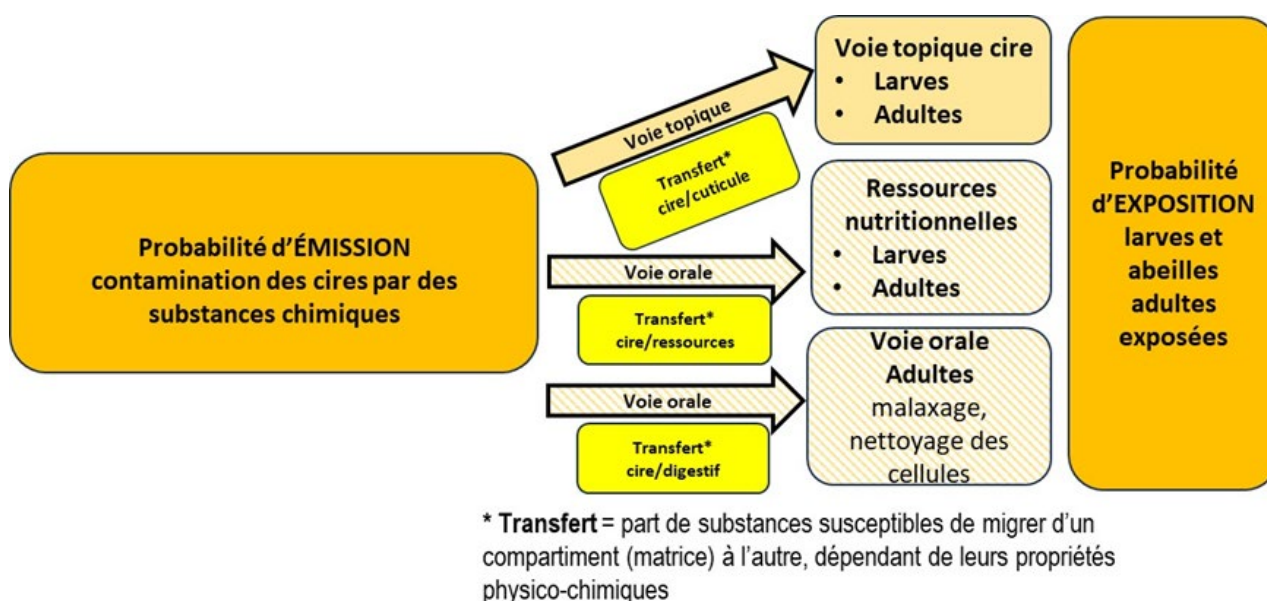


Figure 43 : Schéma des voies d'exposition des abeilles et de la colonie aux substances chimiques contaminantes contenues dans la cire (Source : GT Cires)

5.2.1 Transfert de substances chimiques contaminantes entre matrices

Le transfert de résidus de contaminants par contact de la cire avec d'autres matrices apicoles doit être considéré. Les résidus de substances chimiques accumulés dans la cire conduisent par ce transfert à l'exposition de la colonie et ses individus (Serra-Bonvehí et Orantes-Bermejo 2010). Les membres du GT ont identifié une trentaine d'études scientifiques, dont une revue, évaluant le transfert de substances entre matrices apicoles dont la cire.

5.2.1.1 Historique

Une première étude menée aux États-Unis a recherché les résidus d'insecticides à base d'hydrocarbures chlorés présents dans des échantillons de miel et de cires d'opercules. Les résultats ont mis en évidence des teneurs de résidus beaucoup plus élevées dans la cire que dans le miel (Estep et al. 1977). La présence de substances chimiques contaminantes dans la cire pourrait ainsi constituer une source persistante de substances toxiques pour les générations futures d'abeilles. Plus tard, une étude de 1979 évoque le transfert de substances chimiques d'une matrice à une autre, sans toutefois en faire la preuve. Elle fait suite à l'utilisation par épandage aérien du parathion-méthyl encapsulé sur des fleurs aux États-Unis (Rhodes et al. 1979). Les abeilles butineuses ont alors collecté et stocké des microcapsules de cet insecticide avec le pollen. Bien qu'appliqué à plusieurs kilomètres des colonies, ce traitement a conduit à la mort d'un millier d'entre elles.

5.2.1.2 Transfert de substances chimiques contaminantes entre les différents compartiments de la ruche

Bien qu'elles soient parfois étudiées de façon indépendante, les différentes matrices qui composent la ruche sont en réalité connectées. La cire est en contact étroit avec les différents stades de développement du couvain (œufs, larves, nymphes), les abeilles adultes, ainsi que le miel, le pain d'abeilles et le pollen.

➤ Mécanismes de transfert de substances

De 1992 à 2023, près de la moitié des études portent sur la présence dans la cire d'acaricides, principalement à usage apicole, à la suite d'applications volontaires. Les résidus d'acaricides persistent au sein de la colonie et conduisent à une contamination diffuse des produits de la ruche. Par exemple, les teneurs en tau-fluvalinate varient au cours du temps au sein des matrices (abeilles ou cires) et selon les méthodes d'application (Bonzini et al. 2011). Selon Bonzini et al. (2011), les abeilles adultes sont les principaux vecteurs de dispersion des substances chimiques dans les matrices apicoles. Elles jouent à la fois un rôle passif et actif. La dispersion passive se produit par le contact de leurs pattes et de leur corps avec une surface contaminée (une bande de polychlorure de vinyle (PVC) dans le cas d'un traitement avec le tau-fluvalinate) et la diffusion ultérieure du composé dans la ruche, en particulier sur les surfaces de cire ou de bois/propolis sur lesquelles elles se déplacent. La dispersion active se produit lorsque le composé est incorporé dans le corps de l'abeille par diverses voies (transfert interne lors du contact, ingestion et respiration). Le composé pourrait ensuite être métabolisé et/ou transféré aux produits de la ruche (miel, pollen, gelée royale, cire nouvellement sécrétée) qui peuvent également être contaminés par contact avec la cire ou par contact avec les individus (transport passif des contaminants).

➤ Transfert de substances de la cire vers les individus

Le couvain est élevé au contact étroit de la cire au cours de son développement. Les larves sont nourries avec une bouillie nourricière composée de pain d'abeilles et de miel (Haydak 1970), de sorte que les stades immatures peuvent être exposés à des résidus d'acaricides et d'autres polluants environnementaux par l'ingestion d'aliments ou par les matrices contaminées avec lesquelles ils sont en contact (Tremolada et al. 2004). Fulton, Huff Hartz, Reeve, et al. (2019) ont comparé différents groupes de colonies et notamment : (i) celles dont les cires étaient contaminées par du tau-fluvalinate pour les unes, (ii) celles traitées par des bandes imprégnées de tau-fluvalinate mais dont les cires n'étaient pas contaminées pour les autres. Ils ont montré que les larves présentaient des teneurs détectables de tau-fluvalinate dans chaque groupe et que, pour les abeilles adultes, les teneurs en résidus que présentaient les individus des colonies sans traitement, mais avec de la cire contaminée, étaient comparables à celles des individus des colonies qui avaient été soumises au traitement. Les auteurs concluent que le transfert du tau-fluvalinate de la cire aux abeilles adultes est une voie d'exposition importante. Une autre étude confirme que le couvain est exposé au coumaphos par contact et/ou ingestion, par le transfert de la substance au sein de la ruche (Luna et al. 2023).

➤ Transfert de substances de la cire vers les ressources nutritionnelles

Les contaminants peuvent diffuser de la cire vers les différentes matrices stockées dans des cellules de la colonie et inversement (Tremolada et al. 2004). Il est notamment démontré qu'une cire contaminée peut contaminer le miel par contact (Wallner 1999; Kochansky, Wilzer, et Feldlaufer 2001; Albero, Miguel, et García-Valcárcel 2023; Lozano et al. 2019; Murcia Morales et al. 2020). Par exemple, l'étude de Kochansky, Wilzer, et Feldlaufer (2001) montre qu'une cire contaminée avec 1 mg/kg de coumaphos conduit à une teneur en résidus de coumaphos de 0,430 mg/kg dans le miel après 26 semaines de contact avec la cire. Lozano et al. (2019) ont plus particulièrement évalué la distribution et la tendance de migration des acaricides depuis différentes matrices apicoles (cire et pain d'abeilles) vers le miel. Les auteurs ont constaté que les quantités de résidus d'acaricides retrouvés dans le miel représentaient, en valeur moyenne, environ 4 % de la somme des quantités détectées dans les deux autres matrices (cire et pain d'abeilles). Le transfert de substances acaricides de la cire vers les ressources nutritionnelles a

fait l'objet de deux études récentes portant sur le coumaphos. L'une démontre qu'une teneur jusqu'à 20 mg/kg de coumaphos dans la cire n'entraîne pas de transfert de l'acaricide vers les réserves de nourriture (Kast et Kilchenmann 2022), l'autre précise qu'à des teneurs plus élevées, le coumaphos est le seul acaricide des trois testés, avec le tau-fluvalinate et le chlorfenvinphos, à transférer de la cire vers le miel (Fuente-Ballesteros et al. 2023).

Des études ont tenté d'évaluer la migration de différents contaminants et de déterminer expérimentalement leur répartition entre la cire et le miel, ainsi que leur durée de demi-vie (Baša Česnik, Kmecl, et Velikonja Bolta 2019; Kast, Kilchenmann, et Charrière 2021; Murcia Morales et al. 2020; Shimshoni et al. 2019). Adams et al. (2008) ont étudié la présence et la cinétique de dégradation du chloramphénicol, antibiotique aujourd'hui interdit en Europe, mais autrefois utilisé en médicament vétérinaire apicole contre l'agent de la loque américaine *Paenibacillus larvae*. Les abeilles de six colonies ont été traitées par leur alimentation, et les résidus ont été mesurés dans le miel, la gelée royale, la cire, les abeilles adultes et le couvain. Les teneurs en chloramphénicol étaient les plus fortes dans la cire par rapport à celles de toutes les autres matrices, à l'exception du miel, où elles étaient comparables. Cette étude souligne que la cire peut agir comme un réservoir de substances chimiques à l'intérieur de la ruche. De plus, la réutilisation de cire contaminée par du chloramphénicol pourrait contribuer à une contamination ultérieure du miel.

Le transfert de substances chimiques contaminantes depuis l'environnement vers la ruche a également été mis en évidence pour plusieurs néonicotinoïdes. Un ratio de transfert a été calculé pour chaque composé détecté, notamment l'acétamipride, l'imidaclopride et le thiaméthoxame (Silvina Niell et al. 2017). Bien que l'imidaclopride soit une molécule très soluble dans l'eau, elle a été retrouvée dans 60 % des échantillons de cire avec des niveaux allant de 0,001 (LQ) à 0,035 mg/kg dans la cire des cellules de couvain et de 0,001 jusqu'à 0,012 mg/kg dans la cire prélevée dans les hausses (Michlig et al. 2023).

Raimets et al. ont étudié la migration du fongicide tébuconazole, entre les différentes matrices apicoles (la cire, la gelée royale, les larves royales et les reines émergentes). Le transfert entre la cire et la gelée royale est très faible et aucun résidu n'est mis en évidence chez les larves et les reines, sans que les auteurs n'excluent la possibilité d'une certaine toxicité chronique à long terme (Raimets et al. 2022). Piechowicz et al. (2022) ont suivi le transfert de trois fongicides appliqués à l'extérieur de la ruche, sur des feuilles, des fleurs et du pollen de pommiers. Deux jours après le traitement, des résidus ont été retrouvés sur les ouvrières, ainsi que dans le couvain, le miel et la cire. Ces contaminations résultent du transport des substances à l'intérieur de la ruche par les abeilles butineuses. Les résidus présents dans divers compartiments de l'environnement (pollen, feuilles, fleurs et sol) et leur occurrence dans la ruche (ouvrières, couvain, miel, cire) sont corrélés (Piechowicz et al. 2021).

La répartition des contaminants dans les différentes matrices apicoles dépend du site de leur application, du degré de lipophilie de chaque contaminant et de la nature de la matrice apicole.

5.2.1.3 Transfert de substances chimiques de la cire contaminée vers la cire nouvellement appliquée

Des études récentes ont montré que la cire d'abeilles nouvellement construite (opercules mis en place par les abeilles) contenait du coumaphos, à une teneur atteignant 7,3 mg/kg, encore cinq mois après le retrait des lanières de traitement (Kast, Kilchenmann, et Droz 2020). Nozal et al. (2021) montrent également le maintien de substances acaricides lors de l'étirement des cires par les abeilles pour former les opercules. Ils ont collecté des feuilles de fondation de différentes origines sur une période de trois ans, puis les ont analysées pour détecter les résidus de sept acaricides (atrazine, chlorpyrifos, chlorfenvinphos, alpha-endosulfan, bromopropylate,

coumaphos, tau-fluvalinate). Les résidus de coumaphos et de tau-fluvalinate étaient les plus courants, le chlorpyrifos et le chlorfenvinphos étant détectés dans une moindre mesure.

La contamination par le parathion-méthyl a été évaluée dans différentes matrices de la ruche, (i) après la réutilisation de cadres contenant du pollen contaminé et (ii) par l'intermédiaire de la volatilisation du parathion-méthyl à partir de pollen contaminé. Les résultats montrent que cette molécule, libérée dans l'air ambiant de la ruche, avait diffusé jusqu'à la cire des alvéoles et s'y était accumulée (Boelter et Wilson 1984).

D'autres travaux ont mis en évidence le fait que, après plusieurs cycles de couvain, les résidus de substances chimiques migrent, par la cire, des cellules contaminées vers les cellules de cire non contaminées. Les analyses chimiques effectuées ont confirmé cette migration par diffusion des substances entre les cellules mises en contact les unes avec les autres (Wu, Anelli, et Sheppard 2011).

5.2.1.4 Bilan quant au transfert de substances chimiques entre matrices

La distribution des résidus d'acaricides dans les matrices de la ruche montre que la cire d'abeilles est plus fortement contaminée que le miel, le couvain ou les abeilles adultes, pour lesquels les quantités sont considérées comme acceptables par certains auteurs pour les molécules testées (notamment le coumaphos et l'amitraz, en dessous des LMR pour le miel ou des DL₅₀ pour les abeilles adultes ou le couvain) (Albero, Miguel, et García-Valcárcel 2023).

Les substances chimiques contaminantes s'accumulent dans la cire et migrent ensuite vers d'autres matrices apicoles telles que le pain d'abeilles, le miel et le couvain dans des conditions de terrain réalistes (Alkassab et al. 2022; Murcia Morales et al. 2020).

La tendance des contaminants à diffuser, à se disperser ou à s'accumuler dans les autres matrices est conditionnée par différents facteurs, comme la quantité initiale de ces contaminants dans la cire de fondation, les diverses propriétés physico-chimiques de ces substances (solubilité dans l'eau, pression de vapeur, structure moléculaire, valeur de Log P_{ow} et lipophilie) (Goss et Schwarzenbach 2001; Shimshoni et al. 2019), les traitements vétérinaires appliqués par les apiculteurs et la durée d'application du traitement varroocide le cas échéant et la température. De plus, il est supposé, compte tenu des différences d'exposition, que l'impact des contaminants varie selon le stade de développement de l'abeille (couvain ou adulte). Les abeilles jouent un rôle passif et actif en étant capables d'incorporer divers contaminants environnementaux au sein des différentes matrices de la ruche et ces contaminants peuvent ensuite se transférer entre ces matrices, parfois sans intervention directe des abeilles, en raison, notamment, des propriétés physico-chimiques de ces substances. Le couvain d'abeilles, élevé en conditions naturelles, est ainsi exposé à des produits phytopharmaceutiques, des biocides et à des résidus de médicaments vétérinaires apicoles, que ce soit par contact direct avec l'environnement ou par de la cire contaminée et du pain d'abeilles, même si ces produits n'ont pas été directement appliqués sur la ruche (Piechowicz et al. 2021).

De plus, les cires sont généralement contaminées par plusieurs résidus, et les effets combinés de ces substances nécessitent d'être pris en compte. Le PBO est la seule substance pour laquelle l'effet synergique avec d'autres substances (les pyréthrinoides) a été mis en évidence. Des modèles analytiques, notamment ceux basés sur la fugacité appliquée aux produits chimiques organiques non ionisés, peuvent aider à mieux comprendre la distribution de ces contaminants dans l'écosystème de la ruche (Tremolada et al. 2004). Ces modèles, à différentes échelles, permettent d'intégrer les principales sources de contamination et leurs effets sur la ruche, ainsi que les échanges de contaminants au sein de cet écosystème (Tremolada et Vighi 2014). Ainsi, ces modèles facilitent la prédiction du devenir des substances chimiques et de leurs métabolites

dans la ruche, en cohérence avec les données expérimentales, comme pour l'acaricide tau-fluvalinate (Tremolada et al. 2011). Le GT Cires n'a pas eu accès à ces modèles.

5.2.1.5 Limites et incertitudes de l'évaluation du transfert de substances chimiques entre matrices de la ruche

La cire peut non seulement libérer certaines des substances qu'elle contient vers les réserves nutritionnelles de la ruche, le couvain ou les abeilles adultes, mais elle peut également agir comme un tampon en absorbant et stockant les substances lipophiles contenues dans ces matrices, en fonction, notamment, de leur coefficient de partage octanol/eau $\text{Log } P_{o/w}$ (cf. 5.1.2). Plusieurs des études analysées pour ce chapitre montrent les limites de leur protocole d'étude et d'échantillonnage. Ainsi, la variabilité du pourcentage d'une substance à la surface de la cire, par exemple pour le chloramphénicol (allant de 4 à 78 %) (Adams et al. 2008), rend difficile une estimation précise, même lorsque des études tentent de quantifier ces valeurs.

Peu ou pas d'études quantifient le niveau de migration des substances étudiées de la cire vers la cuticule des larves ou de la cire vers les réserves alimentaires de la colonie autres que le miel (pollen et pain d'abeilles). De même, aucune étude ne s'est intéressée à la contamination des abeilles adultes par voie orale lors du nettoyage des cellules.

5.2.2 **Scénarios d'exposition des abeilles aux substances chimiques contaminantes contenues dans la cire en vue d'estimer des teneurs acceptables provisoires**

Les scénarios d'exposition des abeilles et des larves à la cire contaminée par des substances chimiques présentés dans ce chapitre, sont issus de la publication de Wilmart et al. (2021). Il s'agit, au moment de la rédaction de ce rapport, de l'unique publication présentant des scénarios d'exposition des abeilles et de la colonie au risque chimique lié à la cire. Cet article reprend les termes de l'expertise du Comité scientifique de l'AFSCA (Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire 2018). Les hypothèses émises pour chaque scénario et la méthode pour les traduire en équations mathématiques sont celles proposées par les auteurs de cet article scientifique, reprises des experts qui ont œuvré pour le Comité scientifique de l'AFSCA (Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire 2018).

L'exposition y est prise en compte dans un format additif de la toxicité des molécules en présence. Il n'existe pas, au moment de la rédaction de ce rapport, de modèle applicable prédictif pour les associations entre molécules (effet synergique, antagoniste) présentes dans la cire.

Le calcul de teneurs acceptables provisoires (TAP) proposé par le Comité scientifique de l'AFSCA (Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire 2018) permet aux experts du GT de mettre en place une première démarche d'évaluation du risque lié à la présence de substances chimiques dans la cire d'abeilles, pour la santé des abeilles et de la colonie.

5.2.2.1 Méthode suivie

Les experts ont envisagé de déterminer des teneurs acceptables provisoires relatives à chaque substance chimique contaminante contenue dans la cire. Une TAP est calculée pour chaque substance et pour chaque scénario d'exposition envisagé (cf. 5.2.2.5, 5.2.2.6, 5.2.2.7) ; ainsi, à chaque substance correspondent trois TAP. Afin de préserver la santé des abeilles et des colonies, c'est la TAP la plus faible qui est prise en compte pour une substance donnée. En dessous de la valeur de TAP la plus faible d'une substance, l'exposition est considérée comme

acceptable, sans conséquence pour les individus de la colonie, au-dessus de cette valeur de TAP, l'exposition est considérée comme dangereuse et engendrant potentiellement des conséquences pour les individus de la colonie.

Le groupe de travail a utilisé les trois scénarios définis antérieurement par le Comité scientifique de l'AFSCA (Wilmart et al. 2021; Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire 2018) :

- scénario n°1 : exposition des larves par contact étroit avec la cire des alvéoles dans lesquelles elles se développent ;
- scénario n°2 : exposition des larves par ingestion de gelée royale et de pain d'abeilles contaminés par la cire lors de leur stockage dans les alvéoles ;
- scénario n°3 : exposition des abeilles adultes par malaxage de la cire lors de la confection des alvéoles dans un scénario maximaliste qui correspondrait à une consommation (ingestion) de cire.

5.2.2.2 Prise en compte du taux de transfert des substances chimiques contaminantes pour le calcul de chaque TAP

Pour chaque scénario, le taux de transfert de chaque substance entre la cire et les matrices considérées est pris en compte pour le calcul de la TAP. L'accumulation des résidus de substances chimiques dans la cire d'abeilles est directement liée à leur caractère lipophile (Thompson 2012). L'hypothèse selon laquelle une partie de ces substances migrerait ensuite de la cire d'abeilles vers la larve d'abeille ou vers les réserves alimentaires stockées dans les alvéoles a alors été faite (Wilmart et al. 2021). Afin d'estimer ce transfert (qui n'est pas connu au moment de la rédaction), les valeurs des coefficients de partage octanol/eau ($\text{Log } P_{o/w}$) (cf. chapitre 5.1.2 ; Tableau 25) des composés ont été prises en compte dans une première approche (Wilmart et al. 2021). Ensuite, ces coefficients ont été transformés en pourcentage permettant de les placer 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). Il a été considéré que le taux de transfert⁷³ de chaque substance correspond à ce coefficient exprimé en pourcentage. La même valeur de taux de transfert a été utilisée pour caractériser la migration entre la cire et la larve ou entre la cire et les réserves alimentaires (gelée royale et pain d'abeilles).

5.2.2.3 Prise en compte de 10 % de la dose létale 50 pour le calcul de chaque TAP

Dans la mesure où les valeurs des NOAEL ne sont pas connues pour la plupart des substances, c'est le seuil de 10 % de la valeur de la DL_{50} qui a été retenu. Ce facteur de $1/10^e$ appliqué à la DL_{50} permet de compenser en partie certaines incertitudes, comme le fait que les données de DL_{50} ne sont pas complètes pour les larves, ou encore l'absence de prise en compte des interactions possibles entre les substances actives (Traynor et al. 2016).

5.2.2.4 Hypothèse(s) maximaliste(s) considérées pour chacun des trois scénarios

Pour chaque scénario, les auteurs ont émis les hypothèses maximalistes suivantes :

- dans le scénario n°1, la totalité des substances contaminantes contenues dans la cire diffuse progressivement vers la larve ;

⁷³ Ce taux de transfert consiste à rééchelonner la gamme de log de P en pourcentage selon la formule suivante : Taux de transfert estimé sur la base du $\text{Log } P_{o/w} = [\text{Log } P_{o/w} - \text{Min} (\text{Log } P_{o/w})] / [(\text{Max} (\text{Log } P_{o/w}) - \text{Min} (\text{Log } P_{o/w})) / 100]$.

- dans le scénario n°2, (i) la totalité des substances contaminantes contenues dans la cire diffuse progressivement vers la nourriture de la larve ; (ii) la consommation quotidienne maximale de la larve a été prise en compte pour chacun des six jours d'exposition considérés ;
- dans le scénario n°3, la totalité des substances contaminantes contenues dans la quantité de cire malaxée par l'abeille est considérée comme ingérée par celle-ci.

5.2.2.5 Calcul de la TAP1 pour le scénario n°1 : larves d'abeilles en contact avec la cire

Les hypothèses prises en compte pour le scénario n°1 (cf. Figure 44) par les auteurs (Wilmart et al. 2021) et reposant sur des travaux scientifiques sont les suivantes :

- bien que la larve soit composée d'environ 80 % d'eau, la cuticule, de composition essentiellement lipidique, favorise le transfert par contact (de la cire vers la larve) des molécules les plus lipophiles ;
- le coefficient de transfert permet de déterminer la proportion de la substance qui est transférée. Les molécules les plus lipophiles présentes dans la cire migreront davantage vers la larve. A chaque substance présente est appliqué son coefficient de transfert ;
- l'exposition a été évaluée sur une période de six jours, correspondant à la durée du stade larvaire ;
- la source d'exposition des larves correspond à la cire gaufrée constituant le fond de l'alvéole. Il a été considéré que la larve, du fait de sa petite taille sur la période considérée, n'était en contact qu'avec le fond de l'alvéole. La quantité de cire représentée par le fond de l'alvéole a été fixée à 11,8 mg (poids d'une feuille de cire rapporté aux nombres d'alvéoles).

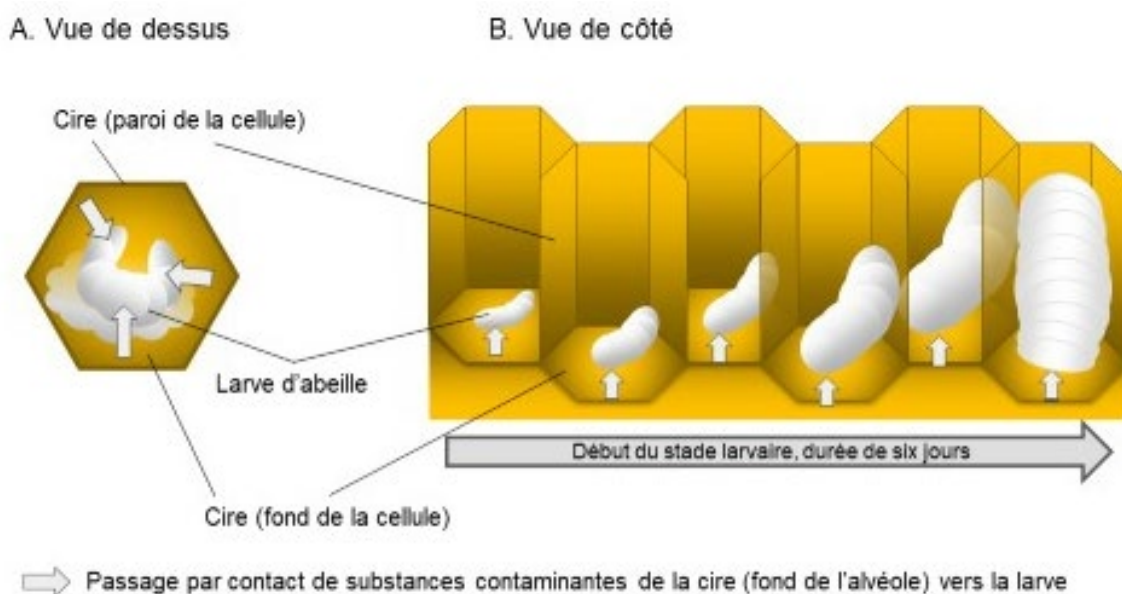


Figure 44 : Représentation schématique du scénario d'exposition n°1 (Source : GT Cires)

Ainsi, sur la base des hypothèses formulées précédemment par les auteurs, la teneur maximale d'une substance, à ne pas dépasser (TAP) dans la cire d'abeilles, sous peine d'influencer négativement la santé des larves d'abeilles suite à leur contact étroit avec la cire, est estimée à l'aide de la formule suivante (Équation 1).

**Équation 1 : Formule de détermination de la TAP (teneur acceptable provisoire) selon le scénario n°1
(Source (Wilmart et al. 2021))**

$$TAP1 = \left(\frac{\left(\left(\frac{DL50}{\text{Taux}} \times \frac{\text{contact} \times \left(\frac{10}{100} \right)}{\text{transfert}} \right) \times \text{Durée} \times \text{exposition} \right)}{\text{Source exposition}} \right) \times 1000$$

"Source d'exposition" = 1/6 de la quantité de substance dans 11,8mg de cire. Coefficient de transfert : de 0 à 100 selon la lipophilie de la substance considérée. DL50 : contact (établi pour chaque substance). Durée d'exposition : 6 jours.

5.2.2.6 Calcul de la TAP2 pour le scénario n°2 : larves d'abeilles consommant des denrées contaminées à partir de la cire

Le scénario n°2 (cf. Figure 45) est basé sur les hypothèses suivantes (Wilmart et al. 2021; Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire 2018) :

- la larve consomme de la gelée royale les trois premiers jours puis de la bouillie larvaire, cependant seule la consommation quotidienne maximale (hypothèse maximaliste) de 19 mg de gelée royale, a été considérée ;
- un taux de 5 % en lipides a été considéré aussi bien pour le pollen que pour la gelée royale ; l'ingestion quotidienne de lipides considérée a été fixée à 0,95 mg (19 mg x 5 %) ;
- comme dans le scénario précédent, la durée d'exposition correspond aux six jours de développement larvaire ;
- il a été supposé que la quantité totale de chaque contaminant diffusait progressivement de la cire vers les lipides contenus dans la gelée royale (ou bouillie larvaire) en contact avec cette cire ;
- le coefficient de transfert permet de déterminer la proportion de la substance qui est transférée. Les molécules les plus lipophiles présentes dans la cire migreront davantage vers la partie lipidique du régime alimentaire. À la totalité de chaque substance présente est appliqué son coefficient de transfert ;
- la contamination initiale des matières premières (pollen et miel) n'a pas été prise en compte ; la gelée royale est peut-être aussi contaminée puisqu'elle est le résultat d'une sécrétion des ouvrières, mais cette hypothèse reste à démontrer puisqu'une récente étude tend à conclure sur un rôle détoxifiant des ouvrières lors de la sécrétion de la gelée royale à partir d'une alimentation contaminée (Wueppenhorst et al. 2024) ;
- la source d'exposition retenue correspondait cette fois à la masse totale de cire constituant une alvéole bâtie désoperculée, à savoir 21,5 mg de cire (0,0215 g) (El Agrebi et al. 2019). Il est en effet considéré que l'alvéole est remplie de ressources alimentaires et que la surface de contact est maximale.

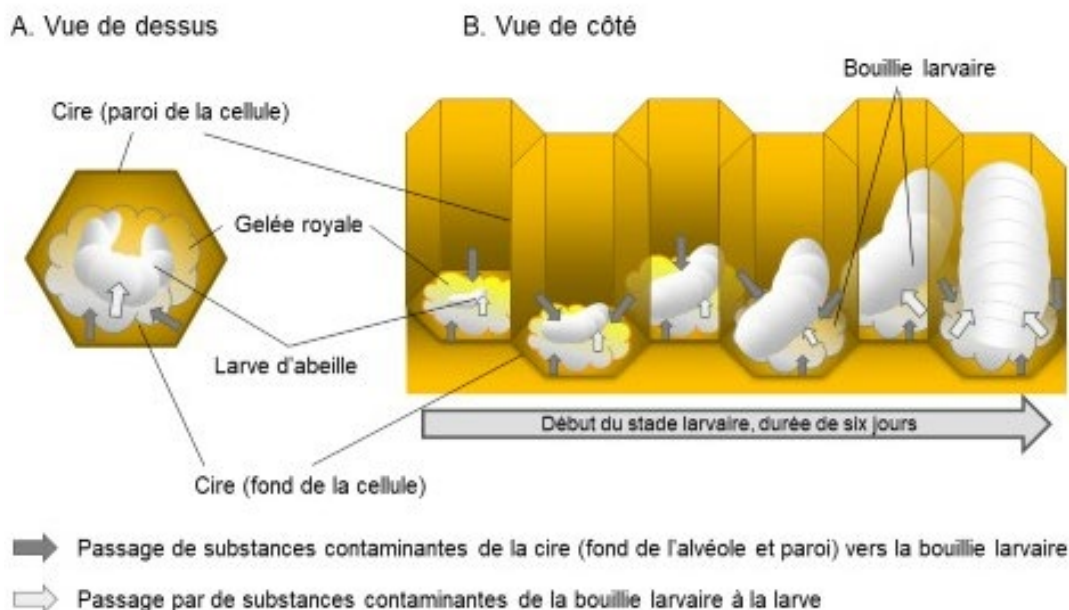


Figure 45 : Schéma du scénario d'exposition n°2 (Source : GT Cires)

La détermination de la TAP2 repose sur la formule suivante (Équation 2) :

Équation 2 : Formule de détermination de la TAP (teneur acceptable provisoire) selon le scénario 2 (Source : Wilmart et al 2021)

$$TAP2 = \left(\frac{\left(\frac{\left(\frac{DL50}{\text{Ingestion}} \times \frac{\text{lipides via}}{\text{consommation}} \right) \times \left(\frac{10}{100} \right)}{\text{Taux}} \right) \times \text{Durée exposition}}{\text{Source}} \right) \times 1000$$

5.2.2.7 Calcul de la TAP du scénario n°3 : abeille adulte consommant de la cire lors du malaxage

Le scénario n°3 est basé sur les hypothèses suivantes (Wilmart et al. 2021; Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire 2018) :

- les abeilles ne malaxent réellement que la cire nouvellement synthétisée. Cela correspond à un malaxage de 12,6 mg (0,0126 g) de cire par abeille et par jour (El Agrebi et al. 2019) ;
- l'ingestion de cire considérée est un scénario maximaliste qui assimile le malaxage de la cire par les abeilles lors de la confection des alvéoles à l'ingestion de cette dernière et donc à l'ingestion de l'ensemble des substances qu'elle contient.

La détermination de la TAP3 (TAP établie sur le scénario n°3) repose sur la formule suivante établie par Wilmart et al. (2021) sur la base des travaux du Comité scientifique de l'AFSCA (2018) (cf. Équation 3).

Équation 3 : Formule de détermination de la TAP (teneur acceptable provisoire) selon le scénario 3

$$TAP3 = \left(\frac{\left(DL50 \text{ orale} \times \left(\frac{10}{100} \right) \right)}{\text{"Ingestion" cire}} \right) \times 1000 \mu\text{g/g}$$

5.2.2.8 Bilan quant aux scénarios d'exposition des abeilles à la cire contaminée

Pour les travaux des experts du GT Cires, tout comme cela a été proposé par le Comité scientifique de l'AFSCA (Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire 2018), pour chaque substance présente dans les échantillons de cire ont été calculées trois TAP, correspondant à l'application de chacun des trois scénarios. Le GT a décidé de retenir la TAP la plus faible des trois scénarios d'exposition de manière à préserver la santé de l'abeille. Il s'agissait le plus souvent du scénario n°3 (cf. Chapitre 5.2.3).

5.2.2.9 Limites et incertitudes des scénarios d'exposition

Les incertitudes mises en évidence pour l'élaboration et la prise en compte des scénarios d'exposition reposent sur les éléments suivants :

- le second scénario correspond à l'exposition des larves à la suite de la consommation de gelée royale et de pain d'abeilles ayant été contaminés par la cire lors de leur stockage dans les alvéoles de cire. 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 ;
- les DL₅₀ par contact ou orale : la toxicité de certaines substances chimiques détectées dans la cire d'abeilles n'est actuellement pas connue pour les abeilles et quasiment aucune donnée n'existe pour les larves. Il existe très peu de données sur l'impact de l'exposition chronique à des doses sublétales sur la santé des abeilles, les données disponibles sur la toxicité aiguë des substances actives, c'est-à-dire leur DL₅₀ 48 h après l'exposition, ont donc été utilisées comme première approche. Lorsqu'une DL₅₀ pour les larves n'était pas disponible (exhaustivité des cas) et qu'une DL₅₀ était disponible pour l'abeille adulte, alors la DL₅₀ pour l'adulte a été prise en compte ;
- prise en compte de 10 % de la DL₅₀ : pour compenser les incertitudes liées à la non prise en compte de la contamination initiale du pollen et de la gelée royale, des données de DL₅₀ fragmentaires pour les larves et de la non prise en compte des interactions possibles entre substances actives un facteur de 10/100 a été appliquée aux DL₅₀ disponibles ;
- facteurs de transfert : les facteurs de transfert entre matrices apicoles sont actuellement très peu connus. Le comité scientifique de l'AFSCA a choisi d'estimer ce transfert en utilisant l'ensemble des valeurs des coefficients de partition octanol/eau (Log P_{o/w}) d'un peu moins d'une centaine de composés. Ensuite, ces coefficients ont été transformés en pourcentage 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). Un article récent a aussi trouvé que les produits phytopharmaceutiques et biocides ayant la plus grand Log P_{o/w} étaient plus persistants dans la cire d'abeilles (Kast et Kilchenmann 2022) ;
- stade larvaire du scénario 1 : un stade larvaire de six jours a été pris en compte. Winston (1991) précise qu'en moyenne cette durée est de 5,5 jours mais qu'elle peut varier de 4 à

11 jours. Le contact entre la larve et le fond de l'alvéole pris en compte correspond à une réalité du début du stade larvaire mais pas de fin de stade larvaire ;

- scénario 2 (exposition des larves par voie orale) : seule une consommation quotidienne maximale de 19 mg de gelée royale a été prise en compte pour le calcul, qui correspond à l'ingestion quotidienne de 0,95 mg (= 19 mg x 5 %) de lipides. Les normes OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques) recommandent une consommation larvaire de 22 mg par jour et par larve avec un aliment composé de 50 % du poids de la gelée royale fraîche + 50 % du poids d'une solution aqueuse (OCDE 2013; 2016) ;
- surestimation du scénario 3 : dans une première approche, l'hypothèse prise en compte est que la mastication de la cire conduit à l'ingestion de la quantité totale de contaminants contenus dans la cire d'abeilles contaminée (Bauer et Bienefeld 2013; Snodgrass 1910). Toutefois, l'abeille cicière ne fait pas que malaxer et étirer la cire ; elle se nourrit aussi de pollen pour vivre (Snodgrass 1910). Dès lors le scénario mène à une surestimation du risque ;
- données de contamination utilisées : les échantillons de cire d'abeilles ont été prélevés et analysés de différentes manières selon les études et certaines études ont rapporté des teneurs de résidus basées sur un ensemble (très) limité d'échantillons ;
- les scénarios présentés n'évaluent ni les effets sur les faux bourdons ni les effets sur les reines (qui vivent plusieurs années dans une ruche).

5.2.3 Application des scénarios d'exposition aux résultats obtenus par l'étude sur les cires distribuées en France

Les scénarios précédemment présentés avaient pour objectif de déterminer les teneurs acceptables provisoires (TAP) en mg/kg des différentes molécules identifiées dans les échantillons de cire de l'étude CRD. Néanmoins, du fait du manque de données toxicologiques (DL₅₀ orale et/ou par contact indisponibles), les TAP n'ont pas pu être calculées pour près de 30 % des 70 molécules identifiées, dont le coumaphos et le PBO, qui font partie des substances les plus fréquemment détectées et quantifiées dans les 152 échantillons de l'étude CRD. S'agissant du PBO toutefois, sa dangerosité est liée à son action de synergisant des pyréthriinoïdes, plus qu'à sa toxicité propre.

Comme vu précédemment, pour chaque molécule présente dans les échantillons de cire analysés, trois TAP ont été calculées correspondant à chacun des trois scénarios envisagés. Ces TAP ne dépendent que de la DL₅₀ et du taux de transfert de chaque substance. La TAP la plus faible, et donc la plus restrictive, a été sélectionnée afin d'être comparée aux teneurs de chacune des substances retrouvées pour l'ensemble des échantillons, ainsi que pour chaque échantillon considéré individuellement.

Plus globalement, les TAP les plus basses correspondent au scénario d'exposition des abeilles adultes par malaxage de la cire (scénario maximaliste). Les teneurs observées dans les échantillons sont donc majoritairement comparées aux TAP de ce scénario, ce qui représente 90 % des substances pour lesquelles le calcul des TAP était possible (Wilmart et al. 2021).

Les TAP les plus faibles calculées concernent les substances hautement toxiques pour les abeilles, avec notamment des valeurs de 0,34 mg/kg pour la perméthrine ou encore de 0,46 mg/kg pour la fluméthrine (pourtant utilisée dans certains médicaments apicoles). La plus faible TAP enregistrée, avec une valeur de 0,3 mg/kg, concerne les isomères alpha, bêta, gamma

(lindane) et delta-HCH. À l'inverse, le thymol possède l'une des TAP les plus élevée, ce qui suggère un moindre risque.

Dans le cas d'un scénario d'exposition des larves par contact avec la cire qui compose leur milieu de développement, seules cinq molécules ont obtenu une TAP inférieure.

Pour le scénario d'exposition des larves par ingestion d'aliments contaminés, aucune des TAP calculées n'était plus restrictive que celles calculées pour les deux autres scénarios.

Près de 10 % des 152 échantillons analysés, soit 15 d'entre eux, dépassent pour au moins une molécule la TAP la plus faible calculée pour chacun des scénarios (cf. Tableau 38). Les molécules qui dépassent cette TAP, sont également parmi les plus toxiques pour l'abeille, à savoir la **perméthrine, l'acrinathrine, ou encore les isomères du HCH dont le lindane**.

Tableau 38 : Molécules dont la teneur dans les échantillons de cire dépasse la TAP calculée pour la CRD

Substance	Fréquence de quantification (%)	Teneur moyenne en mg/kg	Teneur médiane en mg/kg	Teneur maximum en mg/kg	TAP en mg/kg	Nombre de dépassements de la TAP
perméthrine	47,37	0,094	0,066	0,520	0,339	2
lindane HCH gamma	13,16	0,043	0,016	0,360	0,029	6
acrinathrine	15,79	0,181	0,068	0,740	0,201	7
HCH delta	2,63	0,113	0,014	0,410	0,029	1
HCH alpha	1,32	0,484	0,484	0,950	0,029	1
HCH beta	0,66	0,280	0,280	0,280	0,029	1

5.3 Conséquences de la présence de substances chimiques dans la cire sur la santé des abeilles et de la colonie

5.3.1 Étude bibliographique : effets de la contamination des cires par des substances chimiques sur la santé des abeilles et de la colonie

5.3.1.1 Effets de la contamination des cires par des substances chimiques sur la mortalité et le développement des individus et de la colonie

Parmi les 29 publications examinées par les experts, peu établissent un lien direct entre la contamination chimique de la cire et la mortalité des abeilles ou des colonies. La plupart de ces études n'avait pas pour objectif initial d'évaluer les effets de la cire contaminée sur les abeilles ou le couvain. Les éléments de ces publications, repris ici, ne constituent donc pas une preuve formelle.

Certaines études de terrain n'ont mis en évidence aucune corrélation entre la présence de substances chimiques contaminantes dans la cire et les mortalités hivernales. Par exemple, Pohorecka et al. (2017) ont analysé 306 échantillons de cire de corps issus de ruchers polonais et ont constaté des niveaux de contamination similaires, qu'il y ait eu peu ou beaucoup de pertes hivernales. Les principales substances chimiques détectées étaient des acaricides utilisés en apiculture (bien que seuls le tau-fluvalinate et l'amitrazé soient actuellement autorisés en France). Ces substances, classées par ordre décroissant de fréquence, comprenaient le tau-fluvalinate, le coumaphos, le DMF (métabolite de l'amitrazé), le bromopropylate et l'acrinathrine.

Au contraire, d'autres études rapportent un impact négatif de la contamination de la cire, notamment en termes de mortalité. En général, les études de terrain se concentrent sur la santé des colonies, tandis que les études expérimentales examinent la mortalité individuelle, souvent au stade larvaire.

➤ Mortalité des colonies

Deux études de terrain, menées en 2010 et en 2016, rapportent un lien entre la contamination des cires et la mortalité des colonies, contredisant ainsi les conclusions de Pohorecka et al. (2017). Dans l'étude d'Orantes-Bermejo et al. (2010), 32 échantillons de cire et de pain d'abeilles ont été analysés. Le chlorfenvinphos était détecté dans 100 % des cires (0,0205 mg/kg à 3,1823 mg/kg, moyenne 0,45 mg/kg) et le tau-fluvalinate dans 96,8 % des échantillons (jusqu'à 12,979 mg/kg, moyenne 0,997 mg/kg). Les ruchers touchés par la dépopulation présentaient des concentrations significativement plus élevées en chlorfenvinphos⁷⁴ (Orantes-Bermejo et al. 2010). En se référant à la DL₅₀ du chlorfenvinphos, les auteurs indiquent que des teneurs supérieures à 2,4 mg/kg, proches ou dépassées dans certains échantillons, pourraient engendrer des effets délétères pour les abeilles. À titre de comparaison, les valeurs mesurées dans le cadre des études de terrain de cette expertise restent bien inférieures (max 0,0051 mg/kg pour la CRD, 0,0021 mg/kg pour l'étude Cimeqa et 0,0037 mg/kg pour les autocontrôles ciriers). Plus récemment, El Agrebi et al. (2020) ont mis en évidence, par une approche statistique multivariée, une relation significative entre la présence de chlorfenvinphos dans la cire (0,033 mg/kg en moyenne) et la mortalité hivernale des colonies en Belgique (p = 0,028).

De leur côté, Traynor et al. (2016) ont étudié des ruchers transhumants, plus susceptibles d'être exposés aux contaminations environnementales. Leurs analyses ont porté sur les abeilles, le pollen stocké dans les ruches et la cire. Trois approches d'évaluation du risque ont été utilisées : selon un quotient de risque calculé (dépendant de la concentration de chaque contaminant et de leur DL₅₀), en fonction du nombre total de résidus de contaminants ou en fonction du nombre de contaminants jugés comme pertinents. Les auteurs établissent un lien significatif entre le nombre total de contaminants dans la cire, en particulier certains fongicides, et la mortalité des colonies⁷⁵. Ils soulignent également que ces approches constituent des outils pertinents pour évaluer les risques sanitaires pour la reine.

➤ Développement du couvain

Plusieurs études, *in vitro* et *in vivo*, ont comparé le développement du couvain sur des cires contaminées à celui observé sur des cires témoins exemptes de résidus. Par exemple, Floris et al. (2004) ont constaté une réduction de la surface de couvain à la suite de deux traitements différents au thymol, sans observer de mortalité chez les abeilles adultes. Les cires issues des ruches traitées présentaient des teneurs en thymol élevées et très variables selon le traitement utilisé (moyennes de 21,6±13 et de 147,7±188,9 mg/kg respectivement), bien supérieures aux teneurs moyennes observées dans les cires commercialisées en France (1,67 mg/kg dans l'étude CRD). Malgré la réduction du développement du couvain par rapport au groupe témoin, aucune baisse de productivité n'a été constatée, le traitement ayant été appliqué en été, période marquée par une diminution naturelle de la taille de la colonie.

⁷⁴ « Les échantillons provenant de ruchers dépeuplés présentaient des teneurs plus élevées en chlorfenvinphos par rapport aux ruchers non dépeuplés (0,07462 mg/kg contre 0,02384 mg/kg ; p = 0,048) ».

⁷⁵ « Les colonies qui sont mortes pendant la saison avaient significativement plus de résidus totaux de pesticides dans leur cire sur toutes les périodes d'échantillonnage que les colonies qui ont survécu ($\chi^2=7,29$; p=0,0069). L'augmentation de l'exposition a suivi un schéma similaire pour les pesticides pertinents (Mort : moyenne=3,70±0,27 vs. Survivant : 3,0±0,20), mais n'était pas significatif statistiquement ($\chi^2=2,25$; p=0,13) ».

Dans une autre étude, Payne, Walsh, et Rangel (2019) ont évalué l'effet de cires contaminées sur la croissance et la survie de colonies nouvellement établies. Deux groupes ont été constitués : l'un avec des cadres de fondation en cire vierge de toute contamination, l'autre avec des cadres contaminés par des substances chimiques reproduisant les niveaux observés sur le terrain : (i) amitraze seul, (ii) mélange de tau-fluvalinate et de coumaphos, (iii) mélange de chlorothalonil et de chlorpyrifos⁷⁶. Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes en termes de croissance, de mortalité hivernale ou d'infestation par *V. destructor*. Les experts notent toutefois la faible puissance statistique de l'étude qui ne permet pas de généraliser les conclusions émises⁷⁷.

Une étude *in vitro* menée par Kast et Kilchenmann (2022) a examiné l'impact de différents teneurs en coumaphos dans la cire (de 0 à 100 mg/kg) sur le taux d'éclosion des abeilles exposées au stade larvaire. Aucun effet n'a été observé jusqu'à 20 mg/kg. En revanche, des perturbations du développement et une mortalité larvaire ont été observés à partir de 30 mg/kg (Kast et Kilchenmann 2022). Cette étude constitue un modèle expérimental d'intérêt pour évaluer les effets des résidus chimiques présents dans la cire. L'année suivante, Kast, Droz, et Kilchenmann (2023) ont testé des cires contenant de 0 à 132 mg/kg de coumaphos, afin de déterminer le seuil à partir duquel un effet apparaît. Jusqu'à 62 mg/kg de coumaphos, aucune augmentation significative de la mortalité du couvain n'a été observée, et les taux d'émergence étaient comparables à ceux des témoins. Après un cycle de couvain, les concentrations résiduelles dans les cellules avaient diminué d'un facteur 3 (par exemple : 21 mg/kg dans les cellules issues de cires initialement dosées à 62 mg/kg), sans effet observable sur la survie du couvain. En revanche, une teneur initiale de 132 mg/kg, réduite à 51 mg/kg après un cycle de couvain, a entraîné une diminution significative du taux d'émergence (valeur médiane de cette diminution : réduction de 14 % du taux d'émergence) ; teneur proche de la CL₅₀⁷⁸ déterminée en 2022 par (Kast et Kilchenmann 2022). Les auteurs ont conclu que des niveaux élevés de contamination (> 100 mg/kg) peuvent induire une mortalité significative, tandis que des niveaux plus faibles (< 62 mg/kg) ne montrent pas d'effet jusqu'au stade imago. Il est à noter que de telles teneurs de coumaphos n'ont globalement pas été relevées dans les études de terrain conduites en France et analysées par les experts (CRD, Cimeqa et autocontrôles des ciriers), les teneurs moyennes étant environ 400 fois moins importantes. Il convient cependant de noter que certains échantillons présentaient des teneurs de coumaphos de 35 mg/kg (Cimeqa) (et jusqu'à 4,2 mg/kg pour la CRD). Le second cas clinique présenté au chapitre 7.2 du présent rapport, témoigne également que des teneurs élevées de coumaphos peuvent être quantifiées dans des cires nouvellement introduites (36 mg/kg).

Le coumaphos peut migrer de la cire vers l'alimentation larvaire, à hauteur de 5 à 25 % de sa concentration initiale (Kast et Kilchenmann 2022), exposant ainsi les larves par voie orale. Par exemple, une cire contenant 20 mg/kg de coumaphos entraîne une teneur de 3,9 mg/kg dans l'alimentation, proche de la NOAEC⁷⁹ (3 mg/kg) et inférieure à la LOAEC⁸⁰ (5 mg/kg), sans effet

⁷⁶ Les cadres des groupes de traitement ont été pulvérisés avec (1) 4,3 mg d'amitraz, (2) un mélange de 20,4 mg de tau-fluvalinate et 9,2 mg de coumaphos, ou (3) un mélange de 5,4 mg de chlorothalonil et 0,09 mg de chlorpyrifos, chaque groupe de pesticide étant dissous dans 100 ml d'acétone. Les cadres à fondations complètes et partielles ont été pulvérisés des deux côtés avec un total de 10 ml ou 5 ml de solution, respectivement. Pour une fondation complète : (10 ml pulvérisés) : (1) 8,6 mg/kg amitraz ; (2) 40,8 mg/kg de tau-fluvalinate et 18,4 mg de coumaphos ; (3) 10,8 mg de chlorothalonil et 0,18 mg de chlorpyrifos. Pour une fondation partielle (5 ml pulvérisés) : 4,3 mg/kg d'amitraz (2) 20,4 mg de tau-fluvalinate et 9,2 mg de coumaphos, (3) 5,4 mg de chlorothalonil et 0,09 mg de chlorpyrifos.

⁷⁷ Sur les 30 colonies totales, sept ont été établies sur des fondations en cire traitées à l'amitraz ; sept avec chlorothalonil et chlorpyrifos ; sept avec tau-fluvalinate et coumaphos et neuf ont servi de témoins établis sur des fondations en cire dépourvues de pesticides. Les colonies ont été échantillonnées toutes les trois semaines jusqu'au jour 146. Aucune différence de croissance n'a été observée entre les groupes traités et le groupe témoin (p=0,69).

⁷⁸ CL₅₀ : Concentration Létale 50 %.

⁷⁹ NOAEC : No-Observed-Adverse-Effect Level = concentration n'induisant pas d'effet néfaste.

⁸⁰ LOAEC : Lowest-Observed-Adverse-Effect-Concentration = concentration minimale induisant des effets.

létal. À une teneur de 50 mg/kg dans la cire, la teneur alimentaire atteint 11,4 mg/kg, ce qui est proche de la CL_{50} (12,5 mg/kg) qui est clairement dépassée lorsque la teneur de coumaphos dans la cire est de 100 mg/kg. Cet effet concerne surtout le premier cycle de couvain, l'accumulation de cocons dans les cellules réduisant progressivement l'exposition (Fries, Wallner, et Rosenkranz 1998). Les cocktails de substances chimiques et les effets sublétaux sur la longévité des abeilles adultes n'ont pas été étudiés. Les experts notent, ici encore, la différence importante entre les teneurs de substances testées avec effet, en comparaison des données issues des études réalisées en France pour cette expertise avec des teneurs moyennes en coumaphos inférieures à 1 mg/kg. Dans une autre étude, Tomé et al. (2020) ont exposé des larves par voie orale à différentes substances aux teneurs maximales rapportées dans la cire ou le pollen. La diminution significative de la survie des larves exposées, qui s'avère être le paramètre le plus sensible, a été associée à la présence d'amitraz, de coumaphos, de tau-fluvalinate, de chlorpyrifos et de chlorothalonil (Tomé et al. 2020).

D'autres contaminants ont également été étudiés. Wu, Anelli, et Sheppard (2011) ont mis en évidence plusieurs effets sublétaux chez les abeilles ouvrières élevées dans des rayons de couvain contenant des résidus de produits phytopharmaceutiques : sept fongicides, deux herbicides, 23 insecticides (acaricides inclus) et sept métabolites. Parmi les substances les plus présentes figuraient le coumaphos et son métabolite oxon (respectivement 22,10 mg/kg et 3,14 mg/kg, avec une moyenne de 8,08 mg/kg et 0,60 mg/kg) ainsi que le tau-fluvalinate (jusqu'à 24,30 mg/kg et une moyenne de 6,71 mg/kg). Ces expositions ont entraîné un retard de développement dès les premiers jours de la phase larvaire, une réduction de quatre jours de la longévité des adultes, une mortalité plus élevée du couvain et un retard dans l'émergence après plusieurs cycles. Ici encore, les teneurs de contaminants sont plus de dix fois plus élevées que celles relevées lors des études de terrain conduites sur les cires françaises dans le cadre de cette expertise.

Une étude menée en Espagne par Orantes-Bermejo et al. (2010) a révélé une forte présence de chlorfenvinphos (détecté dans 88,5 % des échantillons analysés) et de tau-fluvalinate (détecté dans 26,5 % des échantillons analysés) dans les cires collectées entre 1996 et 2006. Ces molécules ont également été retrouvées dans le pain d'abeilles, à des concentrations moindres, suggérant un transfert depuis la cire vers la partie lipophile du pollen. Le niveau de contamination dépend de l'origine florale et de la teneur en lipides du pollen. Des résidus de chlorfenvinphos au-delà de 2,4 mg/kg dans la cire peuvent altérer le développement du couvain (Orantes-Bermejo et al. 2010). Le pain d'abeilles stocké sur une longue durée concentre les contaminants présents dans la cire. En comparaison, la teneur maximale en chlorfenvinphos détectée en France était de 2,1 mg/kg (étude Cimeqa), valeur proche de celle retrouvée dans la bibliographie et associée à des effets.

VanEngelsdorp et al. (2009) n'ont observé aucune différence significative dans la fréquence des résidus de tau-fluvalinate et de coumaphos entre les cires de colonies témoins et celles des colonies ayant subi une mortalité importante. Cependant, les teneurs détectées étaient élevées : $41,74 \text{ mg/kg} \pm 23,75 \text{ mg/kg}$ pour le tau-fluvalinate et $6,40 \text{ mg/kg} \pm 1,82 \text{ mg/kg}$ pour le coumaphos, avec des teneurs plus importantes dans les colonies témoins⁸¹. À l'inverse, les colonies touchées par la dépopulation présentaient des taux de résidus plus élevés dans le pain d'abeilles.

⁸¹« Il n'y a pas eu de différences significatives dans le nombre moyen de pesticides détectés dans la cire des colonies des ruchers touchés ($5,96 \pm 0,63$) par rapport aux colonies des ruchers de contrôle ($4,87 \pm 0,48$; $\chi^2 = 0,125$; $p = 0,72$). Il n'y a pas eu de différences dans le nombre moyen de pesticides détectés dans la cire des colonies touchées ($5,92 \pm 0,84$) par rapport aux colonies témoins ($5,67 \pm 0,84$; $\chi^2 = 0,001$; $p = 0,97$). Les niveaux de coumaphos dans la cire des ruchers de contrôle étaient toutefois significativement plus élevés que ceux détectés dans les ruchers touchés (test de la somme des rangs de Wilcoxon, $p = 0,05$) ».

Les effets de la contamination par des éléments traces métalliques sur le couvain ont également été reportés par Wagoner et Rueppell (2017). Cette étude montre que le couvain positionné au niveau des fils de fondation en acier contenait des quantités de fer plus élevées et qu'il était détruit à un taux significativement plus élevé par les abeilles, comparé au couvain témoin adjacent.

5.3.1.2 Effets de la contamination des cires par des substances chimiques sur le comportement des abeilles

Les substances chimiques retrouvées dans la cire peuvent altérer le comportement des abeilles exposées durant leur développement ou au cours de leur vie adulte. Des recherches sur la sélection d'abeilles selon certains traits comportementaux et physiologiques ont permis d'identifier des mécanismes d'adaptation permettant de diminuer le niveau d'infestation par *V. destructor*, notamment le comportement hygiénique et le toilettage. Ce dernier inclut l'auto-toilettage (grattage du corps avec les pattes) et le toilettage mutuel ou *allogrooming* (retrait du parasite par une congénère à l'aide des mandibules). Ces comportements contribuent à diminuer le taux d'infestation de la colonie par *V. destructor*. Cependant, l'usage d'acaricides de synthèse comme le tau-fluvalinate ou le coumaphos, dont la persistance dans la cire est importante, peut avoir des effets sur ces comportements. De Mattos, Soares, et Tarpy (2017) ont ainsi montré qu'à partir de doses de l'ordre de la moitié de la DL₅₀, ces molécules ralentissent le déclenchement du toilettage et en diminuent la durée, compromettant l'efficacité de la réponse comportementale. Si de nombreuses études se sont intéressées aux effets directs des produits phytopharmaceutiques biocides ou médicaments, peu ont exploré ceux des résidus contenus dans la cire sur le comportement des individus de la colonie.

5.3.1.3 Effets de la contamination chimique des cires sur la reproduction : impact chez les faux-bourçons

Fisher et Rangel (2018) ont étudié les effets de la contamination de la cire par des substances chimiques sur les mâles. Les cires contaminées à des niveaux comparables à ceux fréquemment détectés aux États-Unis, contenaient des acaricides (tau-fluvalinate, coumaphos, amitraze), ainsi que deux produits phytopharmaceutiques, le chlorothalonil (fongicide) et le chlorpyrifos (insecticide). La viabilité des spermatozoïdes de faux-bourçons âgés de 10 et 18 jours a ensuite été évaluée. Tous les groupes exposés à des cires contaminées par des acaricides présentaient une viabilité réduite des spermatozoïdes par rapport aux témoins, avec une altération d'autant plus marquée que la concentration en résidus était élevée. Cette baisse de qualité spermatique pourrait compromettre la fécondité des reines et, par conséquent, fragiliser la santé de la colonie (Fisher et Rangel 2018).

5.3.1.4 Effets de la contamination chimique des cires sur la reproduction : impact chez les reines

Afin d'évaluer l'effet des cires contaminées sur les reines, plusieurs études ont consisté à élever des larves de reines dans des cupules recouvertes de cire contenant des teneurs connues en substances chimiques.

Pettis et al. (2004) ont ainsi montré qu'à 1 000 mg/kg de coumaphos, aucune larve ne parvenait à se développer, et qu'à 100 mg/kg, plus de la moitié étaient rejetées par les ouvrières nourrices. Les reines survivantes présentaient un poids significativement inférieur à celui de reines témoins.

non exposées (Pettis et al. 2004)⁸². Introduites ensuite en colonie, ces reines ont fait l'objet d'un suivi pendant six mois ou ont été autopsiées pour évaluer le succès de l'accouplement (Collins et al. 2004). Les auteurs ont constaté qu'une exposition à 100 mg/kg de coumaphos réduisait de 75 % le nombre de reines encore en activité dans leurs colonies après six mois. Une autre étude montre qu'une exposition à des acaricides comme le coumaphos ou le tau-fluvalinate, de 1 à 1 000 mg/kg, altérerait la relation entre le poids des reines, la taille de leur spermathèque et le nombre de spermatozoïdes stockés (Collins et Pettis 2013). Toutefois, les effets à long terme sur les performances de la reine pour la colonie n'ont pas été évalués.

D'autres travaux ont évalué les effets de la contamination chimique des cires de cellules royales par l'amitraz, une combinaison de tau-fluvalinate et de coumaphos, ou une combinaison de chlorothalonil et de chlorpyrifos. Les reines élevées ont été collectées après avoir réalisé leur ponte. Si la viabilité des spermatozoïdes ne différait pas entre les groupes, les reines exposées à l'amitraz s'étaient accouplées à un nombre de mâles significativement plus grand⁸³. Cela suggère une compensation possible liée à un remplissage plus difficile de la spermathèque. Toutefois, le nombre limité de reines composant chacun des groupes (n = 6) et l'absence de données sur l'exposition éventuelle des faux-bourçons nécessitent d'interpréter ces résultats avec prudence (Winston 1991; Walsh, Janowiecki, et al. 2021).

Par ailleurs, aucune différence morphologique significative (masse corporelle, largeur de la tête ou du thorax) ni de composition chimique des phéromones royales n'a été observée entre reines exposées aux mêmes substances (amitraz, combinaison de tau-fluvalinate et de coumaphos, combinaison de chlorothalonil et de chlorpyrifos) et témoins (Walsh, Khan, et al. 2021). Cependant, une étude antérieure, menée dans les mêmes conditions avait révélé : (i) un taux de ponte réduit chez les reines issues de cires contaminées ; (ii) un moindre attrait de leurs phéromones mandibulaires pour les ouvrières ; (iii) une altération de la composition chimique de ces phéromones (Walsh et al. 2020).

Milone et Tarpy (2021) ont étudié aux États-Unis les effets de la contamination chimique de la cire et du pollen sur les reines. L'exposition à des cires contenant 12 substances chimiques, à des niveaux représentatifs des colonies pollinisatrices, n'a pas montré d'effet mesurable sur le phénotype de la reine. À l'inverse, les colonies nourries avec du pollen traité (neuf substances chimiques) produisaient moins de reines viables, et une viabilité réduite des spermatozoïdes chez les reines survivantes. Le nombre d'accouplements n'était pas significativement affecté, mais la viabilité du couvain issu de ces reines était significativement diminuée⁸⁴. Malgré cette exposition, la gelée royale produite par les nourrices contenait des quantités de résidus chimiques négligeables⁸⁵, limitant ainsi l'exposition des reines (Wueppenhorst et al. 2024).

D'autres études expérimentales sur des contaminations artificielles de la cire confirment des effets délétères à fortes concentrations. Chez les reines élevées dans des cellules contaminées au tau-fluvalinate, Haarmann et al. (2002) ont noté un poids réduit, sans altération du développement. En revanche, l'exposition au coumaphos entraînait une mortalité accrue, des anomalies physiques, un comportement atypique et un poids diminué des reines et de leurs ovaires. Il convient toutefois de noter que les doses utilisées dans cette étude (de l'ordre de 100

⁸² « Les reines élevées dans des cupules contenant 100 mg/kg avaient un taux de rejet significativement plus élevé ($p=0,02$) et étaient significativement plus légères que les reines du groupe témoin ($p=0,016$) ».

⁸³ « Les reines élevées dans la cire contenant de l'amitraz ont eu une fréquence d'accouplement effective significativement plus élevée que les reines élevées dans la cire sans pesticide ($p=0,005$) ou que celles élevées dans la cire contenant du chlorothalonil et du chlorpyrifos ($p=0,0003$) ».

⁸⁴ « Les colonies dirigées par des reines élevées dans des colonies nourries avec un supplément de pollen traité avaient une viabilité du couvain significativement plus faible que celles élevées dans des colonies témoins ($p < 0,05$) ».

⁸⁵ « Les concentrations médianes dans la gelée alimentaire des larves étaient comprises entre 0,014 et 0,0079 mg/kg pour les deux substances (boscalid et pyraclostrobine), et seules des traces de résidus ont été transférées aux larves ».

à 200 mg/kg), dépassaient largement celles habituellement détectées sur le terrain (teneur max : 35 mg/kg (Cimeqa) et 4,2 mg/kg (CRD)).

Les effets d'une contamination au méthoxyfénozide (0,171 mg/kg) du pollen et de la cire des cellules royales sur le développement des reines ont été étudiés par Carroll et al. (2022). Les colonies exposées ont produit des reines comparables aux témoins en termes de masse corporelle, développement ovarien, composition protéique et lipidique de leurs ovaires et du corps gras, ainsi que de sécrétions glandulaires (phéromone mandibulaire royale et phéromone du cortège royal). Cependant, ces reines stockaient moins de spermatozoïdes dans leur spermathèque, suggérant une possible réduction de leur longévité reproductive. L'exposition des reines adultes par contact à la cire contaminée reste peu étudiée. Une étude a consisté à administrer par voie orale six substances couramment présentes dans la cire (coumaphos, tau-fluvalinate, atrazine, DMPF, chlorpyrifos, et chlorothalonil), seules ou en cocktail, à des doses jusqu'à 32 fois supérieures aux teneurs retrouvées généralement dans la cire d'abeilles (McAfee et al. 2021). Aucun effet n'a été observé sur le poids des reines, la viabilité des spermatozoïdes ou l'expression des protéines du corps adipeux. Dans cette même étude, un essai en conditions de terrain, exposant les reines par voie topique à un cocktail de ces substances, n'a montré aucun impact sur leur ponte, leur masse, le poids à l'émergence des ouvrières et l'expression des protéines du liquide spermathéal (McAfee et al. 2021).

En résumé, les dix études scientifiques menées sur les effets de la contamination chimique des cires royales sur les reines émergentes ont montré peu d'effets significatifs, sauf lorsque les concentrations de contaminants dépassent largement les teneurs classiquement retrouvées dans la cire, affectant notamment le développement larvaire des futures reines.

5.3.1.5 Autres effets de la contamination des cires par des substances chimiques sur les abeilles et la colonie

Outre les effets déjà documentés sur la mortalité, le développement, la reproduction et le comportement, peu d'études traitent d'autres impacts liés à la contamination des cires. Les travaux existants portent majoritairement sur les acaricides apicoles. Une revue bibliographique menée par Tihelka (2018) recense les effets toxiques de plusieurs substances (amitraz, coumaphos, fluméthrine, tau-fluvalinate, acides formique et oxalique, et thymol) se traduisant par une diminution de la durée de vie, une diminution de l'expression de certains gènes, une diminution de lipides dans l'hémolymphe, une diminution de la survie du couvain, etc.). Tomé et al. (2020) ont évalué les effets d'une exposition directe de larves à des concentrations réalistes, correspondant aux teneurs maximales détectées dans la cire et le pollen pour sept substances : amitraz, coumaphos, tau-fluvalinate, imidaclopride, chlorpyrifos, chlorothalonil et glyphosate. Cette étude montre, pour certaines substances, une diminution significative de la survie aux stades larvaire et/ou adulte, un allongement de la phase de développement larvaire, une réduction du poids à l'émergence, un développement altéré des glandes hypopharyngiennes, des anomalies morphologiques des antennes, ainsi qu'une diminution de l'expression de gènes de détoxification (Tomé et al. 2020). Cette expérimentation représente un scénario d'exposition larvaire bien plus réaliste que celui de la ligne directrice OCDE n°237 (OCDE 2013), en prolongeant la phase d'exposition larvaire à six jours, contre quatre dans le protocole de l'OCDE. Plus récemment, El Agrebi et al. (2024) ont développé un modèle réaliste d'expérimentation sur le terrain (groupes exposés et groupes témoins/non exposés) pour évaluer l'impact du chlorpyrifos à différentes concentrations (0,005 à 5 mg/kg) sur l'expression des gènes de l'immunité et de détoxification chez *Apis mellifera*. L'exposition des nymphes à de la cire contaminée a entraîné une dérégulation quasi systématique et significative des gènes étudiés

(El Agrebi et al. 2024). Par ailleurs, Qi et al. (2020) ont évalué la toxicité chronique de la fluméthrine par voie orale, sur des abeilles émergentes exposées pendant 7 ou 14 jours à des concentrations allant de 0,01 mg/L, à 1 mg/L). Les auteurs ont observé des effets significatifs d'altérations du stress oxydatif (dosages enzymatiques) et de l'expression de gènes impliqués dans la neurotoxicité et l'immunité. Il convient de noter que la concentration la plus faible (0,01 mg/L) est comparable aux niveaux observés dans certaines cires commerciales en France (jusqu'à 0,0097 mg/kg pour l'étude CRD).

La présence d'acaricides dans la cire peut indirectement affecter la santé des colonies en influençant la biologie du parasite *V. destructor*. Dès 1998, Fries, Wallner, et Rosenkranz ont démontré que des cires contaminées au coumaphos (≥ 10 mg/kg) ou au tau-fluvalinate (≥ 100 mg/kg) réduisaient la survie et la fertilité des femelles fondatrices de *V. destructor*. Toutefois, de telles teneurs sont rarement atteintes dans les cires pour ces deux acaricides (Korta et al. 2001; Lozano et al. 2019). En France, les teneurs maximales relevées varient selon les études : jusqu'à 35 mg/kg pour le coumaphos et 9,8 mg/kg pour le tau-fluvalinate dans l'étude Cimeqa, contre respectivement 4,2 mg/kg et 3,3 mg/kg dans l'étude CRD. Si ces niveaux élevés peuvent, en théorie, limiter la reproduction du parasite, les concentrations généralement mesurées restent bien inférieures. Or, l'exposition répétée de *V. destructor* à des doses sublétales pourrait exercer une pression de sélection favorable au développement de résistances. Cette hypothèse est appuyée par Medici et al. (2015), qui ont mis en évidence en Argentine une corrélation entre résidus de coumaphos dans la cire et résistance du parasite, ainsi que par Benito-Murcia et al. (2021) qui ont observé une augmentation de la fréquence de génotypes résistants aux pyréthrinoides en lien avec la contamination persistante des cires.

À l'exception de quelques études portant sur le coumaphos et le tau-fluvalinate, les données sur les liens entre résidus d'acaricides dans la cire et l'émergence de résistances chez *V. destructor* restent limitées. Toutefois, la contamination généralisée des cires par ces substances laisse supposer une pression de sélection constante sur les femelles fondatrices. Cette exposition chronique pourrait contribuer à renforcer la tolérance du parasite aux acaricides utilisés dans la lutte contre *V. destructor*.

5.3.2 Bilan quant aux conséquences de la contamination de la cire sur les abeilles et la colonie

Ces études soulignent le manque de connaissances sur la contribution réelle des cires contaminées dans les phénomènes de mortalité et d'affaiblissement des colonies, en particulier lors d'expositions chroniques. Néanmoins, la cire représente un compartiment significatif d'exposition pour les abeilles et de contamination des produits de la ruche, pouvant avoir un impact non négligeable sur la santé globale des colonies.

Les effets les plus marqués ont été mesurés à des teneurs en contaminants nettement supérieures (de 10 fois jusqu'à plus de 10 000 fois) aux teneurs moyennes rapportées dans les données françaises (autocontrôles de ciriers, études Cimeqa et CRD). Néanmoins, quelques résultats plus proches des conditions réelles d'exposition peuvent être retenus :

- une corrélation entre la présence de chlorfenvinphos (0,033 mg/kg en moyenne) dans la cire utilisée par les apiculteurs et une mortalité hivernale accrue des colonies (El Agrebi et al. 2020) ;
- des taux d'éclosion réduits et des anomalies de développement lorsque les larves sont exposées à des teneurs de l'ordre de 30 mg/kg de coumaphos. Au-delà de ce seuil, une mortalité larvaire est observée (Kast et Kilchenmann 2022) ;

- le développement d'un modèle permettant de mettre en évidence les effets délétères de certaines substances sur l'expression de gènes liés à l'immunité et à la détoxification (El Agrebi et al. 2024).

La pression de sélection continue sur *V. destructor* liée à la contamination quasi-généralisée des cires par des acaricides, favorisant l'émergence de souches tolérantes aux traitements conventionnels.

5.3.3 Limites et incertitudes de la revue bibliographique quant aux conséquences de la contamination chimique de la cire sur la santé des abeilles et de la colonie

L'analyse de la littérature scientifique met en évidence la difficulté à établir des liens entre la contamination des cires apicoles et les effets observés sur la santé des abeilles, tant à l'échelle individuelle que collective (colonies). Plusieurs obstacles méthodologiques persistent : (i) la mise au point tardive d'analyses spécifiques et sensibles pour analyser la cire, (ii) la rareté des études *in vitro* sur les effets combinés de plusieurs substances du fait de la complexité de mener de telles études, (iii) la difficulté à mener des expérimentations couvrant l'ensemble du cycle de vie de l'abeille, et (iv) la multiplicité des voies d'exposition en conditions réelles, la cire étant un facteur d'exposition parmi d'autres tout aussi essentiels. Par exemple, les larves peuvent être exposées à des contaminants présents dans la gelée nourricière (hors transfert) ou par l'environnement intérieur de la ruche.

La synergie entre molécules est un phénomène complexe qui ne se manifeste pas systématiquement et semble dépendre d'un équilibre entre les teneurs des différentes substances, entraînant alors des mécanismes physiologiques toxiques chez l'animal exposé. En raison des incertitudes encore trop importantes, les études scientifiques se sont jusqu'à présent concentrées sur l'évaluation des effets de chaque molécule de manière isolée.

5.4 Risque pour la santé des abeilles et de la colonie, lié aux cires contaminées par des substances chimiques

L'évaluation quantitative du risque chimique associé à une cire contaminée repose sur l'utilisation d'indicateurs tels que le quotient de risque (QR), calculé par l'outil Bee Tox wax développé par l'Université de Liège (Belgique), et le rapport exposition/toxicité (ETR, *Exposure Toxicity Ratio*) calculé et utilisé par l'ITSAP. Ces indicateurs sont présentés dans la section suivante (cf. 5.4.1), avant d'exposer les liens qui ont pu être mis en évidence entre les niveaux de risque et certaines caractéristiques des cires issues des trois sources de données françaises : autocontrôles des ciriers, étude Cimeqa et étude CRD.

Les experts rappellent que, pour une première approche, en l'absence de modèle tenant compte d'éventuels effets synergiques ou antagonistes des molécules entre elles, les outils présentés dans ce chapitre sont fondés sur l'addition des effets toxiques de chacune.

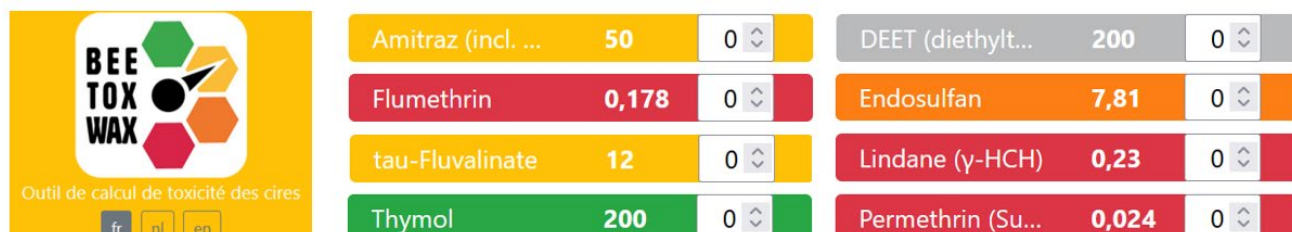
5.4.1 Outils disponibles pour l'évaluation du risque chimique d'une cire

5.4.1.1 QR (quotient de risque) de Bee Tox Wax (Univ. Liège)

Un outil en ligne, Bee Tox Wax⁸⁶, développé par l'Université de Liège (Belgique), permet aux apiculteurs et aux négociants en cires d'estimer la toxicité d'une cire pour les abeilles mellifères. Le calcul repose sur les teneurs en substances chimiques contaminantes rapportées dans un rapport d'analyse, et les valeurs de DL₅₀ (dose létale médiane aiguë) de chaque substance. Cet outil donne un avis automatisé en temps réel sur la réutilisation ou non de la cire analysée, en fonction de seuils définis dans la littérature scientifique actuelle :

- **QR < 250** : le risque chimique est jugé acceptable, et la cire considérée comme étant de bonne qualité ;
- **250 < QR < 5 000** : avec une toxicité significative, la cire est classée dans la catégorie de qualité intermédiaire (Calatayud-Vernich et al. 2019) ;
- **QR > 5 000** : cire à toxicité élevée, considérée comme étant de mauvaise qualité (Traynor et al. 2016).

L'outil est un calculateur en ligne (<https://www.beetools.uliege.be/Bee Tox Wax/>) disponible en plusieurs langues, qui prend en compte 93 contaminants, classés par ordre alphabétique (cf. Figure 46). L'utilisateur saisit, à partir du rapport d'analyse, la teneur en mg/kg de chaque contaminant détecté dans l'échantillon (cf. Figure 46). La toxicité de chaque molécule est indiquée par un code couleur basé sur sa DL₅₀ topique, avec la valeur correspondante affichée à côté du nom de la substance (cf. Figure 46). A défaut, la DL₅₀ orale est utilisée. Si aucune valeur de DL₅₀ n'est renseignée dans les bases de données, une valeur arbitraire de 200 µg /abeille est attribuée (afin de réaliser la formule mathématique et obtenir un résultat final), ce qui correspond à une valeur toxicologique faible.



Les substances sont catégorisées en : très toxique (DL₅₀ < 2 µg/abeille ; sur fond rouge, fluméthrine, lindane, et perméthrine) ; modérément toxiques (DL₅₀ comprise entre 2 et 10,99 µg/abeille ; fond orange, ex. endosulfan) ; légèrement toxique (DL₅₀ comprise entre 11 et 100 µg/abeille ; fond jaune-orangé, ex. amitraz, tau-fluvalinate) ou encore non toxique (DL₅₀ > 100 µg/abeille ; fond vert, ex. thymol). Lorsque la DL₅₀ est inconnue, sa valeur est fixée à 200 µg/abeille et la substance apparaît sur fond gris (ex. DEET).

Figure 46 : Capture d'écran de la page Bee Tox Wax avec choix de la langue et exemples de substances telles qu'elles apparaissent selon leur toxicité (basée sur la DL₅₀). Amitraze, fluméthrine, tau-fluvalinate et thymol correspondent à des acaricides autorisés en France pour un usage apicole

Le QR global est généré par une formule mathématique tenant compte de la toxicité (DL₅₀ et teneur) de toutes les substances chimiques contaminantes présentes dans l'échantillon de cire analysé. Il est calculé selon l'Équation 4.

⁸⁶ [Bee Tox Wax: outil de calcul de toxicité des cires \(FMV ULiège\)](#)

Équation 4 : Formule permettant de calculer le quotient de risque (QR)

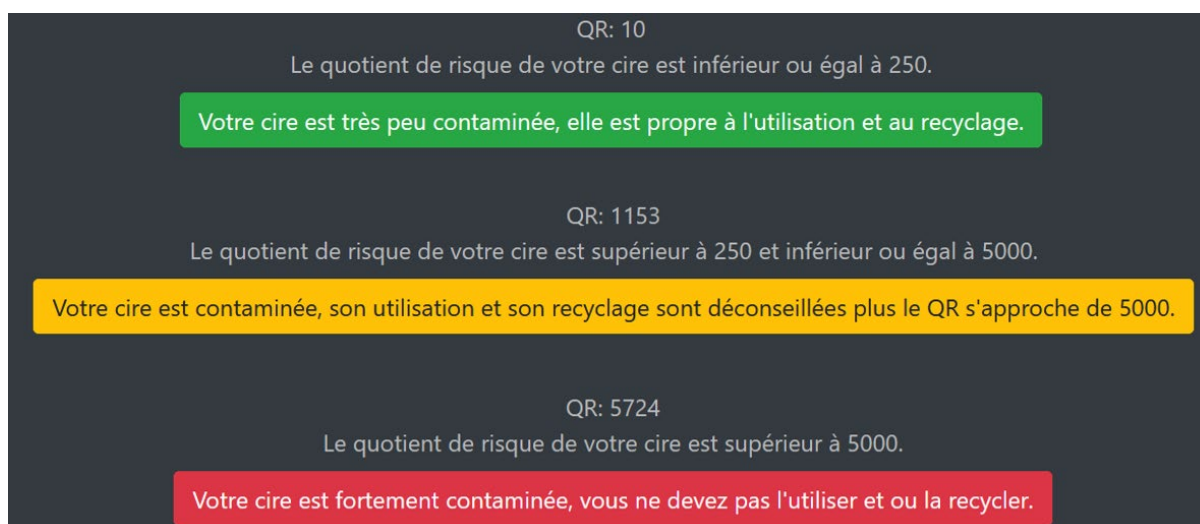
$$\text{Quotient de risque (QR)} = ((C_1/D_1) + (C_2/D_2) + \dots (C_n/D_n)) \times 1\,000$$

C_n = Concentration en mg/kg de la substance n

D_n = Dose létale aigue de contact (µg/abeille) de la substance n

n = nombre de substances

Au fur et à mesure que les informations sont saisies et un avis final apparaît (cf. Figure 47) à l'écran concernant la réutilisation possible ou l'élimination de la cire (cf. Figure 47).



En fonction du score de QR indiqué en haut, une recommandation sur l'utilisation potentielle de la cire apparaît

Figure 47 : Capture d'écran de l'outil Bee Tox Wax montrant les messages fournis lors de la saisie des teneurs en contaminants dans l'échantillon analysé

5.4.1.2 ETR (Rapport entre l'exposition et la toxicité) (ITSAP)

L'ETR, développé par l'ITSAP, est un autre indicateur qui permet d'évaluer le risque chimique lié à la contamination de la cire. Comme le QR, cet indicateur repose sur la teneur des substances chimiques présentes dans la cire et leur toxicité, estimée par la DL₅₀. A la différence du QR, l'ETR considère une exposition larvaire d'origine orale, par l'absorption d'aliments contaminés. L'ETR est donc calculé en faisant la somme des rapports des teneurs de chaque substance sur leur DL₅₀ orale, rapporté à l'échelle d'une alvéole (c'est à dire d'un individu) (cf. Équation 5).

Équation 5 : Formule permettant de calculer l'ETR

$$\text{ETR cire} = \sum (\text{teneur substance active } n \text{ (}\mu\text{g/kg)}) / (\text{DL}_{50} \text{ cire orale (}\mu\text{g/kg)})$$

En l'absence de DL₅₀ orale, c'est la DL₅₀ topique qui est prise en compte, ce qui ajoute une incertitude mais permet de tenir compte d'une valeur attribuée pour une molécule et ne pas utiliser aucune donnée. Cette méthodologie, basée sur les travaux de Kast et Kilchenmann (2022), part du principe que l'intoxication des larves résulte principalement de l'ingestion et non du contact avec la cire. L'ETR suppose un transfert de la totalité des substances contenues dans la cire vers la nourriture contenue dans l'alvéole. Lorsque cet indicateur atteint la valeur 1, cela signifie que la dose totale de substances à laquelle une larve est potentiellement exposée est équivalente à la DL₅₀. Or, la DL₅₀ correspond à la dose provoquant la mort de 50 % des individus exposés. Autrement dit, une larve exposée à cette dose a statistiquement une probabilité de 0,5 (soit 50 %) de mourir (ETR = 1 lorsque la teneur est égale à la DL₅₀).

5.4.2 Bilan des outils disponibles pour évaluer le risque chimique d'une cire

Les deux indicateurs, le QR (Bee Tox Wax) et l'ETR, utilisent la somme des DL₅₀ des molécules détectées dans les échantillons de cire pour calculer un risque chimique. Ils diffèrent par deux points :

- l'ETR diffère du QR car il prend en compte la quantité de substances auxquelles une larve est exposée dans une alvéole (transforme les mg/kg de cire en mg/individu). Le QR transforme la teneur de substance dans les cires rapportées à la DL₅₀ ;
- de plus, le QR privilégie les DL₅₀ topique, plus fréquemment disponibles. L'ETR tient compte en premier lieu des DL₅₀ orale, en cohérence avec une exposition larvaire principalement par voie alimentaire.

Ces deux outils, ont été testés sur les données issues des autocontrôles des ciriers en France ainsi que des études Cimeqa et CRD. Leur utilisation constitue une première étape pour identifier les cires les plus à risque sur le plan toxicologique.

5.4.3 Limites et incertitudes liés aux outils informatiques d'évaluation du risque chimique

L'absence de base de données publique centralisant les valeurs toxicologiques pour les abeilles adultes et les larves constitue un frein majeur à l'évaluation du risque chimique lié à la cire. Les données accessibles dans le journal de l'EFSA se limitent principalement aux DL₅₀ topique et orale, tandis que les informations sur la toxicité chronique et larvaire demeurent rares. Les principales valeurs issues des courbes dose/réponse ne sont généralement pas disponibles, alors qu'elles devraient figurer dans les rapports d'évaluation européens, tels que les RAR (rapport d'évaluation des risques de la substance) et les DAR (rapport de renouvellement de l'évaluation des risques de la substance). Le règlement 283/2013, entré en vigueur en 2015, stipule que toute substance évaluée en Europe devrait faire l'objet de mesures de la toxicité chronique et larvaire. Cependant, à ce jour, ces données ne sont disponibles que pour une dizaine de substances, la majorité des DL₅₀ étant définies pour des abeilles adultes. En l'absence de valeurs toxicologiques de référence pour les larves, l'extrapolation proposée par le QR et l'ETR est nécessaire mais elle introduit un certain degré d'incertitude.

D'autre part, ces outils n'intègrent ni pondération du calcul en fonction du type de molécules, ni prise en compte de leurs interactions potentielles (effets synergiques, additifs ou antagonistes). Les niveaux de toxicité sont simplement additionnés sur la base de valeurs aiguës pour l'adulte. Ainsi comme évoqué au paragraphe 5.1.4, une évaluation des effets combinés, par exemple entre le PBO et la fluméthrine, ou d'autres pyréthrénoïdes en général aurait été utile dans le cadre de cette expertise.

Certaines DL₅₀ ne sont pas connues et, pour l'outil Bee Tox Wax, leur valeur a été fixée à 200 µg/abeille (ce qui les classe dans la catégorie des substances peu toxiques), ce qui est par exemple le cas de substances comme le DEET, le chloramphénicol et le bromopropylate. À titre de comparaison, la DL₅₀ du thymol est de 200 µg/abeille (cf. Figure 46). Pour l'ETR, une transformation consiste à attribuer une valeur inférieure au minimum de l'ETR calculé.

5.4.4 Risque chimique évalué pour les cires circulant en France

Les données françaises (autocontrôles des ciriers, Cimeqa et CRD) ne sont pas regroupées dans un fichier unique, et n'ont pas pu être analysées systématiquement ensemble. Selon la date de l'analyse et le contexte dans lequel l'analyse a été réalisée, ce sont soit l'indicateur QR (Bee Tox Wax), soit l'indicateur ETR, soit les deux indicateurs qui ont été utilisés par les experts. La base de données de l'étude Cimeqa a été analysée, dans un premier temps, au sein de l'ITSAP à l'aide de l'outil ETR, alors que les données de l'étude CRD ont été analysées dans un premier temps à l'aide de l'outil QR (Bee Tox Wax). La base de données de l'étude Cimeqa a également fait l'objet d'un calcul de QR pour chaque échantillon afin de pouvoir comparer le risque lié aux cires de ces deux études et le risque lié à l'origine géographique des cires. Pour les autres critères analysés, l'ETR est utilisé pour les données de l'étude Cimeqa et le QR pour les données de la CRD.

Le QR est calculé par l'outil en ligne Bee Tox Wax (cf. Équation 4). Les seuils établis pour catégoriser les cires selon les valeurs seuils de QR (250 et 5 000) sont issus de la littérature scientifique (cf. Figure 47) (Calatayud-Vernich et al. 2019; Traynor et al. 2016).

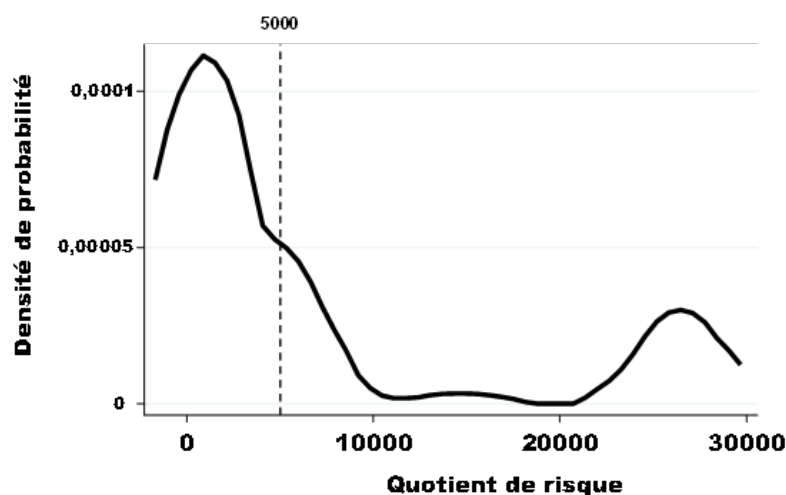
La base de données de l'étude Cimeqa a été analysée, dans un premier temps, au sein de l'ITSAP à l'aide de l'outil ETR. Cette base a aussi fait l'objet d'un calcul de QR pour chaque échantillon pour des analyses plus spécifiques (comparaison avec les échantillons de l'étude CRD et le risque lié à l'origine géographique des cires). Les données de l'étude CRD ont été analysées dans le cadre de ce travail à l'aide de l'outil QR (Bee Tox Wax) Ainsi, l'ETR ou le QR, selon les analyses, sont utilisés pour les données de l'étude Cimeqa et le QR pour les données de la CRD.

Le QR est calculé par l'outil en ligne BeeToxWax (cf. Équation 4).

5.4.4.1 Description globale des niveaux de risque chimique des échantillons de cires obtenus pour chacune des trois sources de données

➤ **Autocontrôles des ciriers**

En raison des limites qui concernent les données d'autocontrôles transmises par les ciriers (absence d'information sur les molécules détectées/recherchées), ces dernières n'ont pas été prises en compte pour l'analyse du risque chimique. Les experts ont choisi d'analyser d'autres données issues de l'application en ligne Bee Tox Wax, qui ont été extraites sur la base des critères d'identification indiqués par le cirier lors de l'utilisation de l'outil. La France a été retenue comme critère géographique et le qualificatif de cirier a été retenu comme critère de la profession. Cette sélection a permis l'extraction des données de manière anonymisée. Les résultats d'analyses de 59 cires ont ainsi été inclus dans cette évaluation (C. Saegerman, communication personnelle). Le seuil de 5 000, caractérisant une cire comme fortement contaminée (Traynor et al. 2016), est dépassé pour 21 cires, soit dans 35,6 % des cas (cf. Figure 48).



La ligne verticale en pointillés représente le seuil de 5 000, basé sur les données de la littérature (Traynor et al., 2016) et au-delà duquel une cire a été considérée comme fortement contaminée dans le cadre de ce travail

Figure 48 : Densité de probabilité du QR des cires analysées (n = 59) par des ciriers français calculée à l'aide de l'outil Bee Tox Wax (Saegerman, communication personnelle)

Le nombre de cires (n = 59) prises en compte dans ce volet peut sembler faible par rapport au nombre réel d'autocontrôles réalisés par les ciriers. Ceci s'explique par le fait que les résultats des autocontrôles ne sont pas nécessairement et systématiquement saisis par les ciriers français dans l'outil Bee Tox Wax (il s'agit d'un outil de calcul gratuit mis à disposition de tous en ligne). Il est même probable que le recours à cet outil soit relativement rare, compte tenu des 59 données disponibles et du nombre d'autocontrôles qui ont été envoyés par plusieurs (cinq) des ciriers français⁸⁷ (cf. chapitre 5.1.3.1).

De plus, l'échantillonnage est non représentatif, puisqu'il n'y a pas eu de tirage au sort et des biais liés au système déclaratif et (qui a réellement introduit les données dans l'outil informatique, pour quel motif) ne sont pas connus.

Enfin, les ciriers, dans le cadre de leurs autocontrôles, ont pu recourir aux services de laboratoires d'analyses différents, utilisant des méthodes, avec des LQ et LD non identiques pour tous les échantillons. Ainsi, ce jeu de données n'a été que partiellement exploité pour l'évaluation du risque chimique et les comparaisons avec les données des études Cimeqa et CRD ont été restreintes à des analyses visuelles (les données des autocontrôles sont exclues des analyses statistiques portant sur les comparaisons avec les données de la CRD et Cimeqa présentées ci-après).

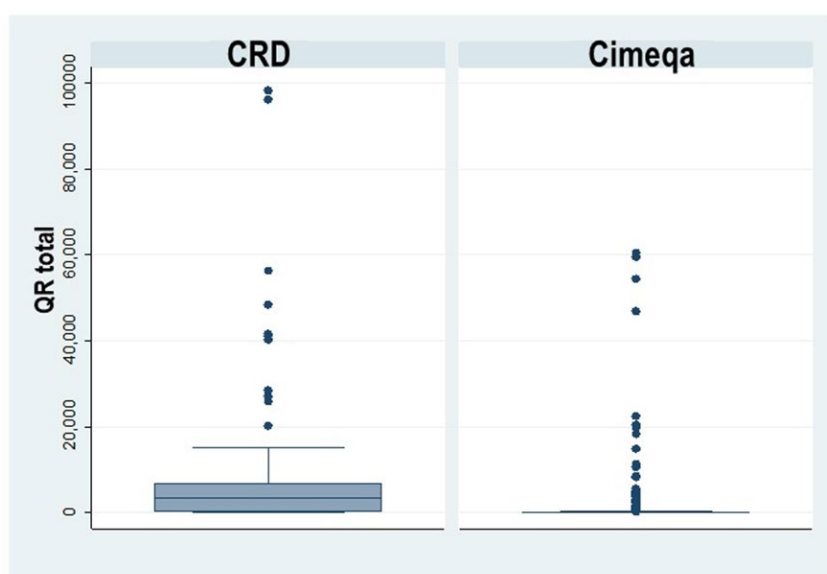
➤ Données des études françaises Cimeqa et CRD

Pour tout QR ou ETR calculés pour l'analyse des données, les équations de référence figurant en Équation 4 et Équation 5 ont été utilisées.

Les analyses des échantillons de cire réalisées pour l'étude Cimeqa et pour l'étude CRD peuvent être comparées puisqu'elles reposent sur les mêmes méthodes d'analyses de laboratoires, avec les mêmes LD et LQ. Le même nombre de substances a été recherché, à l'exception du thymol, qui ne l'a été que pour la CRD.

⁸⁷ Le GT n'a pas connaissance du nombre de ciriers qui réalisent des autocontrôles, en outre les dates de réalisation de ces autocontrôles couvrent une période allant de 2013 à 2023. L'année de saisie de ces données dans Bee Tox Wax est donc plus récente.

Globalement, les cires en provenance de l'étude Cimeqa présentaient un QR plus faible que les cires issues des autocontrôles et de la CRD avec une différence significative entre les cires provenant des études Cimeqa et CRD (cf. Figure 49).



Les échantillons analysés provenant de l'étude Cimeqa présentent des QR significativement plus faibles que ceux de la CRD (Test de Wilcoxon Mann-Whitney ; $p < 0,0001$)

Figure 49 : QR des échantillons de cires analysés dans le cadre de l'étude CRD (à gauche) et de l'étude Cimeqa (à droite)

Avec 4,6 % (16/345) des échantillons présentant un score de QR > 5 000, les cires des apiculteurs professionnels de l'étude Cimeqa semblent moins contaminées que celles analysées en autocontrôles par les ciriers et dans le cadre de la CRD, cires pour lesquelles ce seuil de 5 000 est dépassé respectivement dans 35,6 % (21/59) et 38,8 % (59/152) des échantillons (cf. Tableau 39). Les cires les moins contaminées sont quant à elles retrouvées essentiellement parmi les cires des apiculteurs professionnels : dans ce groupe, 80,1 % des cires (270/345) ont un score de QR < 250, contre 30,3 % (46/152) seulement des cires provenant de la CRD (cf. Tableau 39). Cette différence entre les cires provenant des études Cimeqa et CRD est significative (cf. Figure 49).

Tableau 39 : Effectifs des échantillons de cires des études Cimeqa et CRD en fonction de leur QR (calculé par l'outil Bee Tox Wax) et des seuils de QR définis dans la littérature scientifique

Seuils de la littérature scientifique (Traynor et al. 2016; Calatayud-Vernich et al. 2019)	Catégorie de seuil par ordre croissant de risque selon Bee Tox Wax	Nombre d'échantillons (Cimeqa n=345)	Nombre d'échantillons (CRD, n=152) (thymol compris)
QR ≤ 250	Seuil acceptable : cire très peu contaminée, propre à l'utilisation	279 (80,1 %)	46 (30,3 %)
250 < QR ≤ 5 000	Seuil intermédiaire : cire contaminée, utilisation déconseillée plus le HQ s'approche de 5000	50 (14,5 %)	47 (30,9 %)
QR > 5 000	Seuil de risque : cire fortement contaminée, ne pas utiliser et ou recycler	16 (4,6 %)	59 (38,8 %)

5.4.4.2 Niveaux de risque chimique et origines géographiques des cires

Dans un premier temps, l'origine géographique des cires a été considérée à l'échelle internationale, avant de s'intéresser à des différences éventuelles à l'échelle du territoire français. L'information relative au **pays de provenance** des cires était en partie disponible pour les cires dont les données ont été autosaisies par les ciriers dans l'outil Bee Tox Wax (sous la forme origine UE ou non UE) et pour les données de l'étude CRD (l'origine étant précisée, les données ont ensuite été catégorisées en origine France, UE ou hors UE). L'étude Cimeqa ayant été réalisée auprès d'apiculteurs professionnels français, ne s'approvisionnant qu'exceptionnellement en cires provenant d'autres pays, les cires de cette étude n'ont pas été incluses dans cette analyse dont l'objectif était de comparer les origines des cires à un niveau international.

L'étude des QR des cires analysées montre, au niveau international, que l'origine des cires a un effet important, et ce, dans les deux bases de données considérées :

- **concernant les analyses saisies dans Bee Tox Wax par les ciriers**, il apparaît que le QR des cires issues de pays hors UE est significativement plus élevé que celui des cires indiquées comme étant d'origine européenne (régression quantile ; $p = 0,031$). Le QR est supérieur à 5 000 pour 10 des 42 cires européennes analysées (soit 24 %) et pour 11 des 17 cires analysées provenant de pays tiers (65 %) ;
- **pour les échantillons prélevés dans le cadre de la CRD**, la valeur médiane du QR est de 1 560 pour les cires françaises et de 4 030 pour celles provenant d'autres pays (UE/hors UE). De plus, 73 % des cires provenant d'autres pays (exclusivement hors UE) ont un QR dépassant la valeur seuil de 5 000, contre 28 % pour les cires françaises (cf. Figure 50). Les cires françaises sont de meilleure qualité que celles issues de mélanges UE/ hors UE et/ou exclusivement en provenance de pays tiers (cf. Figure 51).

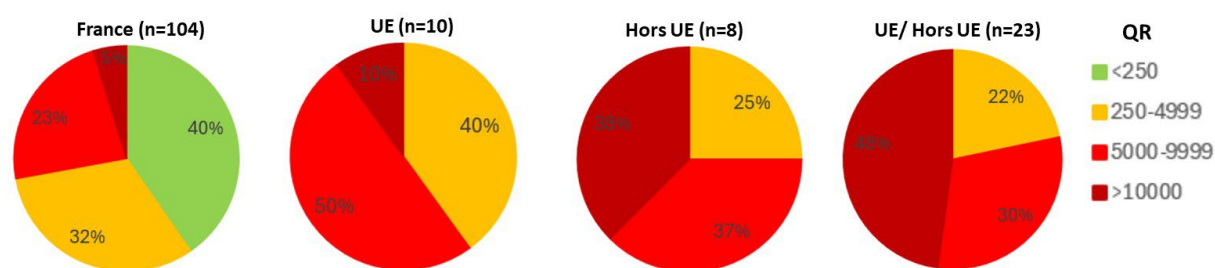
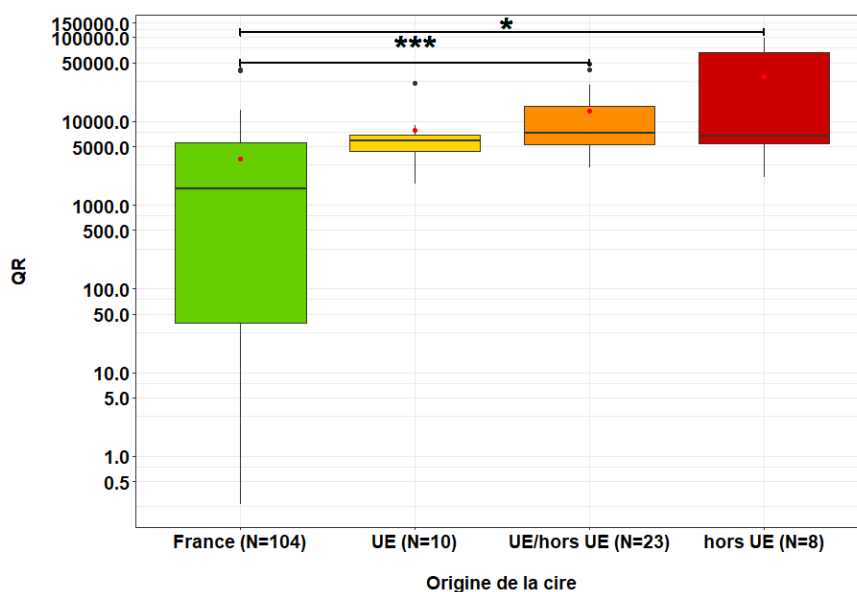


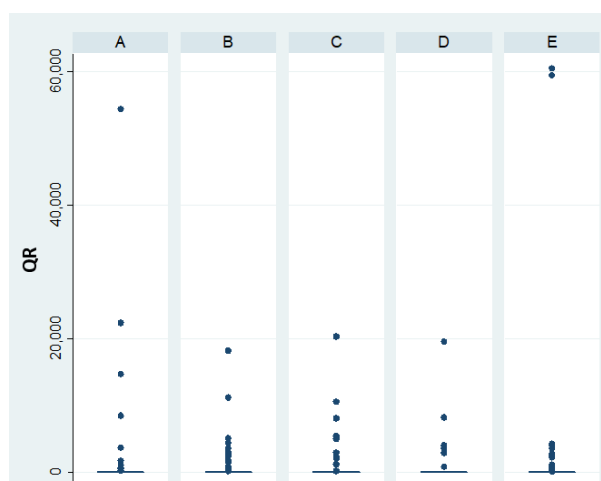
Figure 50 : Proportion d'échantillons de l'étude CRD appartenant aux différentes catégories de cires définies selon leur QR, en fonction de l'origine géographique



Des différences entre les groupes existent (test de Kruskal-Wallis, $p = 2,58E-08$). Malgré les faibles effectifs analysés dans certaines catégories, les cires du groupe « France » présentent un QR significativement plus faible que celles des groupes « UE/hors UE » et « hors UE » (Test de Dunn *** : $p < 0,001$; ** : $p < 0,01$; * : $p < 0,05$. N = nombre d'échantillons analysés)

Figure 51 : Comparaison des QR pour les échantillons de cires de l'étude CRD en fonction de leur origine géographique (France, UE, UE ou hors UE et hors UE)

Si les échantillons obtenus dans le cadre de l'étude Cimeqa, fournis en majorité par des apiculteurs professionnels pratiquant un autorenouvellement, ne permettent pas d'obtenir des informations quant à une provenance de l'étranger, cette étude permet cependant de disposer d'informations à l'échelle nationale. En effet, le département d'origine (correspondant au département de déclaration des ruchers déclarés par l'apiculteur) a été enregistré pour les différents échantillons. Les cinq zones préalablement définies (cf. Figure 34 ; chapitre 5.1.3.3) ont été comparées ; les cires en provenance des zones C et D présentent des QR plus élevés que celles des zones A, B et E (cf. Figure 52), cette différence étant significative.



Zone A : Auvergne-Rhône-Alpes; Zone B : Occitanie; Provence-Alpes-Côte d'Azur; Zone C : Pays de la Loire; Nouvelle-Aquitaine; Zone D : Bretagne; Centre-Val de Loire; Hauts-de-France; Ile-de-France; Normandie ; Zone E : Corse; Bourgogne-Franche-Comté; Grand Est. Les zones C et D présentent des QR significativement plus élevés que la zone A prise en référence (régression ordinale, lot C : IC = [0,1151305 - 1,464055], $p = 0,022$; lot D : IC = [0,2464265 - 1,713352], $p = 0,009$).

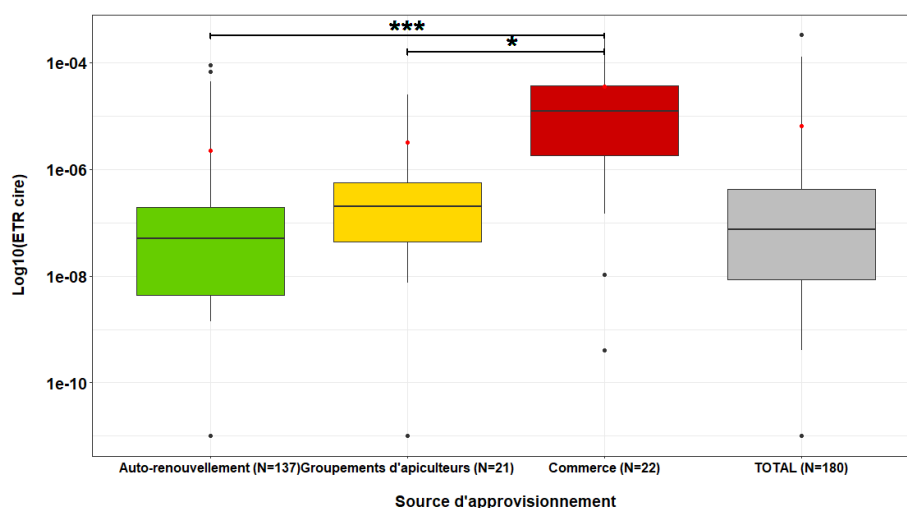
Figure 52 : Distribution des QR des cires analysées dans l'étude Cimeqa en fonction de leur provenance en France telle que définie en Figure 34

5.4.4.3 Niveaux de risque chimique et pratiques d'approvisionnement en cire

Les cires ne sont pas de qualité égale selon le circuit de distribution duquel elles sont issues, comme cela est mis en évidence par les études Cimeqa et CRD.

L'étude Cimeqa ayant été conduite par l'ITSAP, c'est l'indicateur ETR développé par cet organisme qui a été pris en compte. Rappelons que, plus la valeur de l'ETR est proche de la valeur 1, plus la cire testée est contaminée, tandis que plus sa valeur est proche de 0, meilleure est la qualité de la cire.

Pour l'étude Cimeqa, l'ETR est plus faible pour les cires issues des exploitations en autorenouvellement (n = 137). Le risque est environ 15 fois inférieur en moyenne à celui calculé pour les cires achetées dans le commerce (cf. Figure 53). Les feuilles de cires gaufrées confectionnées à partir de pains de cires collectés par des groupements d'apiculteurs (n = 21) présentent aussi une meilleure qualité que les cires du commerce (n = 22), mais dans une proportion moindre que celle des cires que recyclent et utilisent les apiculteurs autosuffisants (cf. Figure 53).



Une différence est mise en évidence entre les sources d'approvisionnement (Kruskal-Wallis : $p = 1,17 \times 10^{-8}$), entre les cires provenant du commerce et les cires produites en autorenouvellement ou provenant des groupements d'apiculteurs. La différence d'ETR entre les cires des groupements et celles obtenues en autorenouvellement n'est en revanche pas significative. Test de Dunn *** : $p < 0,001$; * : $p < 0,05$. N = nombre d'échantillons analysés

Figure 53 : Niveau de toxicité (ETR) des échantillons de cires de l'étude Cimeqa selon le circuit d'approvisionnement

Les échantillons de cires de l'étude CRD ont été analysés avec l'indicateur QR et ont permis de comparer quatre types de fournisseurs : ciriers, groupements d'apiculteurs, enseignes spécialisées apicoles et enseignes générales. Les cires de meilleure qualité proviennent des groupements d'apiculteurs (n = 32), avec un QR moyen de 3 110 (QR médian : 1 390), suivies de celles échantillonnées chez les ciriers (n = 37, QR moyen : 4 510 et QR médian : 2 040). Les cires obtenues auprès des enseignes spécialisées en apiculture (n = 49) et auprès d'enseignes générales (n = 34) sont de moins bonne qualité que celles obtenues auprès de ciriers ou des groupements. En particulier, le QR médian est nettement plus élevé pour les enseignes générales puisqu'il est jusqu'à 48,8 fois supérieur à celui des enseignes spécialisées, des ciriers et des groupements.

Les proportions de cires dépassant le seuil de 5 000 sont de 16 % pour les groupements, de 32 % pour les ciriers, de 45 % pour les enseignes spécialisées et de 70 % pour les enseignes générales (cf. Figure 54). Aucun des échantillons de cire en provenance des enseignes générales n'a été

classé dans la catégorie des cires présentant un risque acceptable ($QR < 250$), tandis que seulement 20 % des échantillons des enseignes spécialisées se trouvaient dans cette catégorie. En revanche, les proportions de cires présentant un risque acceptable étaient de 41 % pour les ciriers et de 53 % pour les groupements.

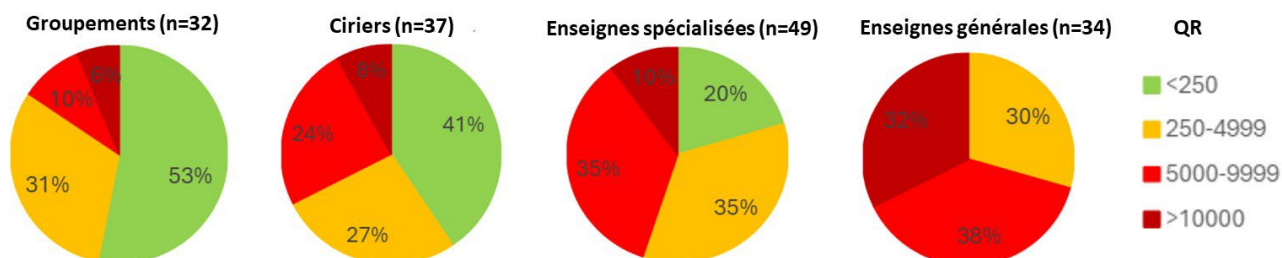
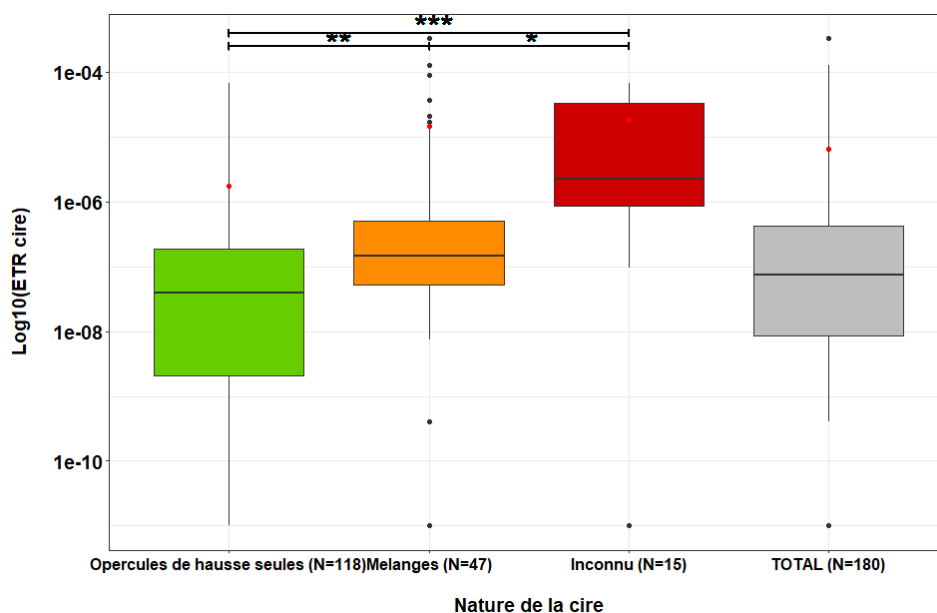


Figure 54 : Fréquence de chaque type de cire (défini par son QR) pour chacun des quatre distributeurs échantillonnés dans le cadre de la CRD (groupements d'apiculteurs, ciriers, enseignes spécialisées, enseignes générales)

5.4.4.4 Niveaux de risque chimique et nature de la cire

La nature des cires utilisées au moment de la confection des nouvelles feuilles de cire a aussi un impact sur les niveaux de risque chimique identifiés, comme cela est observé avec les cires de l'étude Cimeqa (indicateur ETR) et de la CRD (indicateur QR).

Concernant l'étude Cimeqa, les feuilles de cire gaufrée issues de cires d'opercules présentent un indicateur de risque toxicologique (ETR) en moyenne huit fois plus faible que celui calculé pour les feuilles de cire gaufrée issues de mélanges ou pour lesquelles l'information n'était pas connue (cf. Figure 55).



Les moyennes sont différentes en fonction des groupes (Kruskal-Wallis : $p = 2,94e-07$). Les différences entre chacun des groupes comparés deux à deux sont significatives (Test de Dunn *** : $p < 0,001$; ** : $p < 0,01$; * : $p < 0,05$)

Figure 55 : Niveau de toxicité (ETR) des cires de l'étude Cimeqa, en fonction de la nature de la cire utilisée

Dans le cadre de l'étude CRD, le QR médian des cires issues d'opercules est de 279 alors qu'il est de 5 590 pour les cires produites à partir de mélanges, soit 20 fois plus élevé. Une majorité (57 %) de cires produites à partir de mélanges ont une valeur de QR supérieure à 5 000, alors que cette proportion est de seulement 13 % pour les cires issues d'opercules (cf. Figure 56).

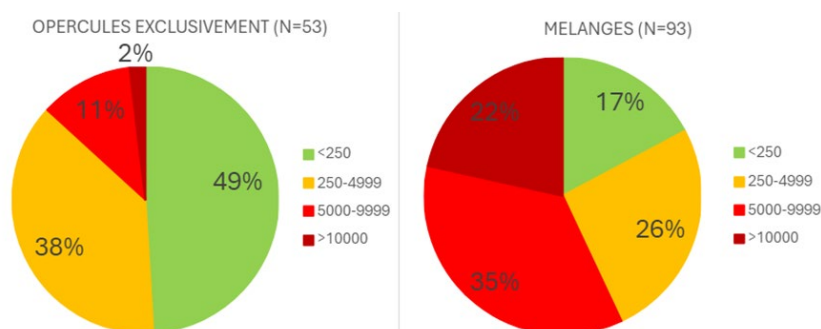
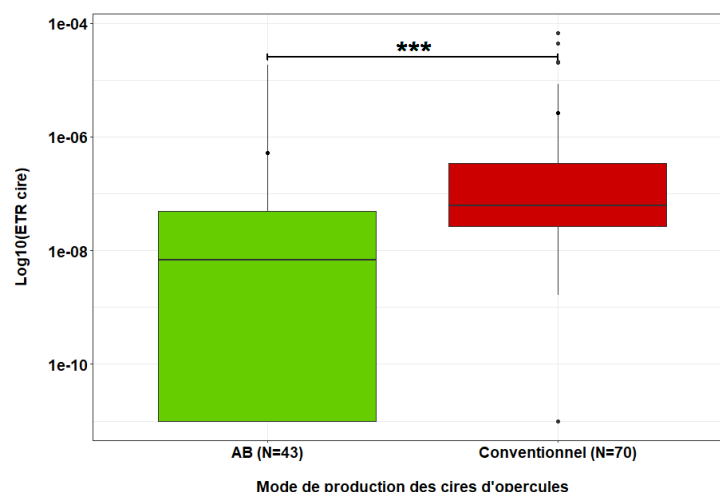


Figure 56 : Répartition des échantillons de cires prélevés dans le cadre de la CRD en fonction de la nature des cires ayant été utilisées (opercules ou mélanges) pour confectionner les feuilles de cire

5.4.4.5 Niveaux de risque chimique et mode de production (AB ou conventionnel)

Les échantillons de cires prélevés dans le cadre des études Cimeqa et CRD permettent de mettre en évidence une différence de niveau de risque entre les cires du circuit AB et celles du circuit conventionnel.

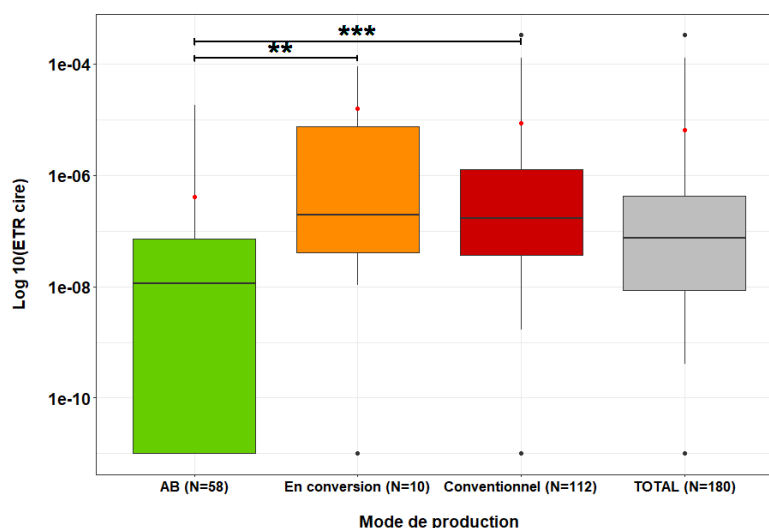
Dans l'étude Cimeqa, les cires issues d'opercules employées en AB présentent un ETR significativement différent avec en moyenne cinq fois plus faible que celui calculé pour les cires également issues d'opercules en apiculture conventionnelle (cf. Figure 57).



Test de Wilcoxon Mann-Whitney : $p = 2,94e-07$; Significativité *** : $p < 0,001$; N = nombre d'échantillons analysés

Figure 57 : ETR en fonction du mode de production de la cire d'opercules : AB à gauche et conventionnel à droite

Lorsque l'analyse prend en compte, en plus des cires d'opercules, les cires de mélange ou celles pour lesquelles l'information n'est pas connue, le risque associé aux cires AB est significativement plus faible, soit environ sept fois inférieur à celui associé aux cires conventionnelles ou aux cires obtenues chez les apiculteurs en conversion AB (cf. Figure 58).



Des différences existent entre l'ETR moyen de ces groupes (Kruskal-Wallis : $p = 1,38e-07$). Les cires des apiculteurs travaillant en AB présentent un ETR moyen plus faible que l'ETR des deux autres systèmes de production (Test de Dunn *** : $p < 0,001$; ** : $p < 0,01$; N = nombre d'échantillons analysés)

Figure 58 : Niveau de toxicité (ETR) des cires en fonction du mode de production apicole (étude Cimeqa)

Le même constat est fait sur les cires analysées **dans le cadre de l'étude CRD** : le QR est favorable aux cires employées en apiculture AB. La valeur médiane de cet indicateur est de 30,6 pour les cires labellisées AB et de 4 080 pour les cires qui ne le sont pas (en provenance d'un circuit conventionnel), c'est-à-dire environ 133 fois plus élevée (cf. Figure 59). La plus forte contamination des cires conventionnelles se traduit également par une proportion importante (42 %) de cires dépassant le seuil critique de QR de 5 000.

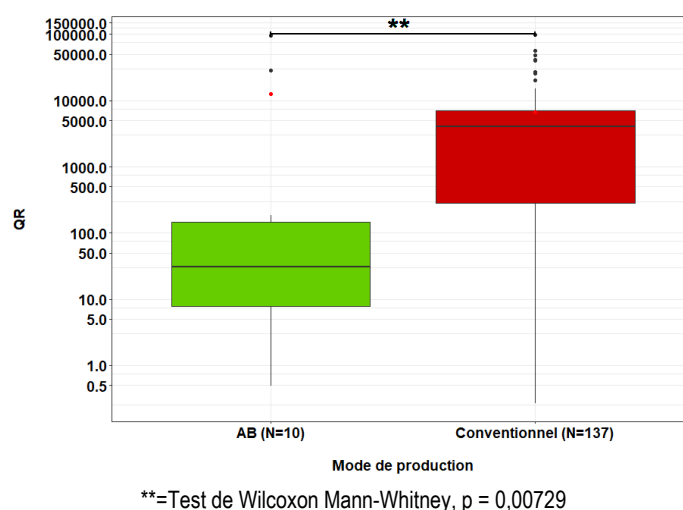


Figure 59 : QR (Bee Tox Wax) des cires analysées dans le cadre de l'étude CRD, en fonction du système de production : AB à gauche, conventionnel à droite

5.4.4.6 Part globale des acaricides apicoles autorisés en France dans le risque chimique des cires

Dans les études Cimeqa et CRD, la part représentée par les acaricides apicoles autorisés actuellement en France dans le QR total est variable, allant de 0 à 100 % (Figure 60, A) :

- environ 25 % des échantillons présentent une part du QR liée à ces acaricides, inférieure à 1 % du QR total ;
- pour la plupart des échantillons (53 % des échantillons de l'étude Cimeqa, et 61 % pour la CRD), la part du QR des acaricides est inférieure à la moitié du QR total.

Aucune différence statistique n'a été mise en évidence de ce point de vue entre les études CRD et Cimeqa (cf. Figure 60A et Figure 60B).

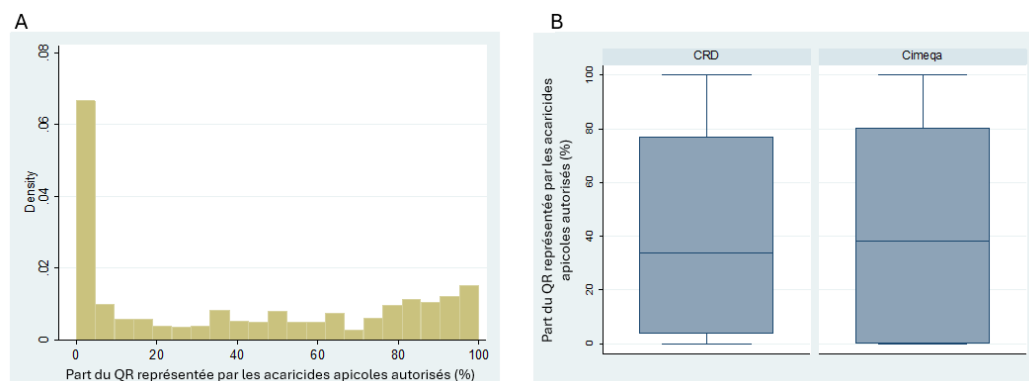


Figure 60 : A : distribution de la part représentée par les acaricides apicoles autorisés en France (amitraze et métabolites, fluméthrine, tau-fluvalinate, et pour la CRD, thymol) dans le QR total des échantillons de cires (Cimeqa et CRD). B : la part représentée par les acaricides dans le QR des échantillons est similaire entre les deux études (CRD et Cimeqa)

Lorsque la part du QR représentée par les acaricides autorisés pour un usage apicole en France est retirée du QR, le QR est globalement peu modifié (cf. Tableau 40). Le test de concordance Kappa de Cohen indique une excellente concordance entre les catégories « fortement contaminées », « contaminées » et « très peu contaminées » ($\kappa=0,8305$, $p<0,05$), ce qui signifie que l'exclusion des acaricides du calcul du QR n'induit que peu de changements sur la catégorie de risque chimique dans laquelle l'échantillon de cire est classé.

Tableau 40 : Nombre d'échantillons appartenant aux trois catégories définies par les seuils de 250 et 5 000 d'après leur QR (Bee Tox Wax)

Catégorie de cire (Cimeqa et CRD)	Nombre d'échantillons appartenant à la catégorie (QR prenant en compte toutes les substances)	Nombre d'échantillons appartenant à la catégorie (QR après retrait des acaricides à usage apicole)
« fortement contaminée »	75	44
« contaminée »	97	117
« très peu contaminée »	325	336
total	497	497

Les seuils de 250 et 5 000 ont été retenus comme vu précédemment pour définir les catégories (Calatayud-Vernich et al., 2019 ; Traynor et al., 2016).

Sur l'ensemble des deux études, le retrait des substances acaricides à usage apicole du calcul du QR fait changer de catégorie 31 échantillons de cires, sur 75 dont le QR était au départ supérieur à 5 000, sous ce seuil (cf. Tableau 41). Autrement dit, 41,3 % des échantillons considérés comme « fortement contaminés » sur la base du QR prenant en compte toutes les substances sont passés dans la catégorie « contaminée ». De la même manière, 11 échantillons (sur 97, soit 11,3 %) sont passés de la catégorie « contaminée » à « très peu contaminée » après retrait des substances acaricides du calcul du QR.

Tableau 41 : Changement de catégories des échantillons après retrait des acaricides autorisées pour un usage apicole dans le calcul du QR (Bee Tox Wax)

Étude	Nombre d'échantillons « fortement contaminés » (toutes substances prises en compte) ⁽¹⁾	Nombre d'échantillons passant de « fortement contaminé » à « contaminé » ⁽²⁾	%	Nombre d'échantillons « contaminés » (toutes substances prises en compte) ⁽¹⁾	Nombre d'échantillons passant de « contaminé » à « très peu contaminé » ⁽²⁾	%
Cimeqa ⁽³⁾	16	5	31,3	50	6	12
CRD ⁽³⁾	59	26	44	47	5	10,6
Total	75	31	41,3	97	11	11,3

Les seuils de 250 et 5 000 ont été retenus comme vu précédemment pour définir les catégories (Calatayud-Vernich et al. 2019; Traynor et al. 2016).

⁽¹⁾ le nombre d'échantillons « fortement contaminés » (ou « contaminés ») (toutes substances prises en compte) correspond aux échantillons catégorisés comme « fortement contaminés » sur la base du calcul du QR prenant en compte toutes les substances (acaricides apicoles inclus). Le principe est le même pour le nombre d'échantillons « contaminés ».

⁽²⁾ Le nombre d'échantillons de cires passant de « fortement contaminé » à « contaminé » (ou de « contaminé » à « très peu contaminé ») a été établi en comptabilisant le nombre de cires passant d'une catégorie à l'autre après retrait des substances acaricides à usage apicole dans le calcul du QR. Aucun échantillon n'est passé de « fortement contaminé » à « très peu contaminé ».

⁽³⁾ Pour les deux études, les substances qui ont été retirées du calcul du QR « sans acaricide à usage apicole » sont l'amitraz (et métabolites), la fluméthrine et le tau-fluvalinate ; auxquelles s'ajoute le thymol pour la CRD.

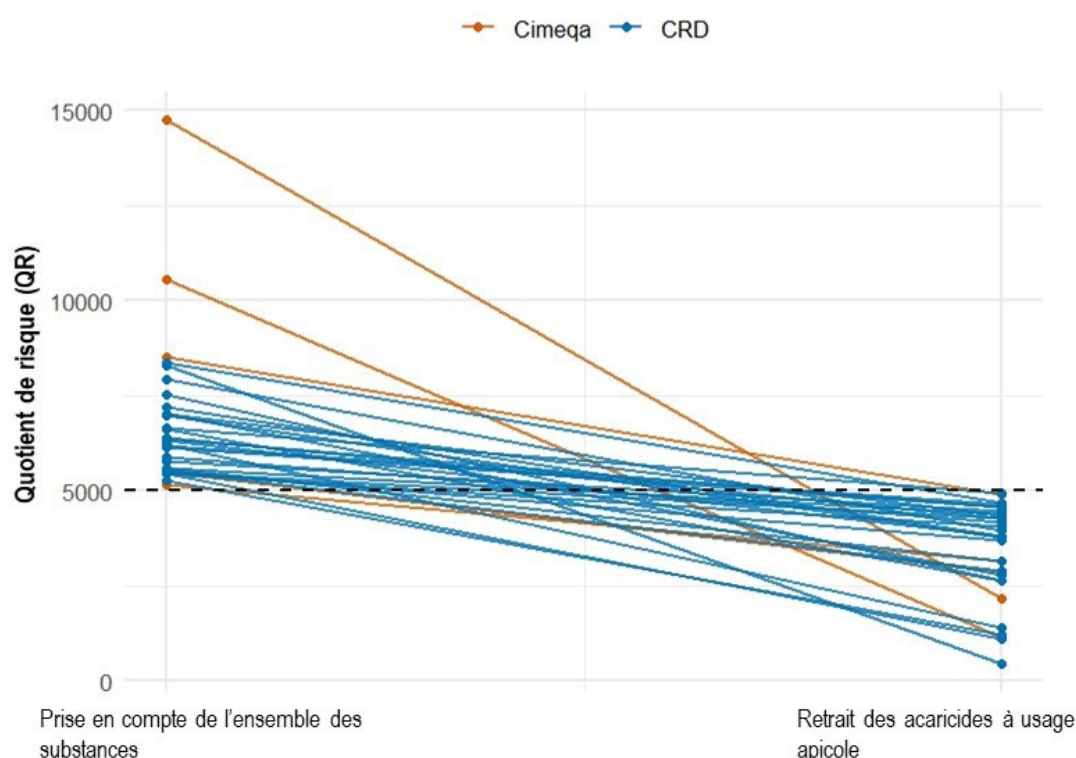


Figure 61 : QR avec (à gauche du graphique) et sans (à droite du graphique) prise en compte de la part de QR des acaricides autorisés pour un usage apicole. Présentation des échantillons dont la qualité passe de mauvaise (QR>5 000) à intermédiaire (QR<5 000) en cas de retrait du QR lié aux acaricides apicoles (31 échantillons issus de la CRD et 5 échantillons issus de Cimeqa)

Bien que cette réduction puisse sembler importante, la part représentée par les acaricides apicoles autorisés dans les échantillons selon leur catégorie de qualité n'est pas équivalente (cf. Figure 61). En effet, les échantillons pour lesquels les acaricides représentent une part élevée

du QR total sont plus fréquemment classés dans la catégorie des cires de bonne qualité, c'est-à-dire celles dont le QR est inférieur ou égal à 250. Autrement dit, de manière globale, **le retrait des résidus d'acaricides à usage apicole des cires étudiées n'aura qu'un impact limité sur l'amélioration de leur qualité chimique.**

5.4.4.7 Focus sur la responsabilité des acaricides apicoles autorisés dans le risque chimique

Les QR des substances acaricides autorisées pour un usage apicole en France et leur importance relative parmi les acaricides ont fait l'objet d'analyses spécifiques pour les échantillons des études Cimeqa et CRD (cf. Figure 62).

Pour rappel, les acides oxalique et formique, bien qu'autorisés pour cet usage, n'ont pas été inclus dans ces analyses car ils s'accumulent peu dans les cires du fait de leurs propriétés hydrophiles (cf. 5.1.1.4) et ne font pas partie du panel de substances recherchées dans les analyses multirésidus.

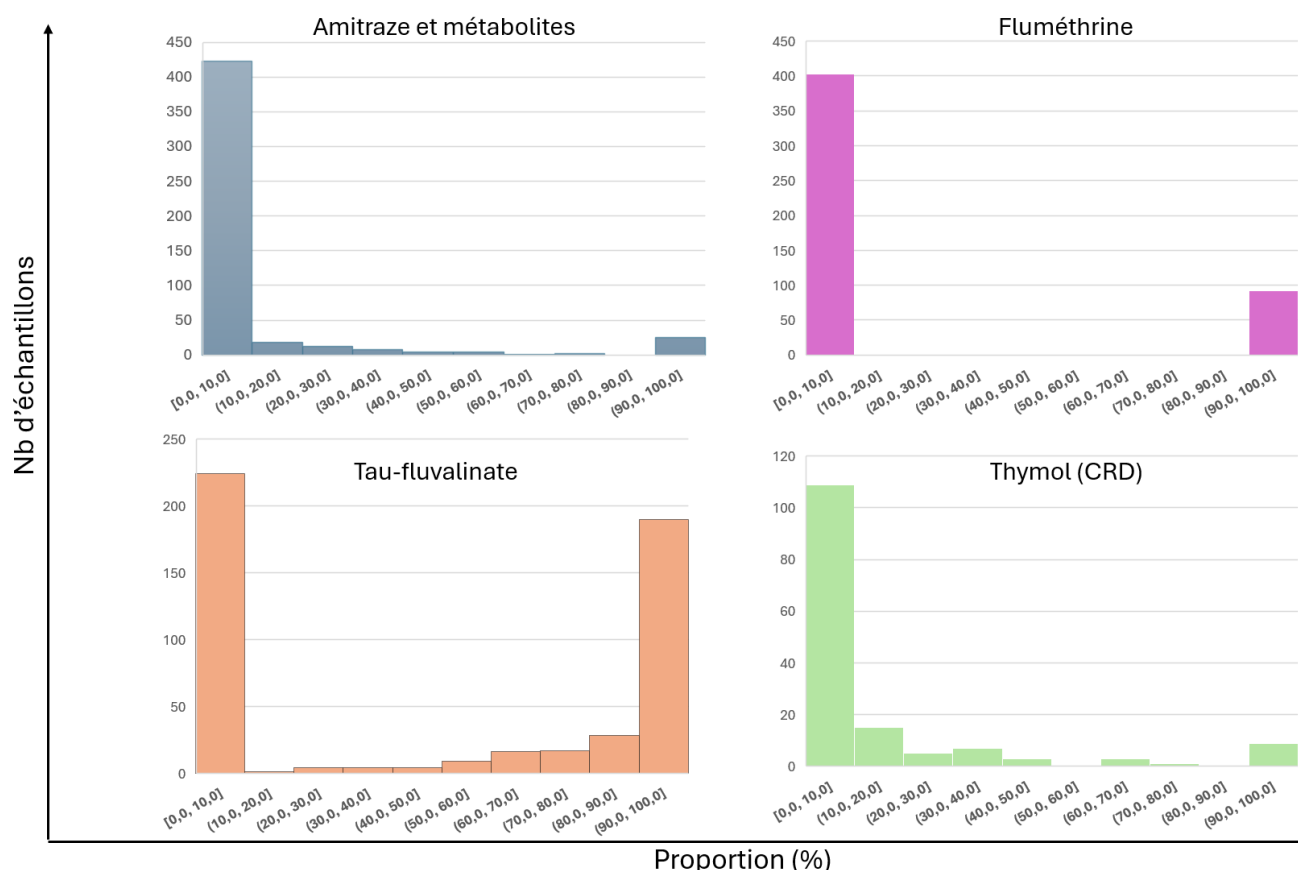


Figure 62 : Part de QR de chaque acaricide à usage apicole autorisés en France dans le QR des acaricides autorisés dans les échantillons des études Cimeqa et CRD

Tableau 42 : Synthèse, pour les études CRD et Cimeqa, des QR moyens et des médianes de QR pour les quatre acaricides à usage apicole

	QR	amitrazé & métabolites	fluméthrine	tau-fluvalinate	thymol**	Ensemble des acaricides à usage apicole
CRD + Cimeqa (n=497)	Moyenne	0,52	378,54	26,67	-	407,81
	Médiane	0,00	0,00	6,83	-	8,33
	Moyenne des échantillons avec QR>0 (n*)	1,62 (n=158)	2 001,43 (n=94)	36,12 (n=367)	-	507,97 (n=399)
Cimeqa (n=345)	Moyenne	0,56	136,35	37,49	-	157,74
	Médiane	0,00	0,00	8,33	-	3,75
	Moyenne des échantillons positifs (n*)	1,74 (n=111)	2 138,18 (n=22)	37,49 (n=268)	-	217,68 (n=250)
CRD (n=152)	Moyenne	0,42	928,25	21,10	6,81	975,40
	Médiane	0,00	0,00	3,33	1,30	110,41
	Moyenne des échantillons positifs (n*)	1,35 (n=47)	1 959,65 (n=72)	32,40 (n=99)	8,35 (n=124)	995,04 (n=149)

*n correspond au nombre d'échantillons pour lequel le QR est supérieur à 0 pour la ou les substances considérées **le thymol n'a pas été recherché dans les échantillons de l'étude Cimeqa

➤ Amitrazé et ses métabolites

Le QR de l'amitrazé et de ses métabolites correspond à la somme des QR de l'amitrazé, du DMA, du DMF et du DMPF. Le QR moyen de ces substances pour l'ensemble des échantillons (CRD et Cimeqa) a été estimé à 0,52 (médiane : 0,00) (cf. Tableau 42).

Pour les 158 échantillons (111 de l'étude Cimeqa, 47 de l'étude CRD) pour lesquels le QR de l'amitrazé était supérieur à 0, la moyenne du QR de la substance était de 1,6 (cf. Tableau 42). Pour les 25 échantillons pour lesquels le QR de l'amitrazé représentait plus de 90 % du QR des acaricides autorisés, la moyenne du QR était de 1,84. Enfin, la valeur de QR maximale observée pour l'amitrazé et ses métabolites était de 16,60. Autrement dit, le QR de l'amitrazé et de ses métabolites observé dans cette étude est très faible par rapport aux seuils de 250 et 5 000 servant à catégoriser les cires en fonction de leur qualité.

L'amitrazé et ses métabolites ne sont pas à l'origine d'une dégradation de la qualité de la cire dans les échantillons étudiés.

➤ Fluméthrine

Avec une fréquence de détection d'environ 20 %, le QR de la fluméthrine était fréquemment nul. Pour autant, le QR moyen calculé sur l'ensemble des échantillons a été estimé à 378,54 (médiane = 0,00) (cf. Tableau 42).

Sur l'ensemble des échantillons testés (CRD et Cimeqa), 94 contenaient de la fluméthrine (QR moyen de ces échantillons dans lesquels la substance a été détectée : 2001,43). Parmi ces 94 échantillons, 72 proviennent de l'étude CRD (ce qui représente 47 % des échantillons analysés dans le cadre de cette étude, dans laquelle étaient testées des cires du commerce essentiellement), et 22 proviennent de l'étude Cimeqa (6 % des échantillons, en provenance d'apiculteurs professionnels autosuffisants pour la plupart).

A partir du moment où la fluméthrine était présente dans la cire, elle participait de manière majoritaire au QR des acaricides apicoles présents : pour 92 échantillons (sur 94) la part représentée par le QR de cette substance dans le QR des acaricides autorisés était supérieure à 90 % (pour les deux autres, la proportion était de 89,6 et de 77,4 %) (cf. Figure 62).

Ceci s'explique par le fait que cette substance est hautement toxique : avec une DL_{50} de 0,05 µg/abeille, la fluméthrine fait partie des dix substances les plus toxiques retrouvées dans les études de terrain. Cette toxicité se traduit par des valeurs de QR de l'ordre de plusieurs centaines : la valeur minimale de QR déterminée dans cette étude était de 400.

La fluméthrine peut être à l'origine d'une dégradation de la qualité de la cire. Sa toxicité élevée (DL_{50} faible) explique que le QR des cires qui en contiennent atteint des valeurs supérieures au seuil de 250, et donc que ces cires soient considérées *a minima* comme contaminées. La fluméthrine est essentiellement présente dans les échantillons de cire commerciale (CRD) et pour une part moindre chez les apiculteurs professionnels autosuffisants.

➤ Tau-fluvalinate

Le tau-fluvalinate a été détecté dans 367 échantillons avec un QR moyen de 26,67 sur l'ensemble des échantillons des deux études (médiane : 6,83) (cf. Tableau 42). Les valeurs moyennes de QR des échantillons dans lesquels le tau-fluvalinate a été détecté étaient de 37,49 et 21,10 pour les études Cimeqa et CRD respectivement.

Avec une valeur de DL_{50} de 12 µg/abeille, le tau-fluvalinate est considéré comme peu toxique (Bee Tox Wax). Si le QR moyen observé dans ces études, inférieur à 30, semble modéré, le tau-fluvalinate participe de manière majoritaire au QR des substances acaricides à usage apicole : le QR du tau-fluvalinate représentait une part supérieure à 90 % du QR pour 190 échantillons (soit 38,3 % ; avec QR moyen pour ces échantillons de 27,5) (cf. Figure 62). Le QR du tau-fluvalinate a dépassé la centaine pour 34 échantillons, dont sept échantillons avec une valeur supérieure au seuil de 250, et une valeur maximale observée de 816,67.

Seulement 130 échantillons (c'est à dire 26 %) ne contenaient pas de tau-fluvalinate (cf. Figure 62), ces 130 sont inclus dans les 224 échantillons de cires pour lesquels le QR de la substance représentait une part inférieure à 10 % du QR des acarides). Parmi ces 130 échantillons, 118 proviennent de l'étude Cimeqa et 12 de l'étude CRD, soit moins de 8 % des échantillons de cette étude. Ce constat est en accord avec les pratiques apicoles rencontrées au cours de l'étude Cimeqa : l'usage du médicament apicole contenant du tau-fluvalinate a en effet considérablement diminué ces dernières années chez les apiculteurs professionnels.

Le tau-fluvalinate représente régulièrement une part importante du QR global des acaricides. L'ordre de grandeur du QR de cette substance est en général de l'ordre de la dizaine mais peut tout de même atteindre des valeurs dépassant la centaine.

➤ Thymol

Pour cette substance, seuls les échantillons de l'étude CRD ont été pris en compte. En effet, le thymol doit faire l'objet d'analyses spécifiques qui n'ont pas été réalisées lors de l'étude Cimeqa. Le thymol a été détecté dans près de 80 % des échantillons de l'étude CRD : 28 échantillons seulement (soit 18,4 %) ne contenaient pas cette substance.

La DL_{50} du thymol est élevée (200 µg/abeille) et il n'est pas considéré comme toxique pour les abeilles. Pour autant, sa part de QR moyen (6,8 sur l'ensemble des échantillons) (cf. Tableau 42)

est plus élevée que celle de l'amitraze et ses métabolites, alors que ce dernier est censé être plus toxique. Ceci est dû au fait que les teneurs en thymol peuvent être élevées dans les cires. La part représentée par le QR du thymol parmi le QR des substances acaricides était supérieure à 90 % pour neuf échantillons (sur 152, soit 5,9 % des échantillons de la CRD, (cf. Figure 62). Pour ces échantillons, la moyenne de QR était de 38,2 et la valeur maximale de QR observée atteignait 180 (seul échantillon du jeu de données avec une valeur supérieure à 100). Pour les autres échantillons, 27 présentaient un QR supérieur à 10.

Le QR du thymol peut représenter la part prépondérante du QR des acaricides dans les échantillons de cires, ce qui reflète *a priori* un usage en tant qu'alternative aux autres traitements acaricides.

Bien que considéré comme non toxique du fait de sa DL₅₀ élevée, les QR peuvent atteindre des valeurs de l'ordre de la dizaine, et exceptionnellement de la centaine, en raison des fortes teneurs constatées dans les échantillons de cire, ce qui en fait une substance à prendre en compte pour la qualité des cires et le risque induit pour la santé des abeilles.

5.4.4.8 Focus sur le rôle de différentes familles de substances à usage phytopharmaceutique et/ou biocides dans le risque chimique

➤ **Pyréthroïdes**

Dans les études Cimeqa et CRD, 16 substances appartenant à la famille des pyréthroïdes ont été recherchées. Quatorze d'entre elles ne bénéficient pas, en France, d'une autorisation pour un usage apicole, mais peuvent, pour certaines, être utilisées en tant que PPP ou biocides. Individuellement, les pyréthroïdes à usage PPP et biocides ont été peu fréquemment détectés dans les échantillons de cire, à l'exception de la perméthrine. Cependant, pour les six pyréthroïdes détectés dans les études, leurs QR pouvaient rapidement atteindre des niveaux importants, comme le montrent les valeurs moyennes des QR des échantillons dans lesquels ils sont détectés (cf. Tableau 43). Ceci témoigne de leur faible valeur de DL₅₀, c'est à dire de leur toxicité élevée.

Tableau 43 : Moyenne des QR des pyréthroïdes dans les études CRD et Cimeqa (seuls les échantillons positifs ont été pris en compte). Les valeurs de DL₅₀ ainsi que les usages des différentes molécules sont rappelées

	DL ₅₀ contact µg/abeille	Usage autorisé en Europe*		QR moyen des échantillons positifs (n = nombre d'échantillons positifs pour la substance considérée)	
		PPP**	Biocide**	CRD (N=152)	Cimeqa (N=345)
Pyréthrinoïdes (substances à usage non apicole)					
acrinathrine	0,084	non	Non	2 153,27 (n=24)	1 184,53 (n=2)
bifenthrine	0,016	non	Non	-	-
cyfluthrine	0,001	non	Non	-	-
cyperméthrine	0,023	oui	Oui	5 876,93 (n=11)	7 904,35 (n=5)
deltaméthrine	0,0015	oui	Oui	37 933,88 (n=19)	42 777,78 (n=6)
fenpropathrine	0,05	non	Non	-	-
fenvalérate	0,23	non (esfenvalérate oui)	non (esfenvalérate oui)	-	-

	DL ₅₀ contact µg/abeille	Usage autorisé en Europe*		QR moyen des échantillons positifs (n = nombre d'échantillons positifs pour la substance considérée)	
		PPP**	Biocide**	CRD (N=152)	Cimeqa (N=345)
Pyréthrinoïdes (substances à usage non apicole)					
lambda-cyhalothrine	0,038	oui	Oui	1 802,63 (n=1)	-
perméthrine	0,024	non	Oui	3 901,52 (n=72)	2 442,31
pyréthrine I	0,013	oui	Oui	-	19 615,38 (n=2)
pyréthrine II	0,013	oui	Oui	-	-
resméthrine	0,063	non	non	-	-
téfluthrine	0,28	oui	non	-	-
tétraméthrine	0,16	oui	oui	1 297,92 (n=3)	1 406,25 (n=2)
Acaricides apicoles de la famille des pyréthrinoïdes					
fluméthrine	0,05	non	non	1 959,65 (n=72)	2 138,18 (n=22)
tau-fluvalinate	12	oui	oui ⁸⁸	43.34(n=140)	31.66 (n=227)

* : Oui signifie que la substance est actuellement autorisée pour un ou plusieurs usages en UE, Non signifie que la substance est interdite d'usage en UE (sans tenir compte des éventuelles dérogations ou cas particuliers).

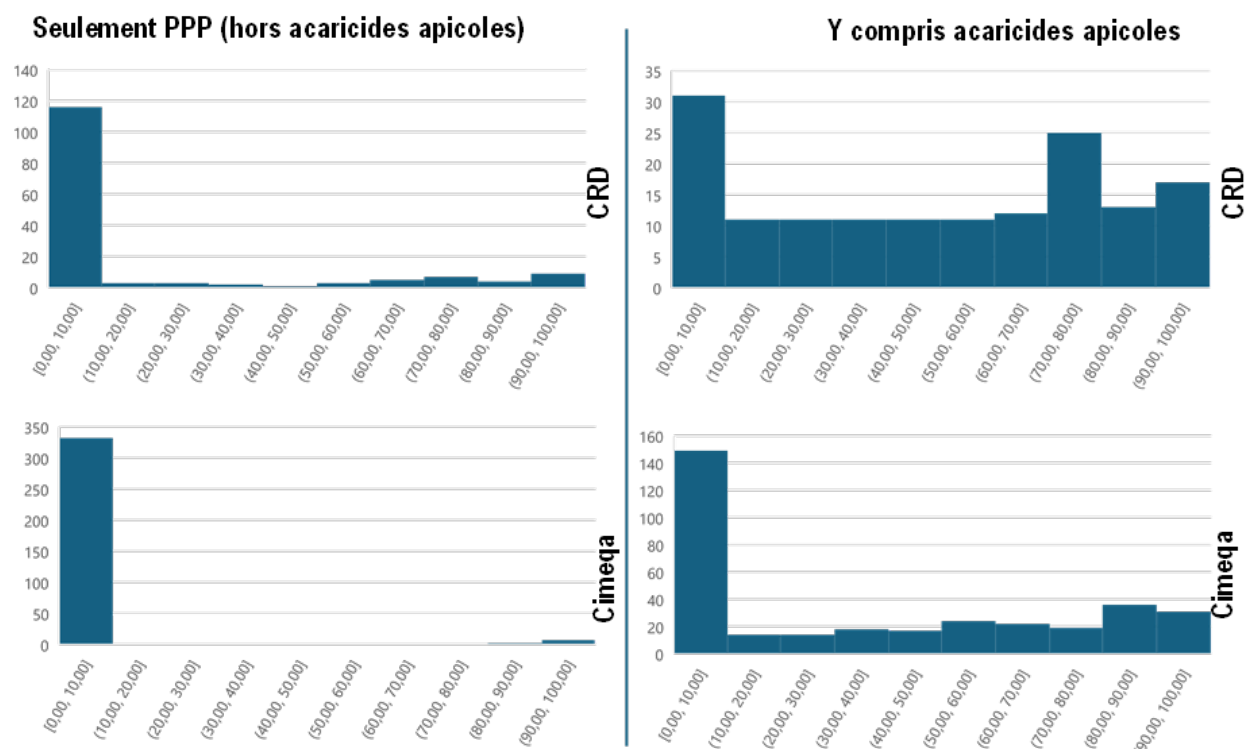
** : sources : sites ephy consulté le 25/04/2025 pour les PPP et Echa consulté le 25/04/2025 pour les biocides.

La part du QR liée à l'ensemble des pyréthrinoïdes à usage PPP ou biocide (c'est à dire, tout usage sauf médicament vétérinaire apicole) représentait plus de la moitié du QR total dans 18,4 % des échantillons de l'étude CRD, contre 3,2 % des échantillons de l'étude Cimeqa (cf. Figure 63, à gauche). En intégrant le QR des pyréthrinoïdes à usage apicole autorisés en France (tau-fluvalinate et fluméthrine) à la part représentée par les pyréthrinoïdes à usage PPP ou biocide, la proportion d'échantillons de cires pour lesquels plus de la moitié du QR total est liée aux pyréthrinoïdes augmentait alors pour atteindre un niveau global de 42,3 % (étude CRD : 50,1 % et étude Cimeqa : 38,6 %) (cf. Figure 63, à droite).

Il convient de noter qu'en termes de QR cumulatifs, tant pour les échantillons de l'étude Cimeqa que pour ceux de la CRD, les pyréthrinoïdes sont les substances les plus représentatives du risque chimique. En effet, les cinq substances présentant la somme de QR la plus élevée sont des pyréthrinoïdes pour les deux études et ce sont les pyréthrinoïdes qui participent le plus au risque toxicologique. Il s'agit, par ordre décroissant, de la deltaméthrine, de la perméthrine, de la fluméthrine, de la cyperméthrine et enfin, pour la CRD, de l'acrinathrine et, pour l'étude Cimeqa, de la pyréthrine I.

La toxicité liée à la présence de pyréthrinoïdes non apicoles dans les cires (PPP et biocides) est notamment renforcée en cas de présence de résidus de médicaments vétérinaires apicoles de la même famille (fluméthrine et tau-fluvalinate).

⁸⁸ <https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.127.965>



A gauche, seuls les pyréthriinoïdes à usage phytopharmaceutique et/ou biocides (et pour certains, MV non apicoles) ont été pris en compte, à droite, les deux acaricides à usage apicole autorisés de ce groupe (fluméthrine et tau-fluvalinate) ont été inclus.

Figure 63 : Part du QR des pyréthriinoïdes dans le QR total des cires des études CRD et Cimeqa

Dans les études Cimeqa et CRD, les substances participant le plus au risque toxicologique sont des pyréthriinoïdes (deltaméthrine, perméthrine, fluméthrine, cyperméthrine et enfin, en 5^{ème} place, acrinathrine ou pyréthrine I, pour la CRD et Cimeqa respectivement). Étant donné les usages pour lesquels ces substances sont autorisées, il semblerait que la toxicité des cires résulte d'usages agricoles et/ou de pratiques apicoles.

➤ Pipéronyl-butoxide PBO

Cette substance a été fréquemment détectée dans les cires : le QR était non nul pour 114 échantillons de l'étude Cimeqa (sur 345, soit 33,04 %) et 118 de la CRD (sur 152, soit 77,32 %) vis-à-vis de cette substance. Mais, avec une DL_{50} contact estimée à 294 µg/abeille, le PBO n'est pas considéré comme toxique (Bee Tox Wax). Les QR de cette substance pour les échantillons de cire des deux études sont donc faibles : en moyenne 0,11 (médiane 0,00) pour l'étude Cimeqa (les valeurs de QR pour cette substance étant comprises entre 0 et 2,92) et en moyenne de 0,40 (médiane de 0,21) avec des valeurs comprises entre 0 et 2,99 pour l'étude CRD.

Le PBO agit comme synergisant à faible dose et donc potentialise les effets des pyréthriinoïdes, en renforçant leur efficacité insecticide. Bien que le PBO n'ait pas d'activité insecticide propre, il inhibe les enzymes détoxifiantes des insectes, notamment les monooxygénases de type P450, ralentissant ainsi la dégradation des pyréthriinoïdes et prolongeant leur action toxique. L'utilisation combinée de PBO et de pyréthriinoïdes optimise l'efficacité insecticide de ces derniers, notamment contre les populations résistantes, en prolongeant leur action et en augmentant leur toxicité. C'est d'ailleurs en raison de cet effet potentialisant qu'il entre dans la composition de nombreux produits phytopharmaceutiques dont la substance active principale est une pyréthrine

de synthèse. Par son activité synergique, il induit une activité insecticide, et donc une toxicité pour l'entomofaune non-cible plus importante (de 10 à 1 000 fois selon les études) pour les substances de cette famille (Thompson 2012).

Ainsi, sa grande fréquence d'occurrence dans les cires commerciales, au côté des pyréthriinoïdes également fortement représentés, peut se révéler hautement toxique pour les abeilles. Il n'est actuellement pas possible de caractériser le risque toxique d'une cire contenant à la fois, d'une part, des résidus d'une ou plusieurs substances pyréthriinoïdes (dont par exemple, le tau-fluvalinate et la fluméthrine, acaricides apicoles autorisés en Europe) et, d'autre part, du PBO, même à faible teneur. Les effets synergisants ou potentialisants entre substances sont particulièrement complexes à appréhender, et ne peuvent être pris en compte, faute d'une modélisation adaptée. Il serait cependant nécessaire de disposer de méthodes adaptées pour mieux appréhender son impact dans l'évaluation de la toxicité des cires.

Le PBO est fréquemment détecté dans une proportion élevée de cires (environ 1/3 des cires de l'étude Cimeqa, et 2/3 de l'étude CRD). Si la toxicité intrinsèque de cette substance ne semble pas poser de problème particulier, son rôle de synergisant de l'activité des pyréthriinoïdes, interpelle et souligne les incertitudes liées à la problématique des synergies, non prises en compte dans les estimations de QR telles qu'elles ont été menées.

➤ Néonicotinoïdes

L'analyse des échantillons dans le cadre de ces recherches n'a donné lieu à aucune détection d'imidaclopride, d'acétamipride, de clothianidine, de thiaclopride ou de thiaméthoxam. Ainsi, bien que les DL_{50} de ces substances soient parfois très faibles (substances hautement toxiques pour les abeilles), le QR associé à ces substances est nul pour les deux études Cimeqa et CRD. Cependant, des teneurs en dessous de la limite de détection peuvent avoir des effets négatifs en raison de la toxicité très élevées de ces molécules (Atkins, Greywood, et MacDonald 1975).

➤ Propargite

Le calcul du QR pour le propargite présent dans les échantillons des deux études françaises, Cimeqa et CRD, confirme les résultats observés dans la partie état des lieux. Le QR moyen pour cette substance est plus élevé dans les échantillons de la CRD que dans ceux de l'étude Cimeqa (cf. Figure 64).

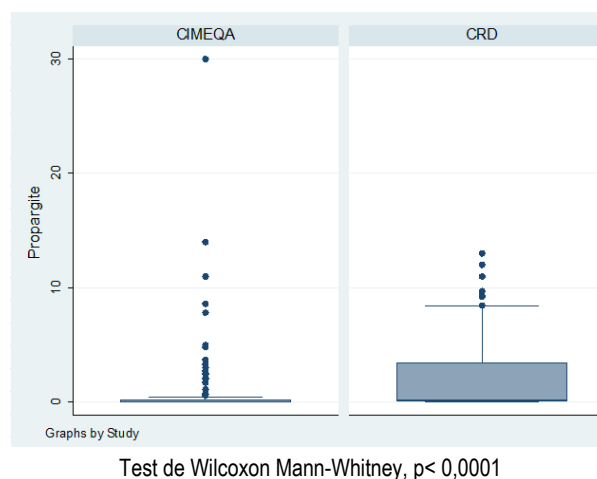


Figure 64 : QR du propargite dans les études Cimeqa et CRD

Sa DL₅₀ par contact étant de 47,9 µg/abeille (EFSA, OpenFoodTox), le propargite est considéré comme modérément toxique pour les abeilles. D'ailleurs, le QR médian de l'ensemble des échantillons des deux études est de 0,29. Il faut noter toutefois que, pour quelques échantillons, le QR du propargite dépasse tout de même le seuil de 250 (trois échantillons pour l'étude Cimeqa, et quatre pour l'étude CRD). Cette substance peut donc, malgré sa faible toxicité intrinsèque, représenter un risque chimique pour quelques cires, même si le phénomène reste marginal sur les données étudiées.

➤ Coumaphos

Sur l'ensemble du jeu de données, la médiane du QR du coumaphos est de 1,04⁸⁹ (0,64 pour Cimeqa, et 9,2 pour la CRD). Le QR du coumaphos est supérieur à 250 pour deux échantillons de cires seulement (tous deux appartenant à l'étude Cimeqa). Compte tenu des effets constatés du coumaphos à une telle teneur (cf. 5.3.1.1), ces cires sont indéniablement toxiques et susceptibles d'entraîner de la mortalité selon (Kast et Kilchenmann 2022).

5.4.5 Bilan quant au risque chimique des cires circulant en France

L'analyse des trois sources de données d'échantillons de cire en France (autocontrôles des ciriers, études Cimeqa et CRD) par les indicateurs de risque chimique QR et ETR met en évidence une moindre qualité pour les cires dont la provenance n'est pas française. Aucune cire issue de mélanges UE/hors UE ne présente une qualité acceptable pour un usage apicole selon les résultats de QR.

L'utilisation des indicateurs QR et ETR a permis de montrer des écarts de qualité entre les cires, en cohérence avec les pratiques des différentes catégories de fournisseurs et avec la réglementation et les pratiques (en cours au moment de la rédaction de ce rapport) des pays d'origine concernant les substances toxiques pour les abeilles. Les indicateurs de risque chimique sont plus favorables pour les cires issues de l'autorenouvellement. Pour les autres voies d'approvisionnement, les meilleurs indicateurs sont obtenus pour les cires provenant des groupements d'apiculteurs puis des ciriers, en comparaison des cires issues des enseignes spécialisées et générales. Néanmoins, pour les cires vendues par les ciriers et les enseignes, en plus de présenter une plus grande diversité de substances et à des teneurs très élevées (notamment pour le thymol), la fréquence d'occurrence de certaines d'entre elles interpelle, en particulier pour le PBO, un agent synergisant, qui a été retrouvé dans tous les échantillons des enseignes générales, même si les teneurs observées sont relativement faibles (proches de 0,5 mg/kg).

Le QR médian est également défavorable pour les cires de mélange, puisqu'il est 20 fois supérieur à celui des cires d'opercules (cf. Figure 56). De plus, les valeurs de QR calculées pour les échantillons de cires d'opercules se situent presque toutes en dessous du seuil de 250, considéré comme acceptable dans la littérature scientifique, et seules 13 % de ces cires présenteraient un risque chimique élevé (> 5 000) en raison de leur forte teneur en contaminants. À l'inverse, seuls 17 % des échantillons de cires de mélanges présentent un QR inférieur au seuil acceptable, tandis que 57 % d'entre elles présenteraient un risque élevé pour les abeilles, lié à leur teneur importante en substances contaminantes. Bien que de meilleure qualité, les cires d'opercules ne sont pas totalement exemptes de contamination, car tous les échantillons de cette catégorie contiennent au moins une substance contaminante. Néanmoins, la diversité des

⁸⁹ Les chiffres cités sont issus des feuilles de calculs du GT Cires de la base de données issue de l'étude CRD et Cimeqa.

molécules quantifiées dans ces cires est généralement moindre et elles y sont présentes à des teneurs plus faibles que dans les cires de mélange, ces dernières présentant des indicateurs de contamination significativement moins favorables.

Selon les indicateurs calculés (QR, ETR), qui leur sont tous favorables, les cires d'opercules doivent donc toujours être privilégiées par rapport aux cires de mélange.

L'analyse des résultats en identifiant le QR relatif des MV acarides apicoles présents dans les échantillons de cire rappelle l'importance du respect des bonnes pratiques d'application et de la posologie de ces médicaments. Ainsi, même si le thymol présente une DL_{50} assez élevée, ce qui en fait une substance intrinsèquement peu toxique pour les abeilles, les teneurs importantes auxquelles la molécule a été quantifiée dans plus de 80 % des échantillons de l'étude CRD montre que le thymol impacte la qualité toxicologique des cires analysées. La fluméthrine, compte tenu de sa toxicité intrinsèque forte, doit faire l'objet d'une attention particulière quant aux doses d'application, car elle peut être à l'origine d'une dégradation rapide de la qualité de la cire en cas de dépassement des doses autorisées, qui plus est, si elle est associée dans la cire à certains agents synergisants comme le PBO. D'un strict point de vue toxicologique ce qui ressort des analyses est que le retrait des résidus d'acaricides à usage apicole des cires étudiées n'aura qu'un impact limité sur l'amélioration de leur qualité. Il faut toutefois signaler que l'exposition régulière de *V. destructor* à ces substances acaricides de la cire favorise les résistances, on peut considérer que ces résidus participent qd même à favoriser la survie du plus dangereux parasite de l'abeille. La présence de substances PPP et biocides met l'accent sur le rôle des pyréthrinoïdes (famille à laquelle appartient la fluméthrine), substances les plus représentatives du risque chimique. Les cinq substances présentant les QR cumulés les plus élevés sont des pyréthrinoïdes pour les deux études Cimeqa et CRD. Il s'agit, par ordre décroissant, de la deltaméthrine, de la perméthrine, de la fluméthrine, de la cyperméthrine et enfin, pour la CRD, de l'acrinathrine et, pour l'étude Cimeqa, de la pyréthrine I. En raison des contaminations additionnelles par des PPP ou biocides de la famille des pyréthrinoïdes, qui plus est en cas de présence du PBO, synergisant de ces dernières pour leur activité insecticide, la toxicité des MV apicoles devient élevée. La grande fréquence d'occurrence du PBO dans les cires commerciales, au côté des pyréthrinoïdes également fortement représentés, doit être signalée compte tenu du risque chimique engendré par leur co-occurrence. Il n'est cependant pas possible, au moment de la rédaction de ce rapport, de caractériser le risque chimique d'une cire contenant à la fois, d'une part, des résidus d'une ou plusieurs substances pyréthrinoïdes (dont par exemple, le tau-fluvalinate et la fluméthrine, acaricides apicoles autorisés en Europe) et, d'autre part, des résidus du PBO, même à faible teneur.

5.4.6 Limites et incertitudes quant à l'évaluation du risque chimique des cires circulant en France

Les indicateurs de risque chimique (ETR et QR) sont de bons outils pour discriminer la qualité des cires appartenant à différentes catégories toxicologiques. Les écarts observés à l'aide de ces indicateurs sont notamment plus importants que ceux observés à l'aide de l'indicateur du nombre de substances par échantillon. Toutefois, les valeurs seuils de QR établies par Calatayud-Vernich et al. (2019) et Traynor et al. (2016), respectivement un seuil de 250 en dessous duquel une cire est de bonne qualité toxicologique et un seuil de 5 000 au-dessus duquel une cire présente un danger toxicologique, ont été fixées de manière empirique et non par une corrélation établie entre cires contaminées et conséquences, c'est-à-dire effets sur la santé, pour les abeilles et la colonie.

Pour l'ETR, le modèle est encore en cours de construction et n'est pas encore publié. Aucune valeur seuil n'a été définie permettant de classer les cires dans différentes catégories de qualité. Le calcul aboutit à une valeur située entre 1 (valeur entraînant 50 % de mortalité) et 0 correspondant à une absence de risque chimique.

L'intérêt de ces outils réside dans le classement des cires ainsi évaluées, en termes de danger toxicologique, mais ils ne constituent pas une évaluation du risque lié à la cire contaminée telle que voulue par cette expertise : le risque tel que défini par la méthode Afssa (2008) tient compte de l'évaluation des conséquences sur la santé, à l'échelle de l'individu et de la population.

6 Adulteration de la cire en France : émission, exposition et conséquences pour la santé des abeilles et de la colonie

L'enquête conduite par la BNEVP en 2016 pour la DGAI avait révélé l'utilisation d'auxiliaires technologiques interdits au cours du travail de la cire. Ces auxiliaires, correspondant notamment à des cires non apicoles (cires minérales, cires végétales, cires synthétiques, mais aussi acides gras de type palmitique ou stéarique), étaient incorporés aux cires d'origine apicole. Il avait été signalé que « l'ensemble des éléments de l'enquête corroborent les constats établis en Belgique, relatifs aux effets néfastes de l'adulteration des cires sur la santé de l'abeille ».

A l'instar de la méthode d'appréciation des risques mise en œuvre pour les substances chimiques contaminantes de la cire (Afssa, 2008), les experts ont rassemblé les données disponibles afin d'estimer le risque lié à la présence de substances adultérantes pour la santé des abeilles et de la colonie. Les probabilités d'émission, d'exposition, ainsi que les conséquences potentielles ont été analysées dans les chapitres suivants. Le schéma conceptuel synthétisant le processus d'évaluation est présenté en Figure 65 :

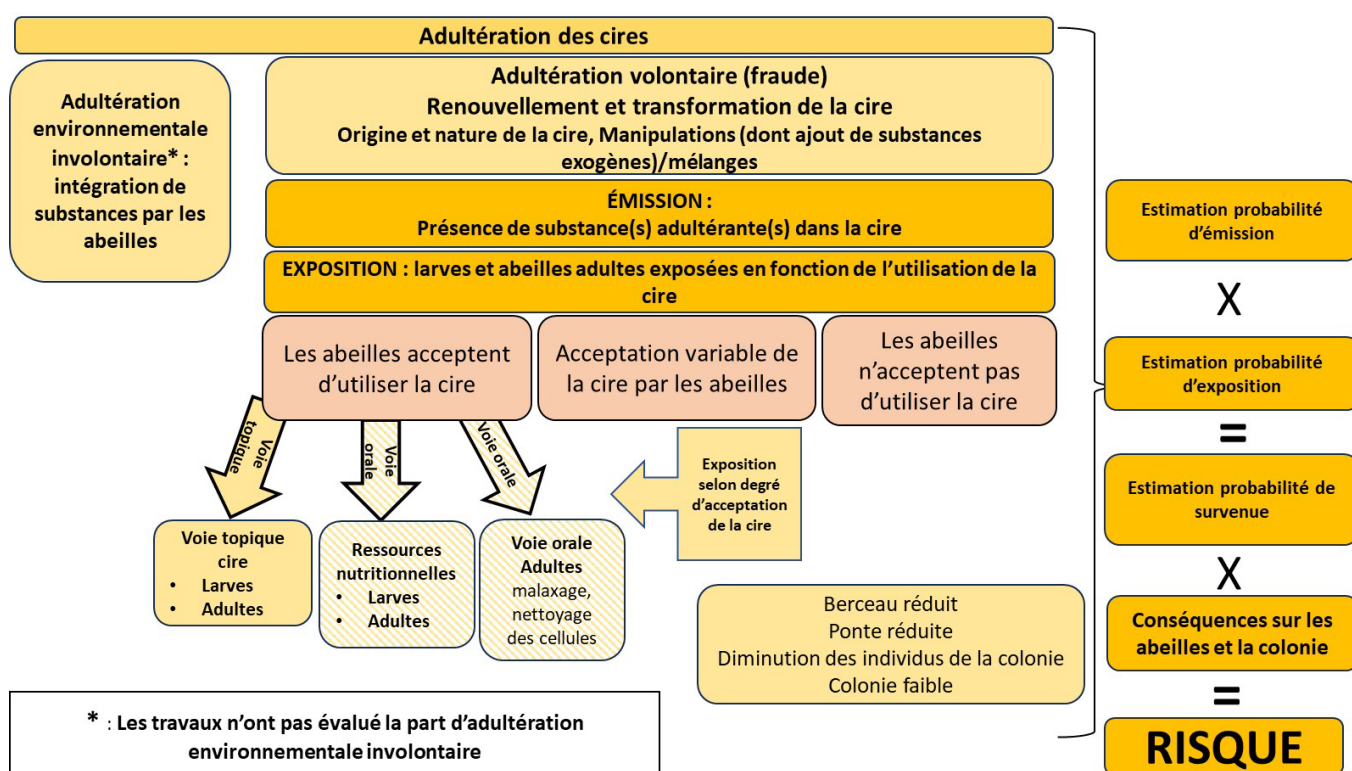


Figure 65 : Schéma conceptuel de l'évaluation des risques pour la santé des abeilles et de la colonie liés aux cires d'abeilles adultérées

6.1 État des lieux de l'adultération des cires

6.1.1 État des lieux bibliographique de l'adultération des cires

Les besoins de méthodes d'analyse de laboratoire, leur mise en place et leur évolution font l'objet de l'historique de l'adultération développée dans ce paragraphe. Ces méthodes sont ensuite détaillées dans le chapitre 6.1.2 ci-après.

L'adultération de la cire d'abeilles désigne la présence de substances étrangères à la cire d'abeilles (cf. Figure 66)

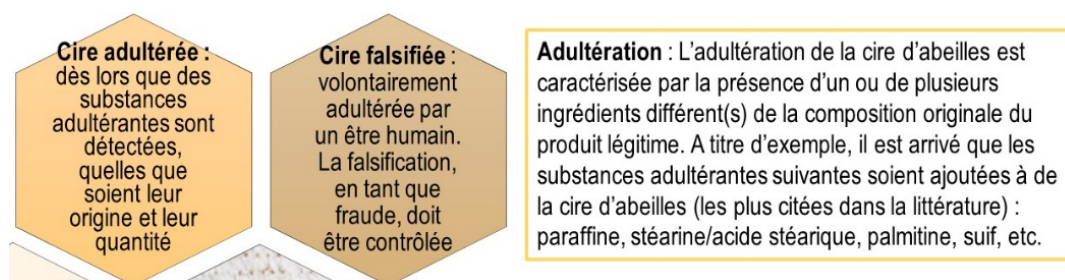


Figure 66 : Définitions : Cire adultérée ; cire falsifiée

Lorsque l'adultération est volontaire et correspond à un ajout, cette pratique vise souvent un gain économique sur un fondement frauduleux en incorporant des produits comme la paraffine, la stéarine/acide stéarique, des cires végétales, des cires synthétiques, la cire microcristalline, des huiles et graisses, du suif⁹⁰ ou des colorants. Cette adultération de la cire à usage apicole constitue un problème croissant pour la filière, en raison des risques possibles pour la santé des abeilles et de la non-conformité réglementaire de la cire ainsi modifiée, pouvant entraîner une perte de la qualité et/ou de labellisation (label AB, par exemple).

Dès 1973, Tulloch avait mis en évidence la présence de cires végétales, comme la cire de Carnauba, dans des échantillons de cire d'abeilles. Probablement parce qu'elles ne semblaient pas avoir de conséquences sur la santé des abeilles, ces pratiques sont restées peu étudiées jusqu'au début des années 2000. En 2005, Wallner signale pour la première fois des effets délétères sur le couvain développé sur des fondations de rayons contenant 50 % de paraffine. Cela a conduit au développement de méthodes analytiques pour détecter les adultérants. La même année en Espagne, Bernal et al. publiaient une étude sur la détection de l'adultération des cires à partir de leurs propriétés physico-chimiques. À partir de ces paramètres, les auteurs ont tenté d'expliquer la mauvaise acceptation (utilisation non optimale, à des degrés variables, pouvant aller jusqu'au rejet), par les abeilles de cires du commerce adultérées introduites dans des colonies. Leurs résultats montrent que ces cires présentaient des propriétés physico-chimiques anormales dans plus de 93 % des cas et ont permis d'identifier les caractéristiques des substances adultérantes (Bernal et al. 2005). Le fait que la présence de substances adultérantes soit à l'origine de la mauvaise acceptation a été confirmée par une autre méthode analytique, la chromatographie en phase gazeuse, qui a révélé une adultération probable avec de la paraffine (Jiménez et al. 2007). En Argentine, des analyses physico-chimiques ont révélé des anomalies dans 55,5 % des cires recyclées par les apiculteurs (n = 27) et 67 % des cires du commerce (n = 15), suggérant une possible adultération (Medici et al. 2015).

⁹⁰Suif : graisse d'animaux herbivores, composée principalement de stéarine et d'oléine.

Une autre étude réalisée en Espagne (Serra Bonvehí et Orantes Bermejo 2012), utilisant la chromatographie en phase gazeuse à haute température couplée à une détection par ionisation de flamme/spectrométrie de masse (HTGC-FID/MS⁹¹), a permis de détecter la présence d'hydrocarbures dans 37 % des 90 échantillons analysés à des taux allant de 5 % à 30 %. Cette méthode présentant des limites de détection de 5 % pour les hydrocarbures et de 1 % pour l'acide stéarique a également été appliquée au Portugal par Maia et Nunes (2013), montrant que 47 % des feuilles de cire du commerce (n = 33) étaient probablement adultérées.

La situation de la cire d'abeilles commercialisée en Europe a donc été qualifiée d'alarmante (Svečnjak et al. 2018). Svečnjak et al. (2015) ont mis au point une méthode analytique plus adaptée aux contrôles qualité de routine : la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier avec réflectance totale atténuée (FTIR-ATR⁹²). Rapide, fiable, économique et simple à utiliser, elle ne nécessite ni préparation des échantillons, ni grandes quantités de cire puisqu'un échantillon de 0,05 g est suffisant. Grâce à cette technique, l'EFSA a analysé 137 échantillons de cire d'abeilles provenant de 15 pays européens, révélant une adultération à la paraffine dans plus de 67 % des cires en provenance de la plupart des pays, tandis que l'acide stéarique n'a été détecté que dans les échantillons provenant de Belgique et des Pays-Bas (European Food Safety Authority (EFSA) 2020). Dans une étude plus large menée par Tanner et Lichtenberg-Kraag en 2019, 21,8 % des 358 échantillons analysés, dont la majorité provenait d'Allemagne, ont été identifiés comme adultérés. Les substances identifiées comprenaient la paraffine (10,9 %), l'acide stéarique (6,2 %), le suif (0,7 %) ou des mélanges d'adultérants (1,8 %). Bien que plus de la moitié (54,5 %) des cires adultérées contenaient moins de 5 % d'additifs, plus d'un quart dépassaient les 10 %.

La seule étude reposant sur un échantillonnage randomisé concerne la cire utilisée en Belgique (El Agrebi et al. 2021). Parmi les 98 échantillons de cire prélevés chez les apiculteurs, 9,2 % présentaient une adultération contre 33,3 % pour des cires issues du commerce (n = 9). Comme dans les études précédentes, les adultérants identifiés étaient la paraffine (12 à 78,8 %) et la stéarine ou l'acide stéarique (1,2 à 20,8 %). La répartition géographique des adultérations suggère des pratiques frauduleuses spécifiques à certaines régions ou liées à des importations de cires déjà adultérées.

Ces différentes enquêtes dressent un état des lieux préoccupant de la qualité des cires à usage apicole : une proportion significative de cires utilisées en Europe semble adultérée, parfois à des

⁹¹ La chromatographie en phase gazeuse (GC) permet de réaliser la séparation des composés d'un échantillon en fonction de leur poids moléculaire. La spectrométrie de masse (MS) sert à la détection et l'identification des composés en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z). Le détecteur à ionisation de flamme (FID) permet de détecter les composants séparés en fournissant des indications sur la détection des composés carbonés.

Les analyses GC-MS pour les solides sont réalisées soit par extraction au solvant solide/liquide soit par pyrolyse.

Les échantillons analysés par GC-MS sont séparés à l'état gazeux en fonction des diverses propriétés physiques et chimiques pour réaliser une analyse quantitative. L'équipement permet aussi l'identification de composants inconnus. <https://6-napse.com/equipements/analyse-gc-ms-gc-fid-chromatographie-gazeuse/>

⁹² La spectroscopie FTIR utilise l'énergie des infrarouges moyens modulés pour analyser les échantillons. La lumière infrarouge est absorbée à des fréquences spécifiques directement liées aux énergies vibratoires de liaison d'atome à atome au sein de la molécule. Lorsque l'énergie vibratoire de liaison et l'énergie de la lumière infrarouge moyenne sont équivalentes, la liaison peut absorber cette énergie. Différentes liaisons vibrent à différentes énergies dans une molécule et elles absorbent donc différentes longueurs d'onde du rayonnement IR. La position (fréquence) et l'intensité de ces bandes d'absorption individuelles contribuent au spectre global, en créant une empreinte caractéristique de la molécule.

L'ATR est une méthode d'échantillonnage qui tire profit des propriétés physiques de la lumière pour obtenir des informations sur la composition et la structure de l'échantillon analysé. L'ATR est l'une des technologies d'échantillonnage les plus couramment utilisées en spectroscopie FTIR. Cet usage généralisé s'explique par sa capacité à analyser des échantillons solides et liquides sans aucune préparation. Un avantage de poids qui simplifie la mesure de pratiquement toutes les substances. Le trajet optique de mesure est indépendant de l'épaisseur de l'échantillon. L'ATR est une méthode fondée sur le principe de la réflexion interne dans laquelle le trajet optique de mesure dépend de la profondeur de pénétration de l'énergie infrarouge dans l'échantillon. Le spectre infrarouge enregistré pour un échantillon solide d'une épaisseur de 100 microns ou de 100 mm sera donc essentiellement le même. Si un fluide ou une pâte est en contact avec la surface ATR, le spectre infrarouge de la partie liquide est enregistré. C'est précisément ce phénomène qui fait de la réflectance totale atténuée (ATR) une technologie de choix pour le suivi des réactions chimiques. https://www.mt.com/ch/fr/home/applications/L1_AutoChem_Applications/ftir-spectroscopy.html

niveaux très élevés (comme en Serbie où une adultération jusqu'à 85 % a été démontrée) (Ledjanac et al. 2024). Selon EFSA (2020), les adultérants les plus courants sont la paraffine et, dans une moindre mesure, la stéarine ou l'acide stéarique, la palmitine et le suif. La paraffine est l'adultérant le plus utilisé en raison de sa grande disponibilité et accessibilité, de son faible prix et de ses propriétés physico-chimiques qui la rendent idéale pour l'adjoindre à de la cire d'abeilles : chimiquement inerte, blanche ou incolore et inodore (Svečnjak et al. 2015).

En France, aucune étude publiée ne permet de dresser un état des lieux précis du degré d'adultération des cires utilisées par les apiculteurs. Toutefois, l'enquête administrative réalisée en 2016 par la BNEVP, dont les résultats ont été présentés lors du CNOPSAV apicole en 2018, a conclu à de fortes suspicions d'adultération intentionnelle par certains ciriers. Les substances en cause incluraient notamment des cires minérales (paraffines et microcristallines), des cires végétales (dont la cire de Sumac), des acides gras produits industriellement (acide stéarique, acide palmitique) ou des cires de type ester combinées avec des hydrocarbures minéraux (cires synthétiques). En outre, et au vu des résultats obtenus par différentes publications, il semble peu probable que la cire utilisée en France soit totalement exempte d'adultération. Les résultats des enquêtes de terrain françaises (cf. 6.1.3) constituent à ce jour les seules données représentatives. Le manque de critères de pureté clairement définis, l'absence de contrôles officiels de la qualité (authenticité) et les difficultés d'interprétation des méthodes analytiques (Svečnjak et al. 2021) rendent toutefois la détection des adultérations particulièrement difficile.

6.1.2 Méthodes de laboratoire pour la recherche d'adultération de la cire

Pour caractériser une cire d'abeilles en laboratoire, deux approches analytiques sont nécessaires :

- la première vise à vérifier sa pureté en évaluant ses propriétés physico-chimiques ;
- la seconde permet d'identifier sa composition en acides gras, alcools gras et hydrocarbures afin de détecter d'éventuels adultérants.

6.1.2.1 Méthodes d'analyse des paramètres physico-chimiques de la cire d'abeilles

Le contrôle de la cire d'abeilles repose à la fois sur des tests sensoriels (couleur, odeur, texture) et sur des analyses physico-chimiques telles que l'intervalle de fusion, l'indice d'acidité, l'indice de saponification, la densité et la solubilité. Les caractéristiques chimiques à examiner ainsi que les méthodes d'analyse utilisées pour s'assurer de la conformité de la cire sont précisées dans le Tableau 44 ci-dessous.

Tableau 44 : Méthodes de contrôle des caractéristiques physico-chimiques de la cire d'abeilles

Paramètre	Méthode de contrôle
Aspect, couleur : fragments ou plaques de couleur blanc jaunâtre (cire blanche) ou brun grisâtre (cire jaune) présentant une cassure au grain fin et non cristalline et dégageant une agréable odeur de miel	Examen visuel, observation de la couleur, test olfactif : - <u>couleur</u> : la cire est généralement de couleur jaune pâle à dorée. Une couleur plus foncée peut indiquer une cire de mauvaise qualité, ancienne ou contenant des impuretés ; - <u>odeur</u> : une cire de qualité dégage une odeur douce, légèrement sucrée et cireuse. Une odeur rance ou chimique peut suggérer une contamination ou une altération ; - <u>texture</u> : à température ambiante, la cire pure est souple et malléable. Une cire dure ou cassante peut être un signe d'adultération.
Intervalle de fusion : entre 62 et 65 °C	La mesure thermique peut être réalisée à l'aide d'un banc Kofler ou par calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Cette dernière technique permet de mesurer les transitions thermiques dans la cire et de détecter d'éventuelles anomalies liées à des adultérants, tels que les paraffines.
Densité : environ 0,96	Densité (définie comme le rapport masse/volume) : elle est déterminée en pesant un échantillon de cire, puis en mesurant le volume de la cire fondue à l'aide d'une éprouvette graduée.
Solubilité	Solubilité : insoluble dans l'eau, faiblement soluble dans l'alcool, très soluble dans le chloroforme et l'éther.
Indice d'acidité (mg KOH/g de cire) : 17 - 24	Quantité d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser 1 g de cire. L'indice d'acidité mesure la quantité d'acides libres dans la cire.
Indice de saponification (mg KOH/g de cire) : 87 - 104	Quantité de KOH nécessaire pour neutraliser 1 g de cire saponifiée par hydrolyse basique par exemple. L'indice de saponification mesure la quantité totale d'acides gras présents dans la cire sous forme libre ou estérifiée.
Indice d'ester : 70-80	L'indice d'ester est l'indice de saponification soustrait de l'indice d'acidité : quantité de KOH nécessaire pour neutraliser 1 g d'acides liés par des esters de cire.
Indice de peroxyde (mM H₂O₂/kg de cire) : pas plus de 5	Mesure de la quantité d'hydropéroxydes présents dans la cire, exprimée en milliéquivalents de peroxyde par kg d'échantillon.

Source des valeurs ou intervalles pour les différents critères : règlement (UE) n°231/2012 (<https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2012/231/oj>) ; Pharmacopée Européenne (cf. Tableau 4) pour l'indice d'ester

6.1.2.2 Méthodes d'analyse des substances adultérantes présentes dans la cire d'abeilles

Le test de l'extension du proboscis (organe des abeilles qui leur permet d'aspirer des liquides comme le nectar)⁹³ peut être utilisé pour détecter la présence de certains adultérants, comme la

⁹³ Le réflexe d'extension du proboscis (PER) est un comportement moteur : un réflexe entraîne l'extension du proboscis (organe des abeilles qui leur permet d'aspirer des liquides comme le nectar. Il est formé temporairement par l'assemblage des maxilles et du labium, créant un tube unique pour l'aspiration) lors de la stimulation des tarsi ou des palpes labiaux. Il s'agit d'une mesure quantitative de la probabilité d'extension du proboscis en réponse à une stimulation. Ce réflexe est étroitement associé à la prise alimentaire. Le PER peut être utilisé pour évaluer les réponses comportementales aux stimuli chimiques aversifs en mesurant la réduction du PER par rapport à un substrat sucré pur.

cire de Carnauba, en observant la réponse comportementale des abeilles exposées à des cires adultérées (Aquino, Abramson, et Payton 1999), sans pour autant identifier la ou les substances concernées. Cette méthode est moins précise et reste anecdotique comparée aux techniques instrumentales.

L'identification des substances adultérantes repose sur des analyses chimiques (cf. Tableau 45), ou, plus couramment, sur des techniques chromatographiques ou spectroscopiques, présentées ci-après.

Tableau 45 : Méthodes chimiques de détection des adultérations de la cire d'abeilles précisées dans les normes

Paramètre	Méthode de contrôle
Glycérol et autres polyols : pas plus de 0,5 % (exprimés en glycérol)	Méthode chimique basée sur la réaction avec le periodate de sodium, suivie de l'utilisation de la fuchsine décolorée. Le principe repose sur l'oxydation des polyols (comme le glycérol) par le periodate de sodium, suivie de la réduction de l'iode et de la coloration avec la fuchsine décolorée. L'intensité de la couleur permet d'estimer la teneur en glycérol et autres polyols dans la cire d'abeilles.
Cérésine, paraffines et certaines autres cires : absence	Introduire 3 g de cire dans une fiole de 100 mL, ajouter 30 mL d'une solution à 4 % (m/v) de KOH dans de l'éthanol exempt d'aldéhydes et maintenir à ébullition douce sous réfrigérant à reflux pendant 2 heures. Retirer le réfrigérant et introduire immédiatement un thermomètre. Placer la fiole dans de l'eau à 80°C et laisser refroidir en faisant constamment tourner la solution. Il ne se forme aucun précipité tant que la température n'atteint pas 65°C, mais la solution peut être opalescente.
Graisses, cire japonaise, résines et savons : absence	Porter 1 g de cire à ébullition pendant 30 minutes dans 35 mL d'une solution à 1/7 d'hydroxyde de sodium (NaOH), maintenir le volume par apport occasionnel d'eau et refroidir le mélange. Il y a séparation de la cire, le liquide restant limpide. Filtrer le mélange froid et acidifier le filtrat à l'aide d'acide chlorhydrique (HCl). Aucun précipité n'apparaît.

Sources : règlement (UE) n°231/2012 (<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:083:0001:0295:FR:PDF>) ; Beeswax - Food and Agriculture Organization (https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monograph1/Additive-051.pdf)

➤ **Les techniques chromatographiques**

La chromatographie en phase gazeuse (GC) couplée à différents détecteurs (FID ou MS)⁹⁴ est la méthode de référence pour analyser la composition de la cire. Les techniques GC-FID et GC-MS sont complémentaires : la première est utilisée pour la quantification des composés majeurs de la cire (hydrocarbures, acides gras, alcools gras), tandis que la seconde permet d'identifier les composés par leurs spectres de masse (Svečnjak, Chesson, et al. 2019) :

- **les hydrocarbures (alcane, alcène et diène)** sont analysés par GC-MS après purification de l'échantillon sur colonne SPE⁹⁵ contenant une phase d'oxyde d'aluminium. La préparation de l'échantillon consiste à solubiliser 0,05 g de cire dans 7,5 mL d'heptane et à chauffer à 50°C puis à purifier l'extrait sur cartouche SPE (Alumina-N, 1 g, 6 mL). L'extrait obtenu est injecté en GC-MS sur une colonne capillaire apolaire type DB-5HT (20 m x 0,18 mm x 0,18 µm) ;

⁹⁴ FID : détecteur à ionisation de flamme; MS : détecteur à spectrométrie de masse

⁹⁵ SPE : Solid Phase Extraction

- la détection des **composés organiques volatils** repose sur la GC-FID. La préparation de l'échantillon consiste à solubiliser 3 mg de cire dans 4 mL de chloroforme. L'analyse de l'extrait se fait ensuite sur une colonne capillaire apolaire type DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) ;
- **les acides gras (acides palmitique, oléique et stéarique) et les alcools gras (le triacontanol, par exemple)**, majoritairement présents dans la cire, sont identifiés par GC-MS et quantifiés par GC-FID. Dans la cire, les acides gras sont présents sous forme libre ou estérifiée avec des alcools gras en monoesters, principalement les palmitates. Les alcools gras sont principalement présents sous forme de monoesters et en faible quantité sous forme libre. La méthode de préparation consiste en l'estérification avec le méthanol des groupements carboxyles des acides gras, suivie d'une acétylation des groupements hydroxyles des alcools gras et autres acides gras hydroxylés. La cire (30 mg) est solubilisée dans 4 mL de chloroforme. L'extrait subit ensuite une dérivation : 2 mL de méthanol et 2 mL de BF₃ à 14 % dans le méthanol sont ajoutés à l'extrait. Après un chauffage à 90°C pendant 1 heure, 2 mL d'anhydride acétique et 0,2 mL de pyridine sont ajoutés. Après 2 heures de chauffage à 90°C, 2 mL d'eau sont ajoutés. L'extrait est ensuite centrifugé pour éliminer la phase supérieure aqueuse. Cette dernière étape avec l'eau et la centrifugation est répétée deux fois. Puis l'extrait est injecté en GC-MS (analyse qualitative) et en GC-FID (analyse quantitative) en utilisant une colonne capillaire type Supelcowax® 10 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm).

➤ Les techniques spectroscopiques

Les techniques spectroscopiques, notamment l'infrarouge (IR), sont utiles pour l'analyse et l'identification de nombreux composés dans diverses matrices organiques. La technique FTIR-ATR (*Fourier Transform Infrared - Attenuated Total Reflectance*) permet de détecter les adultérants dans la cire (Svečnjak et al. 2015). L'avantage de ce couplage est l'absence de préparation d'échantillon, la cire (prise d'essai inférieure à 0,5 g) étant analysée telle quelle, directement. Le spectre caractéristique de la cire d'*A. mellifera* est dominé par les caractéristiques spectrales dues aux esters (principalement des monoesters), aux acides gras libres et aux hydrocarbures.

6.1.2.3 Comment identifier une cire adultérée

Pour évaluer la qualité et la pureté d'une cire, deux approches sont complémentaires :

- la première approche consiste à mesurer certains paramètres physico-chimiques de la cire (critères : point de fusion, indice d'acide, indice d'ester, indice de saponification) et à comparer les résultats aux normes définies par la Pharmacopée Européenne. Lorsque les valeurs mesurées ne sont pas conformes à ces normes, la cire peut être considérée comme potentiellement adultérée mais cela ne suffit pas à en faire la preuve. Cette approche, seule, ne permet pas d'identifier et de quantifier le (ou les) adultérant(s) présent(s) dans la cire. Il est aussi possible que certaines cires contenant de faibles teneurs en adultérants aient des paramètres physicochimiques conformes aux valeurs de la Pharmacopée Européenne ;
- la seconde approche, complémentaire de la première, consiste à rechercher dans la cire la présence de substances adultérantes à l'aide de méthodes chromatographiques couplées à des méthodes spectrométriques. Toutefois, certaines substances utilisées pour adultérer la cire sont aussi présentes naturellement dans celle-ci. C'est notamment

le cas de l'acide palmitique, de l'acide oléique et de l'acide stéarique. Il est indispensable de connaître les teneurs naturelles des acides gras contenus dans la cire, dans la mesure où certains de ces acides entrent dans la composition d'adultérants : l'acide oléique entre par exemple dans la composition du suif de bœuf et l'acide stéarique et l'acide palmitique entrent dans la composition de la stéarine (triglycéride formé à partir d'une molécule de glycérol estérifié avec trois molécules d'acide stéarique - tristéarine - ou de deux molécules d'acide stéarique et d'une molécule d'acide palmitique). Ainsi, pour interpréter un résultat de recherche de stéarine, il est indispensable de connaître les teneurs naturelles des deux acides (palmitique et stéarique) dans la cire afin d'identifier les situations correspondant à une adultération ;

- il n'existe aucune méthode permettant de détecter à elle seule l'ensemble des adultérants, y compris parmi les méthodes avancées de type chromatographique ou spectrométrique. Il est donc nécessaire de coupler plusieurs méthodes entre-elles afin d'identifier l'ensemble des substances adultérantes présentes dans un échantillon ;
- en fonction des adultérants à rechercher, il s'agira d'adapter les méthodes à mettre en œuvre.

Un inventaire des méthodes analytiques physico-chimiques classiques et des techniques instrumentales, et leur capacité à détecter l'adultération de la cire d'abeilles a été établi récemment (Svečnjak et al. 2021) (cf. Annexe 8).

6.1.2.4 Limites et incertitudes des analyses de laboratoire pour la détection de l'adultération

Peu de laboratoires travaillent sur l'identification des adultérants dans la cire d'abeilles et, au moment de la rédaction de ce rapport, aucun essai inter-laboratoires n'a été organisé sur l'analyse des substances adultérantes dans cette matrice. Il n'existe pas de méthode de référence quant aux analyses chromatographiques ou spectrométriques à mettre en œuvre pour la détection, l'identification et la quantification des adultérants dans la cire d'abeilles. La Commission européenne, en 2024, a émis une demande visant à valider une méthode de référence (GC) de détection de substances adultérantes (paraffine, stéarine/acide stéarique) par un essai interlaboratoires.

Aucune norme ne fixe de seuil de référence pour les adultérants susceptibles d'être utilisés, ni la composition naturelle de la cire d'abeilles en matière d'acides et d'alcools gras. Selon chaque laboratoire, les incertitudes de mesure sont directement indiquées dans le rapport d'analyse ou bien le sont après demande du client.

La cire peut être adultérée sans toutefois présenter des caractéristiques physico-chimiques modifiées par rapport aux intervalles de valeurs fixés par la Pharmacopée Européenne. Par exemple, pour que l'indice d'acide présente une valeur hors de l'intervalle de valeurs fixé par la Pharmacopée Européenne, une teneur en acide stéarique supérieure à 4 % est nécessaire. Autre exemple, une cire adultérée avec des teneurs en paraffine inférieures à 5 % présente un indice d'ester conforme aux valeurs de la Pharmacopée Européenne.

Certaines méthodes d'analyses chromatographiques ne permettent pas de détecter l'acide stéarique lorsqu'il est estérifié sous forme de tristéarine. Une étape de saponification est nécessaire pendant le traitement des échantillons afin de libérer les acides gras estérifiés.

Les traitements thermiques (notamment ceux utilisant des températures supérieures à 100°C pour éliminer certains agents pathogènes tels que *Paenibacillus larvae*) peuvent altérer les propriétés physico-chimiques de la cire d'abeilles. Ces modifications peuvent affecter la fiabilité des résultats analytiques.

6.1.3 État des lieux de l'adultération des cires en France : résultats des enquêtes conduites

Comme indiqué dans le chapitre 2.1.2, les propriétés physico-chimiques de la cire d'abeilles ainsi que sa composition en hydrocarbures, acides, alcools sont évaluées pour en révéler l'éventuelle adultération. Les propriétés physico-chimiques d'une cire pure sont définies par la Pharmacopée Européenne (Ph. Eu. 11.0 2528 Cire D'abeille Blanche (01/2008) et Ph. Eu. 11.0 2529 Cire D'abeille Jaune (01/2008)) et regroupent différents critères (cf. Tableau 4, chapitres 2.1.2 et 2.2.2), notamment :

- point (intervalle) de fusion / point de goutte (°C) : 61-66 ;
- densité : 0,96 environ ;
- indice d'acidité (mg KOH/g) : 17 - 24 ;
- indice de saponification (mg KOH/g) : 87-104 ;
- indice d'ester (mg KOH/g) : 70 - 80.

La composition de la cire d'abeilles est complexe, d'autant que des variations quantitatives de certains de ses composants peuvent être observées au fur et à mesure de la réutilisation de la cire par les abeilles ou par les apiculteurs, par une accumulation de cycles de fonte pour son recyclage. La Pharmacopée Européenne indique que la cire naturelle est exempte de cérésine, paraffines et autres cires, de graisses, de cire japonaise, résines, savons. Mais il n'existe aucune référence normative quant aux critères de composition d'une cire d'abeilles pure, s'agissant des quantités d'acides et d'alcools gras ou d'hydrocarbures. Il est alors nécessaire de se tourner vers la littérature pour déterminer des intervalles caractéristiques de ces paramètres. Par exemple, pour le pourcentage d'hydrocarbures⁹⁶, selon les références bibliographiques prises en compte, les intervalles sont différents (bien que l'un soit inclus dans l'autre) : [12,3 % – 17,8 %] pour Waś, Szczęsna, et Rybak-Chmielewska (2015) et [13,8 % et 16,7 %] (Tulloch 1973; 1980).

6.1.3.1 État des lieux de l'adultération des cires provenant des données d'autocontrôles fournis par certains ciriers français

Les données d'autocontrôles partagées par cinq ciriers et transmises à l'Anses comprenaient 266 rapports d'analyses d'échantillons de cires effectuées entre 2016 et 2022 pour la détection de l'adultération. Étant donné l'hétérogénéité des paramètres mesurés (selon les ciriers, les laboratoires, les périodes), le nombre d'échantillons qui a pu être pris en compte est précisé pour chaque type d'analyse. Les motifs pour lesquels les échantillons ont été analysés dans le cadre de ces contrôles sont inconnus. Les résultats de cette étude ne sont pas généralisables ni extrapolables.

En l'absence de données normatives, dans une première approche, les valeurs indicatives d'une cire vierge d'adultération proposées par la Pharmacopée Européenne d'une part et la littérature d'autre part (Waś, Szczęsna, et Rybak-Chmielewska 2015; Svečnjak et al. 2021) ont été utilisées à titre de comparaison.

Les paramètres suivants ont été analysés sur la base des informations disponibles :

- pour les caractéristiques physico-chimiques : détermination du point de fusion ;
- pour la composition de la cire : détection de substances adultérantes ; pourcentage total d'hydrocarbures.

⁹⁶ Un hydrocarbure (HC) est un composé organique constitué exclusivement d'atomes de carbone (C) et d'hydrogène (H). Sa formule brute est de la forme : C_nH_m

En Annexe 9 figurent les analyses physico-chimiques complémentaires, réalisées à la demande des ciriers, qui n'ont pas trouvé d'analogie avec les deux autres études de terrain françaises Cimeqa et CRD présentées ci-après :

- indice de saponification ;
- indice d'acidité ;
- indice d'ester ;
- rapport ester/acide.

➤ **Caractéristiques physico-chimiques : analyse du point de fusion**

Au total, 53 données sur les 266 analyses d'échantillons dans le cadre d'autocontrôles pour l'adultération étaient relatives au point de fusion de la cire d'abeilles (cf. Figure 67) :

- si l'intervalle de valeurs défini par la Pharmacopée Européenne pour le point de fusion, soit 61-66°C, est pris en considération, six valeurs seulement sur 53 se situent en dehors de l'intervalle (en l'occurrence, sont supérieures à 66°C). Donc 47 échantillons sur les 53 testés, soit plus de 88 %, ont obtenu des résultats conformes pour le point de fusion ;
- si un autre intervalle est pris en compte, comme celui établi par Svečnjak et al. (2021), soit 61-65 °C, alors 31 échantillons des 53 analysés, soit 58,5 %, ont une valeur de point de fusion se situant en dehors de l'intervalle. Dans ce cas, seuls 22 échantillons de cires de ce jeu de données se situaient dans la fourchette de valeurs établie par les auteurs.

Il n'existe aucun échantillon avec un point de fusion inférieur au seuil minimum de température.

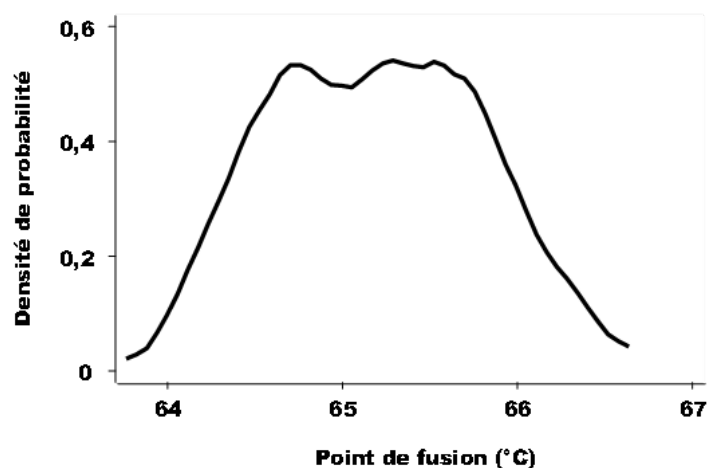
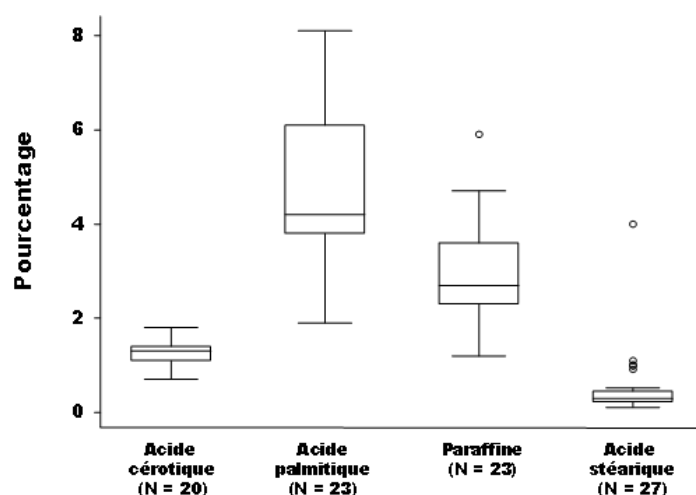


Figure 67 : Densité de probabilité estimée en fonction du point de fusion de la cire d'abeilles (source : données d'autocontrôles réalisés par les ciriers en France)

➤ **Composition de la cire : détection d'adultérants**

Des données concernant la recherche de quatre adultérants étaient disponibles dans les analyses transmises par les ciriers : acide cérotique (n = 20), acide palmitique (n = 23), acide stéarique (n = 27) et paraffine (n = 23) (cf. Figure 68).



Test de Kruskal-Wallis ; $\chi^2 = 74,7$; $p = 0,0001$. En prenant le pourcentage d'adultération de l'acide cérotique comme référence, les pourcentages d'acide palmitique et de paraffine sont significativement plus élevés (régression quantile ; $p < 0,0001$) et celui de l'acide stéarique significativement plus faible (régression quantile ; $p = 0,002$)

Figure 68 : Pourcentage d'adultérant retrouvé dans la cire d'abeilles analysée dans le cadre des autocontrôles réalisés par les ciriers en France

De manière générale, le pourcentage d'adultérants retrouvé est inférieur à 10 %. Dans cinq cas (sur 23), une co-adultération (acide palmitique et paraffine) a été détectée. Ces autocontrôles ont permis la détection de l'acide cérotique (médiane de 1,3 %), l'acide palmitique (médiane de 4,2 %), la paraffine (médiane de 2,7 %) et l'acide stéarique (médiane de 0,29 %) (cf. Figure 68). Il existe une différence significative entre chaque type d'adultérant recherché.

➤ Composition de la cire : pourcentage d'hydrocarbures

Le pourcentage d'hydrocarbures est disponible pour 110 échantillons sur les 266 analyses d'échantillons dans le cadre d'autocontrôles pour l'adultération. La teneur totale en hydrocarbures trouvée dans les échantillons des autocontrôles révèle :

- pour neuf échantillons sur les 110, soit 8,2 % d'entre eux, un dépassement de la fourchette de valeurs identifiées par Waś, Szczęsna, et Rybak-Chmielewska (2015) comme étant acceptable : [12,3 % et 17,8 %], avec une valeur maximale de 23 % d'hydrocarbures (cf. Figure 69) ;
- pour 39 échantillons sur les 110, soit 35,5 % des échantillons, un dépassement de la fourchette de valeurs définies par Tulloch et Hoffman 1973 comme acceptables pour la cire d'abeilles [13,8 % et 16,7 %].

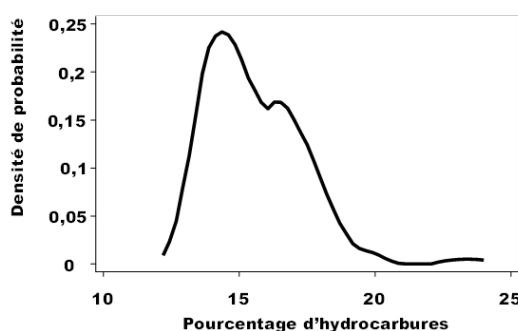


Figure 69 : Densité de probabilité estimée en fonction du pourcentage d'hydrocarbures retrouvés dans la cire d'abeilles

Bilan des analyses de recherche d'adultération réalisées dans le cadre des autocontrôles des ciriers

Les analyses du jeu de données issues des autocontrôles réalisés par les ciriers et transmises à l'Anses, mettent en avant le fait que les ciriers utilisent le paramètre de pourcentage d'hydrocarbures pour lequel aucune norme n'est définie, à l'exception de l'absence d'hydrocarbures de paraffine qui constitue encore une autre analyse. L'adultération de certaines cires est fortement suspectée sans pouvoir être avérée en raison des analyses mises en œuvre. En effet, l'analyse d'un seul paramètre physico-chimique, même s'il représente un élément de suspicion, ne permet pas de confirmer une adultération. Il est nécessaire de réaliser des analyses chromatographiques et spectrométriques afin d'identifier et de quantifier les éventuels adultérants présents. En outre, il n'existe pas de norme ni de seuil pour qualifier une cire d'adultérée ou non. D'après Svečnjak et al. (2021), pour une détection et une quantification fiable d'un adultérant, il est recommandé de compléter au moins deux méthodes d'analyse physico-chimiques par des méthodes analytiques instrumentales telles que GC-MS, HTGC-FID(MS) et/ou FTIR-ATR⁹⁷. Ces dernières méthodes permettent également d'élargir le panel des adultérants recherchés. Ces différentes initiatives montrent qu'un guide pour un plan d'échantillonnage, la préparation des échantillons, la réalisation des analyses de laboratoire pour la recherche d'adultérants est nécessaire et permettrait d'homogénéiser les pratiques.

6.1.3.2 État des lieux de l'adultération des cires provenant des apiculteurs professionnels : étude Cimeqa

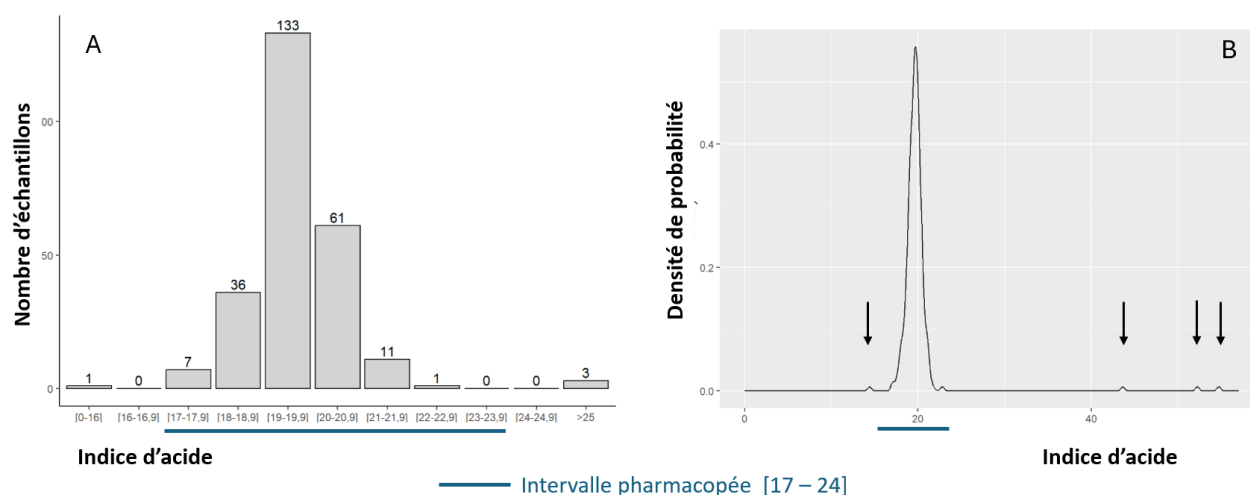
Pour rappel, l'étude Cimeqa⁹⁸ a été conduite auprès des apiculteurs professionnels français, entre 2021 et 2023, afin de réaliser l'état des lieux de la qualité et la pureté de leurs cires. Un total de 345 échantillons a été collecté auprès d'apiculteurs, pour la plupart autosuffisants en cire sur leur exploitation (70,7 %). L'achat de cire dans le commerce n'est un recours que pour une faible partie d'entre eux (15,7 %).

➤ Caractéristiques physico-chimiques : indice d'acidité

L'indice d'acide a été déterminé par le laboratoire Céralyse pour 253 échantillons de cire. Les valeurs obtenues oscillent entre 14,4 et 54,7 mg de KOH/g. Plus de la moitié des échantillons ont une valeur d'indice d'acide comprise entre 19 et 20 mg de KOH/g et près d'un quart ont une valeur d'indice d'acide comprise entre 20 et 21 mg de KOH/g (cf. Figure 70).

⁹⁷ GC-MS, *Gas Chromatography – Mass Spectrometry*; - chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse ; HTGC-FID(MS), *High-Temperature GC with Flame Ionization Detection* (HTGC-FID), - chromatographie en phase gazeuse à haute température avec détection par ionisation de flamme/spectrométrie de masse éventuellement complétée par MS; et FTIR-ATR, *Fourier Transform infrared spectroscopy-attenuated total reflectance* - spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier - réflectance totale atténuée.

⁹⁸ Pour Cires – Méthodes d'évaluation de leur Qualité pour l'Apiculture, piloté par l'ITSAP-Institut de l'abeille. Lauréat de l'appel à projet FranceAgrimer Expérimentation (2021-2023), il réunit les associations de développement apicole de six régions de France (ADA).



A. Répartition des échantillons représentée par un diagramme en bâton. Les effectifs correspondant à chaque catégorie sont indiqués au-dessus des barres. **B.** Densité de probabilité estimée pour l'indice d'acide. Les flèches indiquent la localisation des échantillons pour lesquels la valeur d'indice d'acide est située en dehors de l'intervalle de la Pharmacopée Européenne. L'intervalle dans lequel cet indice est considéré comme normal dans la Pharmacopée Européenne est représenté par un trait épais, sous les axes des abscisses (A et B).

Figure 70 : Indice d'acide (mg de KOH/g de cire) mesuré sur 253 échantillons de cires de l'étude Cimeqa

Quatre échantillons (1,6 %) sur les 253 analysés présentent des valeurs d'indice d'acide qui n'appartiennent pas à l'intervalle de valeurs fixé par la Pharmacopée Européenne (17 à 24 mg de KOH/g) (cf. Figure 70). Après analyse de leur contenu en adultérants (cf. analyse de composition ci-dessous) deux profils différents apparaissent :

- deux échantillons sur les quatre présentent des teneurs élevées en hydrocarbures de paraffine et en acides gras : (i) un échantillon de cire présente un indice d'acide de 52,2 mg de KOH/g et contient 16,9 % d'hydrocarbure de paraffine, 9,2 % d'acide palmitique, 0,2 % d'acide oléique et 6,2 % d'acide stéarique, (ii) un autre échantillon de cire présente un indice d'acide de 54,7 mg de KOH/g et contient 29,5 % d'hydrocarbure de paraffine, 22,3 % d'acide palmitique, 0,2 % d'acide oléique et 9,5 % d'acide stéarique ;
- deux autres échantillons présentent de faibles teneurs en hydrocarbures de paraffine et en acides gras et des valeurs d'indice d'acide sortant de l'intervalle de valeurs de la Pharmacopée Européenne : (i) l'échantillon de cire dont l'indice d'acide est de 14,4 mg de KOH/g contient 0,2 % d'hydrocarbure de paraffine, 1,2 % d'acide palmitique, et 0,3 % d'acide oléique et (ii) l'échantillon de cire dont l'indice d'acide est de 43,6 mg de KOH/g contient 0,3 % d'hydrocarbure de paraffine, 0,4 % d'acide palmitique, et 0,2 % d'acide oléique.

D'après Svečnjak, Jović et al. (2019), il existe une relation négative entre les teneurs en hydrocarbures de paraffine et l'indice acide. Pour les deux échantillons qui comportent une forte teneur en composés adultérants, les résultats obtenus montrent une relation contraire : en présence de fortes teneurs en hydrocarbure de paraffine, une augmentation des valeurs d'indice d'acide est constatée. Cette augmentation semble donc davantage influencée par les teneurs en acide gras libres présents dans la cire, en particulier l'acide palmitique et/ou l'acide stéarique.

Pour les deux autres échantillons qui comportent une faible teneur en composés adultérants, les résultats obtenus interrogent car il ne semble pas y avoir de lien entre les valeurs d'indice d'acide et les teneurs en hydrocarbures de paraffine et/ou d'acides gras : d'abord parce que ces derniers présentent des teneurs relativement faibles retrouvées pour d'autres échantillons dont les valeurs d'indice d'acides sont conformes à ceux de la Pharmacopée Européenne, mais aussi parce que les valeurs d'indice d'acide évoluent dans un sens opposé, l'un étant en dessous des valeurs

normales et l'autre très au-dessus. Par conséquent, il est possible que ces deux échantillons de cires soient adultérés par d'autres composés que ceux recherchés dans les analyses et dont les propriétés physicochimiques influencent l'acide de la cire.

➤ **Composition de la cire : détection d'adultérants**

Acides gras (acide palmitique, stéarine/acide stéarique, acide oléique)

La référence de Tulloch (1973) a permis d'établir les valeurs maximales de teneurs en acide palmitique (C16), oléique (C18) et stéarique (C18) de la cire naturelle et les seuils à partir desquels leur présence peut être évocatrice d'un ajout volontaire de ces acides gras. L'une de ces substances est considérée comme un adultérant lorsque sa concentration dépasse sa valeur seuil respective (0,87 g d'acide palmitique pour 100 g de cire ; 0,495 g d'acide stéarique pour 100 g de cire ; 0,495 g d'acide oléique pour 100 g de cire). (Tulloch 1973) ; (Tableau 5). La détection d'acides gras au-delà de ces seuils peut être évocatrice d'un ajout volontaire de ces acides gras. Deux acides gras, l'acide palmitique et l'acide stéarique, ont été retrouvés dans des proportions pouvant parfois dépasser les valeurs maximales décrites dans la littérature (Tulloch 1973). D'après les résultats d'analyses (cf. Tableau 46), ces acides sont régulièrement retrouvés dans la cire : pour 2,9 % des 345 échantillons, l'acide palmitique présente des teneurs maximales supérieures au seuil naturel et l'acide stéarique est moins fréquemment retrouvé : la proportion d'acide stéarique était supérieure à celle attendue pour 1,2 % des échantillons analysés. La teneur en acide oléique n'est supérieure à la valeur seuil établie (0,495 g/100 g) que dans un seul échantillon, mais à une teneur très proche du seuil (0,5 g/100 g). La présence de faibles teneurs d'acides palmitique et stéarique évoque un historique de cires adultérées puis mélangées et réutilisées (recyclage) et non d'une adjonction récente de stéarine/acide stéarique car lorsque celle-ci est utilisée pour falsifier la cire d'abeilles, elle est généralement employée à des teneurs supérieures à 10 % de cire (Communication C. Vidau).

Hydrocarbures de paraffine

La cire naturelle ne contient pas d'hydrocarbures de paraffine (Ph. Eu. 11.0 2528 Cire D'abeille Blanche (01/2008) et Ph. Eu. 11.0 2529 Cire D'abeille Jaune (01/2008)). Les 345 échantillons analysés révèlent la présence d'hydrocarbures de paraffine dans plus de la moitié des échantillons (56,2 %). Ils sont toutefois retrouvés dans de faibles proportions, et ne dépassent que rarement 1 % du poids des cires gaufrées (9,3 % des échantillons concernés). Toutefois, trois échantillons de cires gaufrées provenant du commerce et un échantillon provenant d'un achat à un apiculteur présentaient des quantités importantes de paraffine supérieures à 10 % et allant jusqu'à 29,5 %.

Tableau 46 : Résultats des analyses de recherche d'adultérants des 345 échantillons de l'étude Cimeqa

Substances	Origine	LQ (%)	Fréquence de quantification (%)	Teneur moyenne*	Teneur maximum*	Seuils calculés*	Fréquence de quantification (%)	Teneur moyenne*
Pour l'ensemble des échantillons							Pour les échantillons au-dessus des seuils	
acide oléique	Potentiellement naturelle	0,20	39,42	0,21	0,50	0,495	0,29 (n=1)	0,6
acide palmitique	Potentiellement naturelle	0,20	93,04	0,41	22,30	0,87	2,9 (n=10)	4,02
acide stéarique	Potentiellement naturelle	0,20	5,22	1,11	9,50	0,495	1,16 (n=4)	4,25
hydrocarbures de paraffine	Exogène	0,20	56,23	0,98	29,50	Pas concernés car d'origine exogène		

* : en g/100 g de cire.

En gris foncé : valeurs calculées pour les échantillons dont la valeur dépasse celle du seuil calculé.

Exogène : qui vient de l'extérieur, qui n'existe pas dans la cire d'abeilles naturelle.

Plusieurs approches analytiques basées sur la composition de la cire ou ses propriétés physico-chimiques ont été mises en œuvre pour déterminer la pureté de la cire d'abeilles des 345 échantillons collectés dans cette étude. Les techniques utilisées permettent de quantifier la présence de substances étrangères à la cire d'abeilles, telles que les hydrocarbures de paraffine, ainsi que celle de substances existant naturellement dans la cire dans des proportions connues mais au-delà desquelles leur présence traduit une adultération. **Le résultat le plus marquant est la présence d'hydrocarbures de paraffine dans plus de la moitié des échantillons** permettant de conclure que plus de la moitié des cires analysées sont adultérées, pour la plupart dans de faibles proportions (teneur moyenne 0,98 %) (cf. Tableau 46).

L'analyse des différents types de cires en fonction du type de substance(s) adultérante(s) a mis en évidence que la mise en commun et le gaufrage à façon de lots de cires présentant des volumes insuffisants pour être pris en charge par les ciriers, peut représenter une alternative à l'achat de cire dans le commerce. En effet, c'est dans cette dernière catégorie que les plus hautes teneurs en hydrocarbures de paraffine ont été identifiées.

6.1.3.3 État des lieux de l'adultération des cires provenant des apiculteurs de loisir : étude CRD

Pour rappel, la convention recherche développement (CRD) établie entre l'Anses et l'ITSAP avait pour objectif d'étudier la qualité des cires employées par les apiculteurs de loisir. Cette étude vient compléter l'état des lieux réalisé par l'étude Cimeqa, qui s'est principalement intéressée à la qualité des cires employées par les apiculteurs professionnels. Le rapport complet de cette étude de terrain (étude CRD) est accessible en rapport associé au présent rapport et mis à disposition sur le site de l'Anses.

➤ **Caractéristiques physico-chimiques : analyse du point de fusion**

L'ensemble des échantillons a été testé sur le banc Kofler afin de mesurer leur point de fusion. La gamme de valeurs mesurées se situe dans les valeurs de référence de la Pharmacopée

Européenne (61-66 °C) (FAO/OMS). La majorité des résultats d'analyse des échantillons (97 %) est comprise dans l'intervalle 62,9-63,9 °C (cf. Tableau 47). Aucune tendance significative n'a été mise en évidence entre la teneur en hydrocarbures de paraffine et la valeur du point de fusion ($p > 0,1$).

Tableau 47 : Bilan des mesures de point de fusion

Classes de points de fusion (°C)	Nombre d'échantillons
62,9 à 63,9	59
64 à 64,9	89
65 à 65,3	4

➤ **Composition de la cire : détection d'adultérants**

Acides gras

Les résultats de recherche d'adultération produits par le laboratoire pour l'analyse des 152 échantillons de cires révèlent que les acides palmitique, oléique et stéarique sont les plus couramment quantifiés, avec respectivement 93 %, 60,5 % et 7 % d'échantillons concernés. Les échantillons qui dépassent les seuils naturels calculés précédemment selon la référence de (Tulloch 1973) sont près de 10 % à contenir plus de 0,87 g d'acide palmitique pour 100 g de cire. De même, 8,55 % et 3,95 % des échantillons analysés contiennent respectivement plus de 0,495 g d'acides oléique et/ou stéarique. Excepté pour l'acide palmitique qui présente une moyenne et un maximum de concentration supérieur à 1 g d'acide pour 100 g de cire, les acides oléique et stéarique sont retrouvés à des teneurs inférieures ou proches du seuil (cf. Tableau 48).

Hydrocarbures de paraffine

Les hydrocarbures de paraffine (HP) étant nécessairement d'origine exogène, ils sont donc considérés comme des adultérants lorsque détectés et quantifiés dans les cires analysées. Leurs teneurs (exprimées en % ou en g pour 100 g de cire) ont servi d'indicateur d'adultération.

Dans le cas des hydrocarbures de paraffine, 84,21 % des échantillons en contiennent et sont donc adultérés, mais à une concentration moyenne inférieure à 1 g de cette substance pour 100 g de cire. Cependant, certains échantillons peuvent contenir jusqu'à 7,86 g d'hydrocarbures de paraffine pour 100 g de cire (cf. Tableau 48).

Tableau 48 : Résultats des analyses de recherche d'adultérants des 152 échantillons de l'étude CRD

Substances	Origine	LQ (%)	Fréquence de quantification (%)	Teneur moyenne*	Teneur maximum*	Seuils calculés*	Fréquence de quantification (%)	Teneur moyenne*
Pour l'ensemble des échantillons							Pour les échantillons au-dessus des seuils	
acide oléique	Potentiellement naturelle	0,20	60,53	0,339	0,88	0,495	8,55	0,569
acide palmitique	Potentiellement naturelle	0,20	93,4 2	0,551	2,44	0,87	9,87	1,511
acide stéarique	Potentiellement naturelle	0,20	7,24	0,613	1,08	0,495	3,95	0,884
hydrocarbures de paraffine	Exogène	0,20	84,21	0,957	7,86	Pas concernés car d'origine exogène		

* : en g/100g de cire.

En gris foncé : valeurs calculées pour les échantillons dont la valeur dépasse celle du seuil calculé.

Exogène : qui vient de l'extérieur, qui n'existe pas dans la cire d'abeilles naturelle.

Les cires vierges de toute adultération sont rares et ne représentent que 3,3 % des échantillons analysés pour la CRD, et ce, même en considérant des teneurs naturelles pour certains des composés réduisant le nombre d'échantillons réellement adultérés.

Type de cire

Les cires assorties du label AB contiennent moins fréquemment d'hydrocarbures de paraffine que les cires conventionnelles. Ces dernières contiennent en moyenne 0,83 % d'hydrocarbures de paraffine (médiane : 0,44 %) alors que les cires AB en contiennent en moyenne 0,17 % (médiane : 0,0 %). La proportion maximale d'hydrocarbures de paraffine retrouvés dans la cire est de 7,9 %.

Nature de la cire

Les cires d'opercules contiennent en moyenne 0,51 % d'hydrocarbures de paraffine (médiane : 0,23 %) et les cires produites à partir de mélanges en contiennent en moyenne 0,93 % (médiane : 0,53 %). Malgré cette différence en faveur de la cire issue d'opercules, certains échantillons de cette catégorie contenaient jusqu'à 7,9 % d'hydrocarbures de paraffine.

Origine géographique de la cire

Enfin, les cires françaises se distinguent significativement par des teneurs médianes en hydrocarbures de paraffine (0,31) inférieures à celles mesurées dans les cires provenant d'autres pays (0,80) (Test de Wilcoxon Mann-Whitney, $p < 0,0001$).

6.1.4 Discussion sur l'état des lieux de l'adultération des cires françaises

Tableau 49 : Récapitulatif des recherches d'adultérants dans les échantillons des études de terrain françaises

Substances	Fréquence de quantification (%)		Teneur moyenne*		Teneur maximum*		Seuils *	Fréquence de quantification (%)		Teneur moyenne*		Teneur maximum*	
Pour l'ensemble des échantillons								Pour les échantillons au-dessus des seuils					
	CRD	Cimeqa	CRD	Cimeqa	CRD	Cimeqa		CRD	Cimeqa	CRD	Cimeqa	CRD	Cimeqa
acide oléique	60,53	39,42	0,339	0,21	0,88	0,50	0,495	8,55	0,29	0,569	0,6	0,88	0,50
acide palmitique	93,42	93,04	0,551	0,41	2,44	22,30	0,87	9,87	2,9	1,511	4,02	2,44	22,30
acide stéarique	7,24	5,22	0,613	1,11	1,08	9,50	0,495	3,95	1,16	0,884	4,25	1,08	9,50
hydrocarbures de paraffine	84,21	56,23	0,957	0,98	7,86	29,50	Pas concernés car d'origine exogène						

* : en g/100g de cire

LQ = 0,2 %

En gris foncé : valeurs calculées pour les échantillons dont la valeur dépasse celle du seuil calculé.

Quelle que soit la source de données françaises (autocontrôles des ciriers, étude Cimeqa, étude CRD), l'adultération est fréquente mais à des teneurs inférieures à 1 % (limite de quantification = 0,2 %) (cf. Tableau 49). Ainsi, la présence de paraffine a été relevée dans 56 % des échantillons de l'étude Cimeqa et 84 % des échantillons de l'étude CRD. Les points de fusion des échantillons correspondants se situaient pourtant bien dans la gamme de valeurs telle que définie par la Pharmacopée Européenne pour une cire d'abeilles, ce qui s'explique par le fait qu'il est nécessaire d'ajouter de grandes quantités de paraffine (plus de 25 %) pour que la température de fusion ne soit plus conforme à ces valeurs (Svečnjak et al. 2021). Dans la mesure où il en va de même avec la mesure de l'indice de saponification, qui ne sort des gammes acceptables qu'en cas de forte proportion d'adultérant, cela souligne la nécessité d'associer, pour la détection et l'objectivation d'une adultération, plusieurs techniques de mesures des caractéristiques physico-chimiques et surtout des techniques de laboratoire plus fines.

La détection de substances adultérantes est fréquente, mais leurs teneurs sont moins élevées que celles observées par le passé (entre 2016 et 2018), ou dans le cadre de l'enquête de la BNEVP : en moyenne les échantillons de l'étude CRD contenaient 0,83 % d'hydrocarbures de paraffine et ceux de l'étude Cimeqa une proportion moyenne de 0,98 % d'hydrocarbures de

paraffine. Comme pour les contaminants chimiques, il semble que l'adultération soit aujourd'hui devenue un phénomène chronique, avec la présence de substances adultérantes quasi systématique, mais à des teneurs faibles et pour l'instant, sans effet notable sur les abeilles et la colonie. Ainsi, la cire pure d'abeilles existe plus rarement, ce constat rejoint celui fait lors de l'audition de grossistes en cires qui indiquaient importer de la cire avec un seuil maximum fixe pour les hydrocarbures de paraffine, très proche de zéro mais non nul. Par ailleurs, un rapport d'analyse d'adultération, réalisé par un laboratoire (analyses des autocontrôles de ciriers), comportait la mention d'un seuil au-delà duquel la présence de l'acide palmitique pouvait correspondre à une adultération fixée à 9,5 %⁹⁹, ce qui paraît élevé. Ce constat tend à montrer que des niveaux d'adultération tels qu'ils ont pu être mis en évidence entre 2016 et 2018 par la BNEVP, ne s'observent plus et que cette enquête et ses suites ont eu pour conséquences des effets bénéfiques pour la filière cire française. La difficulté aujourd'hui, dans le cas de mise en place d'un dispositif de surveillance de l'adultération des cires en France, serait de pouvoir situer un seuil au-delà duquel les cires analysées sont considérées comme adultérées. Ce seuil pourrait difficilement être nul pour les hydrocarbures de paraffine compte tenu :

- de l'existence d'une adultération environnementale naturelle (cf. Figure 65) réalisée par les abeilles elles-mêmes (Communication personnelle C. Vidau) impliquant que des traces éventuelles d'adultérants soient susceptibles d'être détectées, sans pour autant signifier un ajout intentionnel ;
- des mélanges divers de cires pour le recyclage et de la persistance chronique de faibles teneurs de paraffine et autres substances, sans pour autant, ici encore, signifier un ajout intentionnel.

Pour les autres composants recherchés : acide palmitique, acide oléique, acide stéarique, l'interprétation des résultats analytiques nécessite de connaître les teneurs naturelles de ces acides dans la cire afin d'identifier les situations correspondant à une adultération. Malheureusement, bien que de nombreuses études se soient intéressées à la composition de la cire, peu d'entre elles se sont attachées à identifier et quantifier les acides gras libres qui entrent dans sa composition. Si ces travaux permettent d'affirmer que la cire contient bien de l'acide palmitique, de l'acide oléique et de l'acide stéarique, les résultats concernant leurs teneurs respectives ne sont pas convergents, ce qui ne permet pas de conclure ici non plus.

Dans le cas d'une mise en place d'une surveillance de l'adultération des cires en France, il n'existe pas de laboratoire accrédité en France pour ces analyses.

6.1.5 Limites et incertitudes de l'état des lieux des cires françaises

Pour les acides palmitique, oléique, stéarique, l'interprétation des résultats analytiques nécessite de connaître les teneurs naturelles de ces acides dans la cire afin d'identifier les situations correspondant potentiellement à une adultération.

Les informations recueillies sur les caractéristiques des cires ont été recensées de manière déclarative auprès des apiculteurs ou des distributeurs.

La méthode employée par le laboratoire d'analyse sollicité pour les études Cimeqa et CRD permet de détecter les acides gras libres et non sous forme estérifiée (par exemple : tristéarine), le laboratoire ne met pas en œuvre d'étape de saponification préalable et nécessaire à la recherche d'acide stéarique.

⁹⁹ Le laboratoire a indiqué avoir déterminé lui-même ce seuil ; après avoir analysé une centaine d'échantillons de cires en Allemagne.

Il n'existe pas d'étude antérieure à celles-ci qui permettrait d'apprécier l'évolution de la situation dans le temps.

6.2 Exposition des abeilles et de la colonie à des cires adultérées

Les voies d'exposition des abeilles et de la colonie aux substances adultérantes contenues dans la cire sont similaires à celles décrites dans le chapitre 5.2.2 Exposition aux substances chimiques et sont représentées en Figure 71.

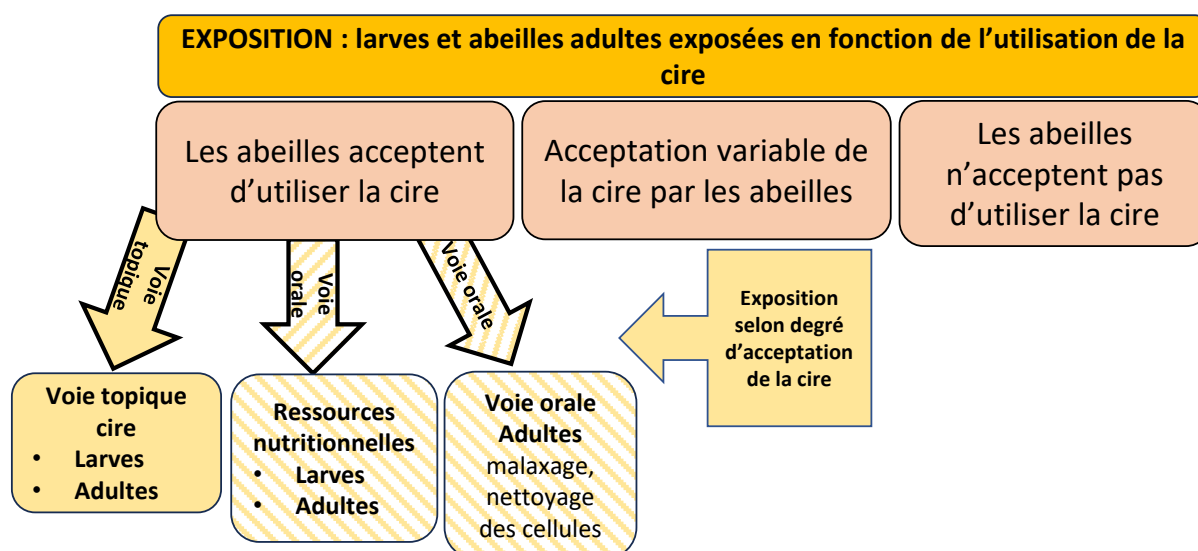


Figure 71 : Voies d'exposition aux substances adultérantes contenues dans la cire pour les abeilles et la colonie (source : GT Cires)

Les trois scénarios d'exposition définis antérieurement par le Comité scientifique de l'AFSCA (Wilmart et al. 2021; Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire 2018) sont ainsi repris.

Toutefois, il n'est pas envisageable comme ce fut le cas pour les substances chimiques contaminantes de proposer des teneurs acceptables pour les substances adultérantes, et ce, pour plusieurs raisons :

- même si ce système est encore imprécis, la toxicité des substances chimiques pour les abeilles est caractérisée par leur DL_{50} , mais il n'existe aucune donnée permettant d'évaluer la toxicité des substances adultérantes qui ont été ou sont utilisées et *a fortiori* celles qui pourront l'être ;
- pour chaque scénario décrit, les taux de transfert des substances sont pris en compte. En ce qui concerne ces substances adultérantes, leur intégration dans la cire d'abeilles est directement liée à leur caractère lipophile (Thompson 2012). Au moment de la rédaction de ce rapport, le transfert de ces substances de la cire vers les larves ou vers les réserves alimentaires stockées dans les alvéoles n'est pas documenté. Par conséquent, les quantités de substances susceptibles d'être transférées ne peuvent donc pas être estimées par le GT ;
- contrairement aux substances contaminantes chimiques, susceptibles de contaminer toutes les ressources que les abeilles vont ramener à la ruche, ce n'est pas le cas pour les substances adultérantes, qui, elles, sont directement incorporées à la cire ;

- le phénomène d'acceptation ou de non-acceptation d'une cire adultérée par les abeilles dépend non seulement de la teneur en substance/s adultérante/s, pour lesquelles les seuils d'acceptabilité par les abeilles sont jusqu'alors peu documentés, mais aussi de nombreux autres facteurs, notamment les conditions environnementales en général et plus particulièrement la température et l'hygrométrie.

Le GT ne peut donc pas estimer de manière quantitative la probabilité d'exposition des abeilles aux substances adultérantes présentes dans les cires gaufrées.

6.3 Conséquences des cires adultérées sur la santé des abeilles et de la colonie

La recherche bibliographique mise en œuvre pour ce rapport a permis d'identifier une quinzaine de publications scientifiques traitant directement, ou indirectement du sujet de l'adultération de la cire d'abeilles et de ses effets sur la santé des abeilles. La revue de la bibliographie ainsi disponible est concentrée sur deux types d'adultérants uniquement : la paraffine et la stéarine/acide stéarique. Une seule publication scientifique a porté sur les effets potentiels de l'adultération de la cire d'abeilles par de la cire de Carnauba et n'a pas mis d'effet en évidence.

6.3.1 Effets de l'adultération de la cire par de la paraffine sur la santé des abeilles et la colonie

L'étude la plus ancienne (Vuillaume 1957), porte sur l'évaluation de l'acceptation de cupules paraffinées utilisées pour l'élevage de reines, et montre (en l'absence de données brutes et de tests statistiques) que ces cupules sont moins bien acceptées par les ouvrières que celles en cire d'opercules. Ces résultats sont contredits par les résultats d'autres études qui ne montrent pas de différence entre cire d'opercules, cire de fondation et cire mélangée avec 50 % de paraffine, pour l'acceptation des cellules royales (Ebadi et Gary 1980; Chęć et al. 2021). Par la suite, peu de travaux de recherche ont été réalisés sur les effets de l'adultération de la cire sur les colonies d'abeilles. Ce type d'études a repris à la suite du constat récent, par les apiculteurs, des effets négatifs de l'ajout de paraffine ou de stéarine/acide stéarique dans les cires du commerce sur la construction, l'acceptation des cires adultérées ainsi que sur la survie du couvain en contact avec ces cires.

Castro et al. (2010), étudient en Argentine les effets d'une adultération croissante de la cire par la paraffine (ajout de 0,20 à 40 % de paraffine) sur le développement des colonies. Ces derniers ne mesurent pas d'effet significatif sur la prise en charge des cires et montrent même un effet protecteur de la paraffine, lorsqu'ajoutée à une teneur de 40 %, sur la santé du couvain. Ils concluent que la paraffine pourrait jouer un rôle de diluant des toxiques initialement présents dans les cires recyclées. Ces résultats sont confirmés ensuite par une autre étude en 2012 (Medici et al. 2012). Une étude polonaise utilise des concentrations de paraffine de 10 %, 30 % ou 50 %, et ne montre pas de différence significative entre les cires, ni pour l'acceptation, ni pour le taux d'émergence (Semkiw et Skubida 2013). L'acceptabilité de la cire adultérée par les abeilles semble varier avec les conditions environnementales. Ainsi, en cas de forte miellée, la nécessité de stockage est telle que les abeilles semblent s'affranchir de la qualité de la cire. Une autre hypothèse serait que la qualité variable (contamination, composition) de la paraffine du marché pourrait expliquer les effets observés sur les colonies. Ce constat met en lumière l'importance du type de paraffine utilisé pour l'adultération, qui peut présenter une qualité médiocre et être

contaminée par de nombreuses substances chimiques. En Serbie, une étude récente a mis en évidence une contamination des feuilles de cires par de la paraffine, entre 19,75 à 85,68 % (Ledjanac et al. 2024). Pourtant, ces feuilles ont été insérées, acceptées et étirées dans des ruches même lorsqu'elles étaient très adultérées, dès lors que la récolte de nectar était importante. En revanche, la présence importante de paraffine retarde la prise en charge de la cire par les abeilles cirières et les constructions de cire, et aboutit à des constructions anarchiques en dehors des périodes de miellées (Ledjanac et al. 2024).

La paraffine mélangée à de la cire, dans une proportion de 10, 30 ou 50 %, peut modifier la solidité des rayons (Chęć et al. 2021).

La paraffine mélangée à de la cire, dans une proportion de 10, 30 ou 50 %, (mais surtout la stéarine/acide stéarique) réduit l'activité de la phenoloxidase, mais augmente l'activité des lysosymes, enzymes impliquées dans l'immunité chez les abeilles (Strachecka et al. 2024).

À ce jour, il semble donc que la paraffine ajoutée dans la cire n'ait pas d'effets majeurs à l'échelle de la colonie d'abeilles, mais a des effets sur la physiologie des ouvrières, en particulier sur leur système immunitaire, d'une part et sur la structure physique des rayons ainsi que sur la tenue de la cire gaufrée au cadre, d'autre part.

La paraffine contenue dans la cire d'abeilles pourrait aussi dénaturer les ressources de la colonie, par exemple, altérer la composition du miel par des processus de fermentation ou d'oxydation, sans évaluation des conséquences sur la santé des abeilles et de la colonie (Svečnjak, Jović, et al. 2019).

Les études sur les effets de l'adultération de la cire par de la paraffine sur la santé des abeilles et de la colonie se sont majoritairement intéressées à l'acceptation de la cire par les ouvrières. Aucune étude ne porte notamment sur la contamination des produits de la ruche, issus de rayons adultérés par de la paraffine, ce qui aurait permis également d'envisager la qualité du miel et les aspects *One Health* qui lui sont liés. La revue bibliographique sur le sujet est d'une faible robustesse compte tenu du fait que seules sept publications ont été répertoriées.

6.3.2 Effets de l'adultération de la cire par de la stéarine/acide stéarique sur la santé des abeilles et de la colonie

La stéarine/acide stéarique est toxique pour la survie du couvain lorsqu'elle est mélangée à 10, 30 ou 50 % à la cire. Elle induit un couvain en mosaïque¹⁰⁰ bien que la ponte de la reine soit normale, ce qui montre sa toxicité sur les larves (Chęć et al. 2021). L'ajout de stéarine/acide stéarique à la cire d'abeilles réduit significativement la survie du couvain ; une adultération de la cire par un ajout de 10 % de stéarine diminue la survie du couvain de 67 % (Chęć et al. 2021). D'autres auteurs font ce même constat, Reybroeck (2017) montre que 15 % de stéarine ajoutée à la cire entraîne une mortalité significative du couvain d'ouvrières (49 %) et 71 % de mortalité pour 35 % de stéarine. L'étude d'Alkassab et al. (2020) a également mis en évidence que l'adultération des feuilles de cire pouvait être une cause majeure du mauvais développement du couvain et des colonies. Les colonies exposées à des cires adultérées (stéarine/acide stéarique) présentaient un couvain en mosaïque et une réduction significative du nombre de cellules operculées. Les larves élevées dans les cires adultérées avec de la stéarine/acide stéarique étaient souvent retirées par les abeilles après plusieurs tentatives de nettoyage, entraînant une mortalité accrue des jeunes larves.

¹⁰⁰ Couvain en mosaïque : les larves meurent et les alvéoles sont alors vidées de leur contenu. Visuellement, ce couvain présente des trous. Le couvain en bonne santé est un couvain compact, sans trou (alvéole sans opercule), avec des alvéoles de couvain operculé bien bombées.

Une exposition à des concentrations croissantes de stéarine/acide stéarique induit une augmentation de la mortalité du couvain (LOAEL : 3 %) et stimule l'expression des certains gènes de l'immunité et de détoxication des nymphes (El Agrebi et al. 2024).

6.3.3 Bilan de la revue de la littérature sur les effets d'une cire adultérée pour la santé des abeilles et de la colonie

La stéarine/acide stéarique a des effets négatifs plus marqués que la paraffine sur la santé des abeilles lorsqu'elle est ajoutée à la cire. Les preuves, mêmes peu nombreuses, apportées par la bibliographie, vont toutes dans le sens d'une toxicité avérée de la stéarine/acide stéarique pour le couvain, dès une faible teneur d'adultération (moins de 3 %), sans pour autant que le mode d'action de la stéarine/acide stéarique ne soit décrit.

S'agissant de la paraffine, la revue de la bibliographie permet de noter l'importance de la nature et de la pureté de la paraffine qui définit son impact lorsqu'elle est incorporée à la cire d'abeilles et qui dépend : (i) de son point de fusion, plus le point de fusion est bas plus l'effondrement du bâti est facilité ; (ii) de la présence d'impureté(s). L'effet létal des paraffines chlorées sur le couvain a été démontré.

6.4 Bilan sur le risque pour la santé des abeilles et de la colonie, lié aux cires adultérées

En l'absence de données fiables et compte tenu (i) de la faible quantité de données disponibles quant à l'exposition et (ii) de l'absence de possibilité d'évaluer la toxicité des substances adultérantes pour les abeilles et la colonie au moment de la rédaction de ce rapport, le risque représenté par l'incorporation de ces substances dans la cire ne peut pas être évalué.

Toutefois, les études de terrain réalisées en France quant à la détection et à la quantification des teneurs de substances adultérantes contenues dans les cires françaises, indiquent une adultération fréquente (plus de 50 %) mais à faible teneur (inférieure à 1 %).

La revue de la bibliographie met en évidence l'existence de conséquences liées à la présence de substances adultérantes dans la cire pour la colonie et permet une caractérisation du danger :

- l'adultération de la cire avec de la paraffine (dès 10 %) réduit la résistance mécanique des rayons et leur protection contre le glissement sous le poids de la nourriture (Chêç et al. 2021) ;
- une proportion de 10 % de paraffine dans la cire d'abeilles entraîne des effets sur les enzymes impliquées dans l'immunité chez les abeilles (Strachecka et al. 2024) ;
- l'ajout de 3,9 % de stéarine/acide stéarique réduit la survie du couvain à 33 % (Chêç et al. 2021).
- 3 % de stéarine/acide stéarique ajoutés à la cire d'abeilles augmentent la mortalité du couvain (LOAEL : 3 %) et stimule l'expression des certains gènes de l'immunité et de détoxication des nymphes (El Agrebi et al. 2019).

7 Observations et cas cliniques de terrain

Les informations obtenues à partir de sources bibliographiques ont mis en évidence les conséquences possibles pour les colonies d'abeilles exposées à des cires adultérées et/ou contaminées. Les différents jeux de données étudiés, qui correspondent à des analyses de cires utilisées par les apiculteurs en France, démontrent que certaines cires sont impropres à un usage apicole, et susceptibles de présenter un risque pour la santé des colonies exposées (cf. 5.4.4.1). D'après ces analyses, des troubles de santé apparaissent dans des colonies en lien avec des cires de mauvaise qualité.

En médecine apicole, la complexité de la démarche diagnostique vétérinaire rend difficile la mise en évidence d'un lien de certitude entre une cause et une conséquence. Toutefois, certains cas cliniques (en France hexagonale) présentent de fortes présomptions d'imputabilité, mettant en cause la qualité déficiente d'une cire et un effet observable sur la santé des colonies.

Dès 2016, des apiculteurs (adhérents de l'ADA AuRA) ont signalé des anomalies de développement de colonies (maladies du couvain, couvains lacunaires, affaiblissement de la colonie, notamment) en lien avec des cires de mauvaise qualité.

L'OMAA déployé en France depuis quelques années dans plusieurs régions¹⁰¹, a pour objet la surveillance événementielle de troubles de santé dans les colonies d'abeilles (cf. 3.5.3.1). Dans ce contexte, plusieurs cas investigués ont aussi mis en cause des cires impropres à un usage apicole. Cinq cas ont ainsi été portés à la connaissance des experts du GT, par la transmission des dossiers concernés anonymisés par la DGAI et deux cas supplémentaires ont été transmis par des vétérinaires de terrain (hors régions OMAA ou avant son déploiement). La démarche diagnostique menée sur le terrain pour ces cas cliniques a permis de décrire des tableaux cliniques sensiblement équivalents mettant en cause des feuilles de cires neuves nouvellement introduites dans les ruches : mauvaise tenue de la feuille de cire au cadre et déformation (ramollissement, fusion), mauvaise acceptation par les abeilles, pas d'étirement/construction des alvéoles, faible occupation, moins de pontes (plutôt stockage de réserves si utilisation). Parmi les examens complémentaires réalisés, certains ont mis en évidence des contaminations des cires suspectes avec des QR parfois très élevés. Pour d'autres, l'adultération des cires était suspectée, pour d'autres encore, adultération et contamination pouvaient être mises en cause. Deux cas cliniques sont présentés ci-dessous pour illustrer les troubles induits dans les colonies dans l'un ou l'autre cas.

7.1 Un cas clinique d'adultération

7.1.1 Anamnèse et commémoratifs

Un apiculteur professionnel (10 ans d'expérience apicole) producteur d'essaims (550 colonies en hivernage) signale à son vétérinaire des anomalies de cires gaufrées qu'il a récemment achetées : pour les cadres qu'il a montés en fixant la feuille de cire gaufrée sur un cadre filé, et stockés, les feuilles se détachent des cadres, s'effondrent, formant un amas de cires agglomérées au pied des cadres (cf. Figure 72). Les informations sur la nature et l'origine des

¹⁰¹ Par ordre chronologique du déploiement régional du dispositif : Bretagne et Pays de la Loire, Auvergne-Rhône-Alpes, Bourgogne-Franche-Comté, Hauts-de-France, Ile-de-France, Occitanie et Provence-Alpes-Côte d'Azur, Centre-Val de Loire

cires achetées ne figurent pas dans le dossier. Le vétérinaire a visité trois ruchers d'environ quatre-vingts ruches chacun.

7.1.2 Examen clinique

Lorsque ces cadres récemment montés sont intégrés dans des ruches peuplées, les ouvrières cirières se les approprient, étirent les alvéoles mais les constructions sont très irrégulières avec des affaissements entraînant des lacunes, des distorsions de forme. Les constructions n'apparaissent plus verticales mais présentent des ondulations, parfois collées aux cadres adjacents (cf. Figure 73). Ces cadres neufs et nouvellement introduits se distinguent des anciens cadres qui, eux, ne présentent aucune anomalie particulière. Aucune autre anomalie macroscopique majeure évocatrice de maladie n'est mise en évidence. En dépit des modifications et effondrements de cires, la reine a pondu des œufs et certaines parties sont en partie bâties, le couvain s'y développe.



Figure 72 : Cadres de cires filés et récemment gaufrés stockés en entrepôt et présentant des feuilles de cires qui se sont effondrées, formant un agglomérat au pied des cadres (Crédit photo : Christophe Thénault)



Figure 73 : Cadres de cires filés, récemment gaufrés et introduits dans des ruches peuplées et présentant des affaissements de cires à l'origine de zones lacunaires, d'une construction irrégulière et de nouvelles bâtisses libres par les ouvrières cirières (Crédit photo : Christophe Thénault)

7.1.3 Hypothèses diagnostiques

Ces constats conduisent à l'hypothèse d'une adultération des cires, à l'origine de modifications physico-chimiques pouvant expliquer les effondrements. La démarche diagnostique vétérinaire a conduit l'investigateur à analyser les cires récemment achetées.

7.1.4 Examens complémentaires

L'analyse physico-chimique réalisée par le laboratoire confirme l'existence d'une importante adultération : 20 % de paraffine et 6 % de graisses animales dans les prélèvements de ces cires. Le point de fusion établi à 59,8°C est inférieur aux normes attendues (Pharmacopée Européenne : [61-65°C] ; EFSA : [62-66°C]) et la teneur totale en hydrocarbures a été analysée à 34,2 %.

7.1.5 Interprétation des résultats d'analyse

Pour ce cas clinique, aucune anomalie sur le couvain n'a été mise en évidence, sur les cadres anormaux comme sur les autres. Il n'est cependant pas exclu que la cire adultérée contienne également des substances chimiques contaminantes, mais celles-ci n'ont pas été recherchées, le signe clinique d'effondrement observé s'expliquant par les adultérations mises en évidence par les analyses de laboratoire. L'adultération n'est pas un phénomène détectable macroscopiquement, l'apiculteur bien qu'expérimenté n'a pas pu distinguer, à l'achat, le caractère adultéré des cires gaufrées. L'adultération n'a pas conduit à rendre les cires toxiques mais a provoqué une modification de ses propriétés physico-chimiques et mécaniques (structure et stabilité de la cire) provoquant l'effondrement.

Ce premier cas clinique a été choisi parmi quelques-uns en raison de son caractère didactique, le constat d'effondrement des cadres faisant un lien direct avec l'hypothèse d'adultération de la cire. Il faut cependant rappeler la complexité du diagnostic pour de nombreux cas impliquant la cire, pour les vétérinaires amenés à consulter les ruchers présentant des anomalies. Les signes cliniques exprimés sont souvent frustes et non pathognomoniques. De plus, l'anamnèse perd fréquemment de sa pertinence car l'appel au vétérinaire est souvent tardif. Si ce premier cas d'adultération paraît sans difficulté diagnostique, le second, présenté ci-après, fait la preuve du contraire.

7.2 Un cas clinique de contamination

7.2.1 Anamnèse et commémoratifs

Ce second cas clinique se rapporte à un rucher sédentaire de 24 colonies. Les colonies sont toutes issues d'essaims créés par l'apiculteur en avril (année N-1) à partir de la partition de ses propres colonies. Les essaims avaient alors été placés en ruchettes Dadant cinq cadres. Les jeunes colonies se développent normalement au cours de la saison (année N-1) et bénéficient d'un programme très complet de maîtrise du parasitisme par *V. destructor* : (i) en mai (année N-1), peu après leur implantation en ruchettes (acide oxalique), (ii) en fin de saison de saison apicole

(lanières d'amitraze mises en place début août (année N-1)) et (iii) en novembre (année N-1) (acide oxalique).

Le 28 mars de l'année N, après un hivernage sans problème, 23 de ces 24 colonies ont été transférées comme prévu en ruche Dadant 10 cadres. Pour ce faire, l'apiculteur insère cinq cadres gaufrés supplémentaires dans chaque ruche. Cette cire gaufrée recyclée n'est pas issue de l'autorenouvellement de la cire de l'apiculteur, mais a été achetée auprès d'un fournisseur.

Les hausses sont installées sur les ruches mi-avril. Entre ce moment et le début du mois de mai, d'importants troubles du développement des colonies sont constatés par l'apiculteur sur 15 des 23 colonies transférées en ruches. Le 3 mai de l'année N, l'apiculteur contacte l'OMAA en vue de déclarer les troubles constatés. Le 5 mai, le vétérinaire investigateur se rend sur place pour une visite du rucher et des colonies qui le composent.

7.2.2 Examen clinique

Le paysage environnant le rucher est diversifié, mais principalement agricole (bois, prairies naturelles, cultures de céréales à paille, colza en fin de floraison, acacia robinier et aubépine). Les réserves de miel dans les ruches sont fortes, celles de pollen sont moyennes. Les ruches sont toutes équipées de grilles à reine placées entre le corps de ruche et la hausse. L'apiculteur mentionne un taux d'essaimage tout à fait anormal pour des colonies dont les reines sont âgées d'un an (essaims constitués en avril année N-1) : 12 colonies sur les 23 ont connu un phénomène d'essaimage après leur installation dans les ruches à 10 cadres.

À l'examen des colonies, aucune anomalie morphologique ou comportementale n'est signalée sur les abeilles adultes. Bien qu'aucune anomalie individuelle ne soit observée sur les larves et les nymphes, le couvain apparaît irrégulier sur certains cadres (cf. Figure 74).



Figure 74 : Couvain en mosaïque sur le cliché de droite (crédit photographique : OMAA)

L'anomalie majeure confirmée par l'investigation est la mauvaise acceptation et la non-utilisation des cires nouvellement introduites. En effet, le jour de la visite, soit plus d'un mois après leur implantation, ces cires dans les corps de ruche sont quasiment vierges, non ou mal bâties, alors que les hausses sont bien remplies de miel. L'investigateur note également que ces cires ont une couleur grisâtre et qu'elles sont peu odorantes, ne présentant pas l'habituelle odeur agréable de la cire « neuve ». Dans un certain nombre de colonies atteintes, des constructions anarchiques

sont constatées : bâtissages en parallèle des nouvelles gaufres ou, pour les colonies dont les hausses ont été retirées, dans le nourrisseur disposé au-dessus du corps de ruche.

Par ailleurs, la veille de son appel à l'OMAA, l'apiculteur a remplacé certains des nouveaux cadres par des cadres gaufrés empruntés à l'apiculteur voisin. Cette cire gaufrée, dont l'origine est différente, a été rapidement acceptée par les abeilles, puisqu'au jour de l'investigation (trois jours plus tard), les cadres sont bâtis et des œufs y ont été pondus par les reines des colonies concernées.

Des examens sont réalisés systématiquement lors de toute intervention dans le cadre de l'OMAA, les comptages des *V. destructor* phorétiques¹⁰² réalisés par le vétérinaire investigateur sur quelques colonies concluent à une très faible charge parasitaire dans les colonies qui présentent un couvain en mosaïque (aucun *V. destructor* détecté).

7.2.3 Hypothèses diagnostiques

L'anamnèse des troubles et les constats réalisés lors de l'investigation conduisent le vétérinaire à suspecter une mauvaise qualité de la cire introduite au moment de l'installation des essaims dans les ruches en mars de l'année N. Les troubles observés sont en effet fortement susceptibles d'avoir été provoqués par une cire contenant des résidus toxiques et/ou adultérée.

En vue de confirmer cette hypothèse, le vétérinaire prélève sur l'exploitation des échantillons de cire de différentes origines, aux fins de recourir à des analyses complémentaires.

7.2.4 Examens complémentaires

Quatre échantillons de cire ont été prélevés : (i) un échantillon de cire gaufrée « neuve » non utilisée et issue du lot suspect, (ii) un échantillon de cire gaufrée introduite dans une des colonies et non bâtie, également issue du lot suspect, (iii) un échantillon de cire issue d'un rayon construit par les abeilles en parallèle de la cire gaufrée refusée, correspondant donc en partie à une cire sécrétée par les abeilles cirières de la colonie, et (iv) un échantillon de cire de remplacement provenant de l'apiculteur voisin et acceptée par les abeilles (autre provenance que le lot suspect). Des analyses toxicologiques et d'adultération ont été conduites par les laboratoires dédiés : GIRPA pour les analyses toxicologiques et CREA pour les analyses d'adultération.

Le Tableau 50 reprend les résultats d'analyses toxicologiques de chacun des quatre échantillons.

¹⁰² Les femelles de *V. destructor* phorétiques sont celles qui sont présentes sur les abeilles ayant émergé. Les individus phorétiques concernent entre 10 % et 20 % de la population totale du parasite ; 80 % à 90 % des parasites sont en réalité présents dans le couvain.

Tableau 50 : Résultats d'analyses des quatre lots échantillonnés lors des investigations conduites dans le cadre d'OMAA

Échantillon	Échantillon n°1 (cire neuve non utilisée, provenant du lot suspect)	Échantillon n°2 (cire neuve introduite et non bâtie, provenant du lot suspect)	Échantillon n°3 (cire bâtie en parallèle, construite par les abeilles cirières de la colonie)	Échantillon n°4 (cire d'une autre origine, installée le 2 mai de l'année N)
Teneur des contaminants détectés (en mg/kg)	chlorfénapyr < LQ ¹⁰³ (0,01) chlorpyrifos : 0,021 coumaphos : 35 p,p'-DDT < LQ (0,02) fenitrothion < LQ (0,01) fenpyroximate : 0,027 fluméthrine : 0,14 hexythiazox < LQ (0,01) 2-phénylphénol < LQ (0,02) perméthrine : 0,06 PBO : 0,029 propargite : 0,016 pyridaben : 0,015 spirodiclofen : 0,037 tau-fluvalinate : 9,8 tebufenpyrad < LQ (0,01) tétradifon < LQ (0,02) tétraméthrine < LQ (0,05)	chlorpyrifos : 0,021 coumaphos : 24 cyperméthrine < LQ (0,05) diphénylamine < LQ (0,01) fenpyroximate : 0,025 fluméthrine : 0,11 hexythiazox < LQ (0,01) 2-phénylphénol < LQ (0,02) pentachloroanisole < LQ (0,01) perméthrine : 0,05 PBO : 0,13 propargite : 0,041 pyridaben < LQ (0,01) spirodiclofen : 0,02 tau-fluvalinate : 13 tebufenpyrad < LQ (0,01) tétradifon < LQ (0,02)	chlorpyrifos < LQ (0,01) coumaphos : 12 DMPF : 0,012 fenpyroximate : 0,016 fluméthrine : 0,084 perméthrine : 0,031 PBO : 0,066 propargite : 0,016 spirodiclofen : 0,016 tau-fluvalinate : 8,7	chlorfenvinphos < LQ (0,01) diphénylamine : 0,026 DMF < LQ (0,02) tau-fluvalinate < LQ (0,02)
Adulteration	paraffine : 0,8 % acide palmitique : 0,9 % acide oléique : 0,4 %	Analyse non réalisée	Analyse non réalisée	Analyse non réalisée

En grisé : substances dont la teneur est supérieure ou égale à 0,1 mg/kg

7.2.5 Interprétation des résultats d'analyse

En premier lieu, il ressort de ces analyses que le nombre de contaminants chimiques présents dans la cire du lot suspect est élevé : respectivement 18 et 17 substances dans les échantillons n°1 et n°2. Il est de plus intéressant de noter que ces deux échantillons provenant du lot suspect présentent un profil de contamination proche, même si le deuxième échantillon correspond à de la cire qui a séjourné pendant cinq semaines dans une ruche. Quatorze des 21 substances retrouvées au total dans ces deux échantillons sont en effet conjointement présentes dans l'un et

¹⁰³ Substance détectée dont la teneur est inférieure à la limite de quantification, précisée entre parenthèses

l'autre : chlorpyrifos, coumaphos, fenpyroximate, fluméthrine, hexythiazox, 2-phénylphénol, perméthrine, PBO, propargite, pyridaben, spirodiclofen, tau-fluvalinate, tebufenpyrad et tétradifon. De plus, parmi ces 14 substances communes, seules quatre d'entre elles présentent des teneurs inférieures à leur LQ (hexythiazox, 2-phénylphénol, tebufenpyrad et tétradifon) et ce, dans les deux échantillons. À l'opposé, parmi les dix autres substances communes, certaines sont présentes à des teneurs très élevées : le coumaphos, la fluméthrine et le tau-fluvalinate. Les sept substances non communes sont pour leur part toutes retrouvées à des teneurs inférieures à leur LQ dans les deux échantillons, ce qui conforte la fiabilité analytique des résultats obtenus. L'échantillon n°3, provenant de la cire d'un rayon parallèle construit par les abeilles, présente un profil de contamination sensiblement différent. Ce sont seulement, si l'on peut dire, dix substances qui y sont présentes, dont neuf sont également présentes dans les deux échantillons du lot suspect. Parmi ces neuf substances, seul le chlorpyrifos présente une teneur inférieure à la LQ, alors qu'il était quantifiable dans les deux premiers échantillons. La dixième substance, qui n'était donc pas présente dans les échantillons de cire du lot suspect, est le DMPF qui est un métabolite de l'amitraz. Ce varroocide avait été utilisé par l'apiculteur à l'automne précédent. Ainsi, l'hypothèse d'un transfert de ce contaminant à partir des anciens cadres présents dans la ruchette et transférés au printemps dans la ruche avec l'essaim est tout à fait envisageable, d'autant que sa teneur est faible (0,012 mg/kg). Le phénomène de migration des substances chimiques, au sein de la ruche, d'une cire contaminée vers une cire voisine est en effet décrit (Wu, Anelli, et Sheppard 2011). Cette cire nouvellement construite est néanmoins contaminée, ce qui n'est pas paradoxal, notamment en raison du phénomène de réutilisation de la cire par les abeilles qui la réincorporent pour partie à celle qu'elles sécrètent pour la construction des rayons de la ruche. Par ailleurs, il est intéressant de noter que les neuf substances également présentes dans la cire du lot suspect, le sont à des teneurs moindres dans ce troisième échantillon. En première approche, elles le sont à des teneurs deux fois moindres en moyenne. Ainsi, le fait que cette cire ait été construite par les abeilles à proximité d'une cire gaufrée contaminée ne permet pas qu'elle soit exempte de contamination, mais cela conduit à ce qu'elle soit environ deux fois moins contaminée.

L'échantillon n°4, provenant initialement d'une exploitation voisine, ne présente pas le même profil de contamination : seulement quatre substances y ont été détectées, dont trois à des teneurs inférieures à leur LQ bien qu'il s'agisse pour deux d'entre elles de varroocides régulièrement utilisés par les apiculteurs.

Le calcul du QR, réalisé par les experts du GT pour ces quatre échantillons de cire, donne les résultats suivants :

- QR 1 = 8 649 pour l'échantillon n°1, ce qui en fait une cire de très mauvaise qualité toxicologique et présentant un risque chimique pour la colonie ;
- QR 2 = 7 551 pour l'échantillon n°2, ce qui en fait également une cire de mauvaise qualité toxicologique ;
- QR 3 = 4 235 pour l'échantillon n°3, ce qui en fait au mieux une cire de qualité intermédiaire qu'il est déconseillé d'utiliser ;
- QR 4 = 2 pour l'échantillon n°4, ce qui en fait une cire de bonne qualité toxicologique et sans risque pour la santé de la colonie.

Il est important de noter que parmi les 21 substances contaminantes présentes dans la cire responsable des troubles observés, quatre d'entre elles, en raison de leurs teneurs respectives extrêmement élevées, conduisent à elles seules et ce, même considérées de manière individuelle, à des niveaux très importants de QR signifiant une cire de mauvaise qualité toxicologique. Il s'agit du coumaphos (acaricide non autorisé en Europe en tant que PPP depuis

2011), de la fluméthrine (acaricide apicole autorisé), de la perméthrine (insecticide/acaricide autorisé en tant que biocide et, dans une moindre mesure, en tant que médicament vétérinaire pour animaux de compagnie) et enfin, le tau-fluvalinate (acaricide apicole autorisé). Dans le cas du coumaphos par exemple, il convient de rappeler que les travaux de Kast, Kilchenmann, et Charrière (2021) ont démontré une augmentation de la mortalité du couvain au-delà d'une teneur de 25 mg/kg. Le constat, à la lumière de ce cas clinique, du rôle négatif majeur de deux substances acaricides autorisées en Europe en tant que médicaments vétérinaires apicoles conduit nécessairement à renforcer les recommandations qui doivent être faites, tant en termes de respect des bonnes pratiques d'utilisation des médicaments vétérinaires (et de rigueur envers tous les types de mésusages) que de réflexions à mener au sujet de l'éventuelle instauration de limites maximales de résidus pour la cire commerciale à usage apicole, lors de la soumission des dossiers d'AMM par les industriels des médicaments vétérinaires et lors de leur réévaluation. Les analyses toxicologiques réalisées à la suite de l'investigation clinique permettent de conforter l'hypothèse diagnostique d'une contamination des cires gaufrées du lot suspect.

Les analyses d'adultération n'ont été réalisées que sur l'échantillon n°1 (cire non utilisée). Les résultats obtenus conduisent à suspecter également une adultération de ce lot de cire du commerce par de la paraffine et de la stéarine (acide palmitique 0,9 %, seuil de 0,87 % ; hydrocarbures de paraffine 0,8 %). Au regard des troubles observés sur les colonies cliniquement atteintes, il reste envisageable de s'interroger sur le possible effet aggravant de l'adultération sur le pouvoir toxique de la cire contaminée, sans que la réponse ne soit connue au moment de la rédaction de ce rapport.

7.2.6 Discussion et difficultés diagnostiques

Ce cas clinique a été choisi par les experts parmi les quelques cas qui leur ont été transmis par la DGAI à leur demande. En effet, ce cas se révèle assez emblématique des effets sur les colonies qui peuvent être consécutifs à la contamination de la cire. De plus, les signes cliniques et les phénomènes décrits, sont particulièrement évocateurs, ce qui permet une approche démonstrative simple et didactique. De manière très fréquente cependant, faute d'éléments contextuels aussi précis et de signes pathognomoniques, la démarche diagnostique et l'interprétation des éléments cliniques et paracliniques sont beaucoup plus complexes et, régulièrement, non conclusives. Par ailleurs, d'autres cas très évocateurs ont pu être rapportés par des vétérinaires apicoles en dehors du cadre de l'OMAA, sans être officiellement enregistrés (communications personnelles M. L'Hostis et C. Roy). Pour rappel, l'OMAA ne couvre pas encore toutes les régions de France hexagonale et sa mise en place est récente (2017 à 2025).

Lors de troubles accompagnant ou liés à la présence de teneurs importantes en substances contaminantes dans la cire, les tableaux cliniques observés ne sont jamais complètement identiques d'un cas à l'autre, ce qui est à l'origine de difficultés diagnostiques. La diversité des tableaux cliniques a des causes diverses : la variabilité du profil toxicologique des cires et des teneurs individuelles des contaminants présents, la possibilité d'une adultération concomitante, une investigation tardive en raison du délai de déclaration des troubles, les capacités individuelles de résilience de chaque colonie voire de chaque rucher, les autres facteurs biotiques et abiotiques auxquels les colonies sont exposées, etc. Il est d'ailleurs notable que, parmi les 23 colonies de ce rucher qui ont été exposées à de la cire contaminée, seules quinze d'entre elles ont présenté des troubles significatifs.

Nombreux sont également les cas cliniques pour lesquels aucune analyse de cire n'est réalisée : absence de déclaration par l'apiculteur (ce qui peut être relativement fréquent), cas moins évocateurs, absence de prise en charge par l'OMAA (en raison de divers critères d'éligibilité), coût des analyses toxicologiques et nécessité de priorisation des examens complémentaires (recherche en premier lieu d'agents pathogènes biologiques). L'absence fréquente de traçabilité des cires une fois introduites dans les ruches complique la démarche diagnostique globale liée à la cire et ne permet pas l'imputabilité à ces cires.

Dans le cas d'une contamination moins importante, tant en nombre qu'en teneur des contaminants présents dans la cire, les signes cliniques et les troubles observés seront moins marqués. De plus, lorsque le niveau de contamination de la cire est moins important ou, par exemple, lorsque la quantité de nouvelle cire apportée est moindre (peu de nouveaux cadres implantés dans la ruche), le nombre de colonies affectées dans le rucher sera moins important et celles-ci ne présenteront que des troubles légers, moins significatifs. Le cas décrit ici est en effet très particulier dans la mesure où toutes les colonies ont été soumises à l'installation d'un nombre important de cadres de cire gaufrée contaminée lors de leur passage de ruchette en ruche (cinq nouveaux cadres gaufrés en complément des cinq cadres anciens déjà présents). Il est pertinent de s'interroger sur la significativité diagnostique de troubles plus légers pouvant apparaître lorsque ce sont seulement un ou deux nouveaux cadres gaufrés qui sont apportés aux colonies, ce qui correspond aux pratiques apicoles recommandées. Il est probable que, si un nombre moins important de colonies sont affectées, et de surcroît si les troubles qu'elles présentent sont moins évocateurs, l'apiculteur ne les déclare pas, voire ne soit pas en mesure de les observer.

Les intoxications subaiguës et chroniques liées à la contamination de la cire restent des phénomènes très mal connus et très peu décrits en tant qu'entités cliniques (Grisot. 2025). A l'heure actuelle, les connaissances sont encore lacunaires sur ce point : absence de prise en compte des effets potentialisateurs (par exemple, PBO et pyréthrinoides) et synergiques entre substances, absence de seuils définis pour la toxicité chronique adulte et/ou larvaire pour de nombreuses substances (absence de valeur toxicologique de référence (VTR)).

Peu de troubles de santé liés à la cire sont signalés aux encadrants sanitaires, et ce pour plusieurs raisons : (i) les apiculteurs ne font pas le lien avec la cire ; (ii) il n'y a pas de traçabilité de la cire dans la plupart des exploitations apicoles ; (iii) ils hésitent à déclarer un trouble par crainte de devoir payer les frais inhérents à l'investigation (déplacement, consultation, analyses). Depuis quelques années, la filière est dotée d'un excellent outil de surveillance avec l'OMAA (prise en charge financière sans reste à charge pour les apiculteurs). Il est souhaitable que celui-ci soit soutenu et étendu à l'ensemble des régions françaises. Le travail sérieux des vétérinaires doit être salué tout en veillant à bien standardiser les examens complémentaires et les comptes-rendus à réaliser. Malheureusement, les apiculteurs peinent, en dépit d'une adhésion des structures techniques (GDS et ADA) et à une communication renouvelée, à signaler les cas cliniques observés, quelle que soit l'origine du trouble constaté.

8 Incertitudes

Il convient de décrire les principales sources d'incertitude et leur incidence sur les décisions prises dans le processus de l'appréciation du risque et sur les conclusions qui en découlent. L'incertitude couvre toutes les limites liées aux informations et connaissances collectées lors du processus de l'appréciation du risque.

Les experts du GT ont listé les principales sources d'incertitude dans les Tableau 51 et Tableau 52 ci-dessous en suivant les recommandations du rapport du GT MER de l'Anses¹⁰⁴ (Anses 2017). Les incertitudes liées aux réponses aux différentes questions de l'autosaisine sont principalement associées à l'absence de normes pour définir une cire à usage apicole et aux limites des connaissances scientifiques sur les doses sans effet des substances chimiques sur les abeilles et les larves, les effets synergiques, additifs, antagonistes des substances entre elles et sur les effets de cires contaminées sur la santé des abeilles et des colonies.

Les experts rappellent que l'appréciation du risque n'a pas été conduite à son terme, il n'était donc pas possible de définir la direction (sur ou sous-estimation du risque) de l'impact sur cette appréciation du risque.

Tableau 51 : Incertitudes à prendre en compte pour l'évaluation du risque pour les abeilles et la colonie, lié à la contamination de la cire par des substances chimiques

Volet de l'expertise	Origine (1)	Origine (2)	Description	Modalité de prise en compte
Planification	Contexte	Périmètre de l'expertise	Contexte français mais mondialisation des échanges et défauts de traçabilité. La cire quel que soit son usage est définie réglementairement comme un SPA 3 / définir réglementairement le produit « cire à usage apicole ». Absence de définition d'une cire à usage apicole. Absence de régulation des échanges commerciaux des cires à usage apicole.	Dans les enquêtes de terrain conduites en France hexagonale, questionnaire accompagnant chaque échantillon sur origine de la cire. Mais déclaratif.
Identification du danger	Méthode	Sélection des données	Évaluation toxicologique basée sur les rapports d'évaluation de l'UE partiellement anciens. Les valeurs toxicologiques sont des DL ₅₀ et non des NOAEL ¹⁰⁵ ou NOAEC ¹⁰⁶ et ces valeurs sont	Aucune prise en compte : l'évaluation européenne est l'évaluation supranationale de référence et méthodologiquement robuste/de bonne qualité.

¹⁰⁴ https://www.anses.fr/sites/default/files/Rapport_methologique_ACCMER.pdf

¹⁰⁵ NOAEL : dose maximale sans effet néfaste observé (*No Observed Adverse Effect Level* en anglais)

¹⁰⁶ Parfois les études permettent de statuer non pas sur une dose mais sur une concentration. On utilise dans ce cas les termes de concentration maximale sans effet néfaste observé NOAEC : *No Observed Adverse Effect Concentration* en anglais.

Volet de l'expertise	Origine (1)	Origine (2)	Description	Modalité de prise en compte
			inexistantes pour les larves. Valeurs toxicologiques partielles non disponibles pour toutes les substances. Évaluation du risque ne tenant compte que de DL₅₀. Absence de centralisation des données toxicologiques pour les abeilles. Provenance du danger incertaine (défaut de traçabilité et des usages dans d'autre pays de substances interdites en France et mésusages).	
Émission du danger	Méthode	Sélection des données d'entrée Revue de la littérature	Équation de recherche bibliographique : imperfections et corrections. Recherche bibliographique conduite sur deux bases de données ayant collecté un grand nombre d'articles, certains présentant des biais importants.	Mise en œuvre d'une grille d'analyse de la qualité des articles qui a permis d'éliminer les publications considérées comme de qualité insuffisante.
Émission du danger	Méthode	Sélection des données d'entrée Revue de la littérature	Hétérogénéité des cadres d'études et des résultats ainsi obtenus.	Sélection des données dans les articles les plus robustes.
Émission du danger	Méthode	Sélection des données d'entrée Enquêtes de terrain en France hexagonale	Enquête par analyse des résultats d'autocontrôles : faible comparabilité des données (laboratoires d'analyses différents, LD et LQ différentes, listes de molécules recherchées différentes, types d'analyses différents). Hétérogénéité des analyses faites dès le départ par les ciriers (motifs, panel de substances recherchées, laboratoire d'analyse, prélèvement/échantillonnage, etc.). Méthode de saisie par différents opérateurs (hétérogénéité, erreurs potentielles).	Mise en place d'une CRD pour compléter les données obtenues dans une précédente étude conduite en France pour les apiculteurs professionnels. Biais de représentativité (faible nombre de gaufres issues des groupements). L'encodage des données ne permettait pas forcément de savoir, en l'absence de détection, si la molécule avait été effectivement recherchée (ou non) : possible

Volet de l'expertise	Origine (1)	Origine (2)	Description	Modalité de prise en compte
			Enquête de terrain Cimeqa avec défaut de représentativité des cires circulant chez les apiculteurs de loisir.	surévaluation de cette part de cires indemnes.
Émission du danger	Méthode	Sélection des données d'entrée Enquêtes de terrain en France hexagonale	CRD (Convention Recherche Développement ITSAP-Anses). Biais déclaratifs sur origine des cires. Biais déclaratifs sur année de production. Biais déclaratifs sur type de cire.	
Émission du danger	Méthode	Exploitation des données d'entrée Méthodes de laboratoire	Absence de laboratoire de référence, de méthode de référence. Absence de normes quant à la contamination de la cire par des substances chimiques.	MAPA (Marché à procédure adaptée) : sélection du laboratoire présentant les meilleures performances. Comparabilité des données des enquêtes de terrain Cimeqa et CRD permise car les mêmes laboratoires ont réalisé les analyses. Pour la CRD, optimisation de la préparation des échantillons par une seule personne avec le même matériel. Réalisation de doublons pour vérifier l'homogénéité des résultats de laboratoire obtenus sur un même échantillon.
Évaluation de l'exposition	Méthode	Exploitation des données Revue de la littérature	Prise en compte de trois scénarios d'exposition. Utilisation du scénario du pire (transfert de la totalité d'une substance contenue dans la cire vers l'individu). Modèle théorique basé sur un index du $\text{Log } P_{o/w}$. Les des valeurs des $\text{Log } P_{o/w}$ des substances ont été standardisées sur une échelle de 100. Cette échelle a ensuite été utilisée comme facteur de transfert.	Prise en compte du scénario du pire pour proposer des teneurs maximales de substances dans la cire.

Volet de l'expertise	Origine (1)	Origine (2)	Description	Modalité de prise en compte
			Analyse substance par substance et non pour l'ensemble des substances contenues dans un échantillon de cire.	
Évaluation de l'exposition	Méthode	Exploitation des données d'entrée Revue la littérature	L'existence d'un transfert de substances entre matrices est démontrée par la littérature mais ce transfert n'est pas quantifié.	
Évaluation de l'exposition	Méthode	Exploitation des données Revue de la littérature	Absence de démonstration et de prise en compte des effets synergiques et antagonistes entre les différentes substances en présence.	
Évaluation de l'exposition	Méthode	Exploitation des données Enquêtes de terrain	Calcul d'une teneur acceptable provisoire des substances en présence dans les échantillons de la CRD.	
Évaluation des conséquences	Méthode	Revue de la littérature	Hétérogénéité des cadres d'études et des doses prise en compte. Faible comparabilité des doses de substances prises en compte avec celles retrouvées dans les études de terrain.	
Évaluation des conséquences	Méthode	Exploitation de données Cas OMAA	Sous-déclaration. Biais déclaratifs.	
Caractérisation du risque			Pas de pondération du calcul en fonction des types de molécules en présence et de leurs interactions possibles. Les potentiels toxiques sont uniquement sommés entre eux. Les quotients de risque sont un rapport de doses d'exposition sur une valeur toxicologique de référence (VTR) et ne tiennent pas compte des effets synergiques ou antagonistes entre molécules.	Aucune prise en compte car il n'existe pas de quantification de ces interactions synergiques ou antagonistes.

Volet de l'expertise	Origine (1)	Origine (2)	Description	Modalité de prise en compte
			Absence de donnée sur les effets conjoints substances contaminantes et adultérantes entre elles.	
Caractérisation du risque			Manque d'une base de données publique et partagée quant aux valeurs toxicologiques pour les abeilles adultes et les larves.	Prise en compte des données disponibles 1/ sur le site Européen ; 2/ PPDB ; 3/ publications scientifiques.
Caractérisation du risque			Obsolescence des LD EPPO 2012.	
Caractérisation du risque			Les DL ₅₀ prises en compte sont définies pour des abeilles adultes. En l'absence de VTR pour les larves, cette extrapolation est nécessaire mais rend le système moins précis.	
Caractérisation du risque		Exploitation des données Enquêtes de terrain	Identification des facteurs de risques.	
Caractérisation du risque			Identification des causes par utilisation de l'outil Bee Tox Wax. Effet seuil important avec le choix des valeurs à dire d'experts de seuils de 5 000 pour définir une cire fortement contaminée, à ne pas utiliser et ou recycler et inférieur ou égal à 250 pour définir une cire très peu contaminée, propre à une utilisation apicole. Certaines DL₅₀ ne sont pas connues et, pour l'outil Bee Tox Wax, leur valeur a été fixée à 200 µg/abeille (ce qui les classe dans la catégorie des substances peu toxiques). Absence de corrélation entre quotient de risque toxicologique d'une cire et effet sur les abeilles et la colonie.	Sous-estimation du risque.

Tableau 52 : Incertitudes à prendre en compte pour l'évaluation du risque pour les abeilles et la colonie lié à l'adultération de la cire

Volet de l'expertise	Origine (1)	Origine (2)	Description	Modalité de prise en compte
Planification	Contexte	Périmètre de l'expertise	Évaluation qualitative du risque partielle pour les adultérants. Contexte français mais mondialisation des échanges et défauts de traçabilité. La cire importée quel que soit son usage est définie réglementairement à son arrivée en France comme un SPA3 / définir réglementairement le produit « cire à usage apicole ». Absence de définition d'une cire à usage apicole. Absence de norme quant à la composition d'une cire d'abeilles pure. Absence de régulation des échanges cire à usage apicole.	Dans les enquêtes de terrain conduites, questionnaire accompagnant chaque échantillon sur origine de la cire, toutefois ces informations sont déclaratives.
Identification du danger	Méthode	Sélection des données	Provenance du danger incertaine (défaut de traçabilité) et problématique économique. Impossibilité de caractériser le danger puisqu'il n'existe pas de valeur permettant d'évaluer la toxicité de substances adultérantes pour les abeilles.	
Émission du danger	Méthode	Sélection des données d'entrée Revue de la littérature	Équation de recherche bibliographique : imperfections et corrections. Recherche bibliographique conduite sur deux bases de données ayant collecté peu d'articles. Nécessité de refaire une recherche de publications en modifiant l'équation de recherche bibliographique avec le terme « adultéra* » pour sélectionner un nombre plus important de références scientifiques.	Mise en œuvre d'une grille d'analyse de la qualité des articles qui a permis d'éliminer les publications considérées comme de qualité insuffisante pour les hypothèses de facteurs de risque ciblés pour leur importance.
Émission du danger	Méthode	Sélection des données d'entrée	Hétérogénéité des cadres d'études et des résultats ainsi obtenus.	Sélection des données dans les articles les plus robustes.

Volet de l'expertise	Origine (1)	Origine (2)	Description	Modalité de prise en compte
		Revue de la littérature		
Émission du danger	Méthode	Sélection des données d'entrée Enquêtes de terrain en France hexagonale	Enquête par analyse des résultats d'autocontrôles : faible comparabilité des données (laboratoires d'analyses différents, LD et LQ différentes, listes de molécules recherchées différentes, types d'analyses différents). Hétérogénéité des analyses faites dès le départ par les ciriers (motifs, panel de substances recherchées, laboratoire d'analyse, prélèvement/échantillonnage, etc.). Méthode de saisie par différents opérateurs (hétérogénéité, erreurs potentielles). Absence d'information sur les molécules détectées/recherchées. Enquête de terrain Cimeqa avec défaut de représentativité des cires circulant chez les apiculteurs de loisir. Références prises en considération pour conclure sur la qualité de la cire : bibliographiques et Pharmacopée Européenne. Absence d'accord entre auteurs sur la valeur seuil du pourcentage de différents acides gras naturellement présents dans la cire.	Mise en place d'une CRD pour compléter les données obtenues dans une précédente étude conduite en France pour les apiculteurs professionnels. Biais de représentativité (faible nombre de gaufres issues des groupements).
Émission du danger	Méthode	Sélection des données d'entrée Enquêtes de terrain en France hexagonale	CRD (Convention Recherche-Développement ITSAP-Anses). Biais déclaratifs sur l'origine des cires. Biais déclaratifs sur l'année de production. Biais déclaratifs sur le type de cire.	Étude randomisée et représentative des cires gaufrées commercialisées en France selon quatre types de distributeurs.
Émission du danger	Méthode	Exploitation des données d'entrée	Absence de laboratoire de référence, de méthode de référence.	MAPA (Marché à procédure adaptée) : élection du laboratoire

Volet de l'expertise	Origine (1)	Origine (2)	Description	Modalité de prise en compte
		Méthodes de laboratoire	Absence de normes quant à la conclusion de l'adultération d'une cire par des substances adultérantes.	présentant les meilleures performances. Comparabilité des données des enquêtes de terrains permise par les mêmes laboratoires ayant réalisé les analyses. Pour la CRD optimisation de la préparation des échantillons par une seule personne avec le même matériel. Réalisation de doublons pour vérifier l'homogénéité des résultats obtenus sur un même échantillon. Prise en compte de références bibliographiques pour proposer des seuils correspondant à une cire naturelle.
Évaluation de l'exposition	Méthode	Exploitation des données Revue de la littérature	Prise en compte de trois scénarios d'exposition. Impossible évaluation quantitative de l'exposition compte tenu de l'absence de données de toxicité pour les substances adultérantes.	
Évaluation des conséquences	Méthode	Revue de la littérature	Hétérogénéité des cadres d'études et des doses prise en compte. Faible comparabilité des doses de substances prises en compte (souvent multiples de 10 %) avec celles retrouvées. Absence de donnée sur les effets conjoints substances contaminantes et adultérantes entre elles dans les études de terrain (inférieures pour la plupart à 1 %). Focus des études sur l'acceptation de la cire par les ouvrières.	Sélection des données dans les articles les plus robustes.

Volet de l'expertise	Origine (1)	Origine (2)	Description	Modalité de prise en compte
			Absence d'étude sur la contamination des produits de la ruche, la qualité du miel et les aspects « One Health » qui lui sont liés. Faible robustesse de la revue de la bibliographie compte tenu du fait du faible nombre de publications.	
Évaluation des conséquences	Méthode	Exploitation de données Cas OMAA	Sous-déclaration. Biais déclaratifs.	Prise en compte de cas les plus explicites et représentatifs de situations de terrain.
Caractérisation du risque			Aucune prise en compte car il n'existe pas de quantification de la toxicité éventuelle de ces substances adultérantes.	

Sur la base de l'inventaire et de l'analyse des différentes sources d'incertitude pour répondre aux questions de la saisine, les experts estiment l'incertitude associée à leurs réponses comme faible et les conclusions de l'expertise fiables.

9 Recommandations du groupe de travail

Les experts émettent des recommandations pour chaque phase du cycle de la cire et des acteurs concernés. Ces 132 recommandations sont par ailleurs hiérarchisées selon un ordre de priorité (cf. 9.1 ; 9.2 ; 9.3 ; 9.4 ; 9.5 ; 9.6 ; 9.7 ; 9.8 ; 9.9 ; 9.10) elles ont pour objectif principal d'améliorer la qualité de la cire française.

9.1 Recommandations de bonnes pratiques pour les apiculteurs

Avant toute recommandation, il est utile de rappeler qu'il revient aux apiculteurs de respecter la réglementation et de définir la catégorie de leurs cires en tant que sous-produits animaux.

Les apiculteurs doivent utiliser des médicaments vétérinaires ayant obtenu une AMM pour traiter leurs colonies, et respecter strictement les conditions d'utilisation telles qu'elles sont prévues par le fabricant. Le respect de ces pratiques permet d'assurer, en plus de la santé du manipulateur et des colonies traitées, la protection de l'environnement et la limitation des résidus pouvant impacter la qualité de la cire.

Il convient de promouvoir la formation des apiculteurs, portant sur les rôles de la cire pour les colonies, son recyclage et le respect des bonnes pratiques apicoles (BPA) pour améliorer sa qualité (disponibles dans le guide de bonnes pratiques apicoles de l'ITSAP, Fiche R3 : https://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/wp-content/uploads/2018/09/Pages-de-ITSAP-GBPA-MAJ_2018-Fiche_R3-Web.pdf).

Les objectifs des recommandations listées dans le Tableau 53 sont les suivants : se former ; améliorer la production de cires de bonne qualité (par les abeilles) ; s'approvisionner en cires de bonne qualité ; assurer la traçabilité (nécessaire pour la détection de lots à problème, lien clinique et cire) ; détecter les (lots de) cires potentiellement contaminées de façon à les écarter ; faire entrer, dans le circuit recyclage, des cires de bonne qualité.

Le suivi de ces objectifs permettra d'investiguer la cause et l'origine d'une contamination et/ou d'une adultération, de prévenir la diffusion et la réutilisation d'une telle cire et, en cas de nécessité, d'établir la preuve de son origine.

Tableau 53 : Recommandations destinées aux apiculteurs

Se former :

- se former sur l'utilisation et le recyclage optimaux de la cire ainsi que sur les impacts des traitements acaricides sur la contamination des cires sur la base de référentiels de l'ITSAP (bonnes pratiques apicoles) (ITSAP, 2018) ;

Améliorer la production de cires de bonnes qualités (par les abeilles) :

- favoriser les pratiques permettant de récupérer de la **cire récemment sécrétée par les abeilles** : opercules, bâtisse libre (notamment en période de forte miellée), cire utilisée lors du piégeage de *V. destructor* dans le couvain de mâles ;
- respecter les BPA, telles qu'elles sont prescrites par l'ITSAP et notamment, **renouveler** régulièrement les **cadres de corps**, à raison de 25 à 33 % par an et par ruche (cf. ci-dessus) (ITSAP, 2018) et https://www.ada-aura.org/wp-content/uploads/2024/10/rucher_renouvellement_cadres.pdf ;
- assurer également la qualité de la cire des **cadres de hausses** en les renouvelant régulièrement (<https://www.ada-aura.org/wp->

content/uploads/2024/10/rucher_source_contamination_pour_abeilles_produits.pdf) ;

- favoriser les **emplacements** des ruches autour desquels la pression chimique est faible ;
- laver et rincer ou changer de récipient de fonte entre les différents types de cires, lors du recyclage de la cire, pour éviter la **contamination croisée** ;
- filtrer la cire puis gratter le fond des pains de cire afin d'en retirer tout élément adhérent exogène ou impuretés ;
- **stocker** les lots de cires gaufrées dans un lieu les prévenant de toute contamination extérieure (ITSAP, 2018) ;

S'approvisionner en cires de bonne qualité :

- en cas d'**achat** nécessaire de cire, préférer une origine connue, si possible française et préférentiellement issue d'opercules, le cas échéant, envisager le recours à des analyses pour rechercher la présence éventuelle de contaminants ;
- conserver un échantillon de chaque lot de cire gaufrée dans un sac hermétique ou un pot à usage unique (gaufre ou petit bloc de cire témoin) et l'identifier ;
- demander des résultats d'analyses de la part du fournisseur ;

Assurer une traçabilité (nécessaire pour la détection de lots à problème, lien clinique et cire) :

- assurer la traçabilité de la cire et de son lot sur chaque cadre (code couleur ou année d'introduction du cadre dans la ruche, ou encore, numéro interne à l'exploitation reporté dans le registre d'élevage) (fiche ITSAP, 2018) ;
- consigner dans le registre d'élevage, les numéros de lots des cires ainsi que les factures d'achat afin d'assurer la traçabilité de l'utilisation des cires dans le(s) rucher(s) et, si nécessaire, de déterminer l'origine d'une adultération ou d'une contamination afin de prévenir la diffusion d'une telle cire ;

Détecter les (lots de) cires potentiellement contaminées de façon à les écarter :

- suivre l'évolution de la colonie (acceptation, évènement de santé, couvain) dans les semaines qui suivent la nouvelle cire introduite et signaler tout évènement anormal aux encadrants sanitaires et techniques ainsi qu'au dispositif OMAA (https://www.ada-aura.org/wp-content/uploads/2024/10/rucher_qui_prevenir_doute_qualite.pdf) ;
- surveiller les troubles de santé des abeilles et des colonies afin d'alerter le plus rapidement possible (OMAA, vétérinaire, encadrants sanitaires et techniques apicoles) ;

Faire entrer, dans le circuit recyclage, des cires de bonne qualité :

- identifier ses cires fondues comme cires d'opercules, d'une part et cires de cadres, d'autre part (cadre de hausse et cadre de corps) ;
- fournir uniquement de la cire d'opercules (préférentiellement, voire éventuellement toute la cire de cadres de hausses si elle n'est pas trop ancienne et sous réserve du respect des BPA) lors de vente de cire à un

cirier pour son recyclage en cire gaufrée, ou lorsqu'elle est confiée à un collectif d'apiculteurs ;

- récupérer et recycler en priorité les cires locales et si possible, conserver et utiliser ses propres pains de cire plutôt que de les déposer pour être recyclés et acheter une cire d'une autre provenance ;

Diminuer les intrants liés aux activités apicoles :

- respecter les durées et doses prescrites des médicaments vétérinaires apicoles à destination de la lutte contre *V. destructor* pour limiter l'accumulation de résidus dans les cires et éviter une surexposition de la population d'abeilles. Limiter l'utilisation des médicaments pour lesquels les substances acaricides présentent une toxicité élevée pour les abeilles (correspondant à une DL₅₀ faible) (cf. 1.4.4.7) ;
- favoriser les médicaments vétérinaires acaricides qui ne s'accumulent pas dans la cire pour la lutte contre les parasites de l'abeille (*V. destructor*) : acides organiques (oxalique et formique), ainsi que les méthodes biotechniques. https://www.ada-aura.org/wp-content/uploads/2024/10/rucher_lutte_contre_varroa.pdf.

9.2 Recommandations de bonnes pratiques pour les collectifs d'apiculteurs

Les collectifs d'apiculteurs correspondent aux groupements de défense sanitaire (GDS), syndicats, coopératives et autres types d'associations ainsi que les apiculteurs se regroupant sans structure associative officielle. L'ensemble des recommandations destinées aux apiculteurs et présentées dans la section précédente doivent être appliquées par chaque apiculteur au sein de son collectif. Les recommandations destinées plus précisément aux collectifs sont développées dans le Tableau 54 ci-après : assurer des formations pour les membres du groupement ; améliorer la production de cires de bonnes qualités (par les abeilles) ; s'assurer de la maîtrise des cires apicoles entrant dans le circuit de recyclage ; assurer une traçabilité (nécessaire pour la détection des lots à problème, lien clinique et cire).

Tableau 54 : Recommandations destinées aux collectifs d'apiculteurs

Assurer des formations pour les membres du groupement :

- proposer des formations aux apiculteurs membres du collectif sur : (i) les bonnes pratiques apicoles concernant l'utilisation des cires ; (ii) la survenue d'évènements sanitaires en lien avec des cires de mauvaise qualité ; (iii) la manipulation, au recyclage, pour une cire de qualité (cf. ITSAP 2018 et outil en ligne) ;
- construire un référentiel (objectifs pédagogiques et d'apprentissage) dans les formations des apiculteurs tenant compte des impacts des traitements sur la contamination des cires ;

Améliorer la production de cires de bonnes qualités (par les abeilles) :

- maintenir autant que possible un circuit cire AB, en formant des collectifs dédiés au label AB. La cire AB est de meilleure qualité ;

- acheter des équipements (gaufriers manuels ou organisation d'ateliers de fonte et gaufrage) permettant aux adhérents de recycler et gaufrer eux-mêmes leurs cires en respectant les bonnes pratiques et mesures d'hygiène préconisées, c'est-à-dire que le matériel est nettoyé et désinfecté entre les adhérents utilisateurs et que les cires réutilisées lors de fonte/recyclage/gaufrage par soi-même, sont exemptes de tout danger biologique comme les spores de l'agent de la loque américaine ;

S'assurer de la maîtrise des cires apicoles entrant dans le circuit de recyclage :

- indiquer aux adhérents qu'il convient de contacter OMAA ou un encadrant sanitaire en cas de doute sur la qualité de la cire délivrée à ses adhérents ou si un adhérent signale un trouble en lien avec la cire (vigilance augmentée sur le lot délivré) ;
- assurer que tous les membres du collectif fournissent bien de la cire d'opercules : attestation sur l'honneur par exemple, vérification de l'aspect extérieur de la cire, etc. ;
- réaliser un autocontrôle en analysant la cire de mélange (issue des cires des adhérents) ou demander les résultats d'analyses des cires fournies par le cirier avant leur distribution aux adhérents ;

Assurer une traçabilité (nécessaire pour la détection des lots à problème, lien clinique et cire) :

- conserver des échantillons des cires gaufrées fournies aux adhérents par le collectif, en assurer la traçabilité (tenir un registre listant les cires réceptionnées et les apiculteurs auxquels les cires sont vendues) et en réaliser l'analyse en cas d'impact suspecté sur la santé d'une colonie.

9.3 Recommandations de bonnes pratiques pour les ciriers

Le respect des règles de commercialisation et d'information de l'acheteur telles qu'elles sont prévues dans la réglementation (Code la consommation, Code du commerce et jurisprudence) constitue un préalable indispensable.

La marchandise proposée à l'acheteur est saine et fiable et sa traçabilité est assurée. Une cire d'abeilles doit être conforme à sa dénomination, présenter l'information de sa provenance (France, UE, hors UE, mélange et composition et origines du mélange le cas échéant) et de sa catégorie (opercules, mélange), etc.

En tant que principaux acteurs de la qualité des cires mises sur le marché, les ciriers sont également garants de l'amélioration de la qualité. Des recommandations sont proposées dans le Tableau 55 suivant : assurer une traçabilité amont ; améliorer la production de cires de bonne qualité (par les ciriers) ; réaliser des autocontrôles ; améliorer la qualité des cires apicoles ; identifier et tracer les (lots de) cires potentiellement contaminées de façon à les écarter ; assurer une traçabilité interne ; assurer une traçabilité aval.

Tableau 55 : Recommandations destinées aux ciriers

Assurer une traçabilité amont :

- conserver un engagement des apiculteurs fournissant de la cire pour le recyclage, précisant l'origine et la nature des cires fournies (cire d'opercules pure, cire de cadres de hausse), par exemple, une attestation sur l'honneur signée ;
- disposer de l'origine exacte de la cire d'abeilles issue du même ou de multiples apporteurs pour la traçabilité amont ;
- indiquer la provenance géographique de la cire pour tous les lots commercialisés y compris de sa composition relative s'il s'agit d'un mélange ;
- relever les traitements acaricides appliqués par les apiculteurs fournissant leurs cires et s'assurer du respect des posologies par une attestation sur l'honneur, par exemple ;

Améliorer la production de cires de bonne qualité (par les ciriers) :

- s'assurer de la qualité de la cire achetée ;
- retirer systématiquement les fonds de cuve et les éliminer ;
- rincer abondamment les cuves et les laisser décanter longuement afin d'éviter toute contamination croisée entre les lots, une partie des substances contaminantes se trouvant sur les impuretés, rincer également les tuyaux entre la transformation des différents lots de cires ;
- changer l'eau de refroidissement ;
- détenir un lieu de stockage spécifique des cires, hermétique et clos, sans contact avec d'autres éléments (bois, produit de nourrissage, traitement des ruches ou autres) et stocker les cires sous un emballage neutre. N'appliquer aucun traitement dans le lieu de stockage des cires (dératisation, désinsectisation, désinfection ou autre) ;

Réaliser des autocontrôles :

- inclure, dans le guide de bonnes pratiques, les types d'autocontrôles à réaliser, visant à rechercher les contaminants chimiques, métaux lourds et adultérants, et la méthode de conservation des données. L'élaboration d'un guide méthodologique pour la réalisation d'un plan d'échantillonnage, la préparation des échantillons, la réalisation des analyses de laboratoire semble nécessaire afin d'homogénéiser les pratiques ;
- prévoir les laboratoires à solliciter afin que les méthodes d'analyses de résidus chimiques et substances adultérantes recherchés soient similaires pour tous ;
- prévoir des contrôles systématiques des cires achetées à des fournisseurs européens ou internationaux ;
- utiliser les outils d'analyse du risque chimique (Bee Tox Wax, par exemple) des cires ayant fait l'objet de contrôles ou autocontrôles ;

Améliorer la qualité des cires apicoles :

- refuser toute cire dont la contamination chimique se situe au-delà d'un quotient de risque (QR) de 5 000 ;
- ne pas diluer une cire contaminée avec une cire de bonne qualité ;

- mettre en place des procédés permettant de réduire les quantités de contaminants chimiques, qu'il s'agisse de produits à usage phytopharmaceutique, biocide, médicament vétérinaire ou encore de métaux lourds (cf. Recommandations de recherches) ;

Identifier et tracer les (lots de) cires potentiellement contaminées de façon à les écarter :

- conserver et identifier un échantillon de chaque lot qui a été commercialisé ;
- conserver et identifier des échantillons de cires gaufrées fournies aux apiculteurs ou aux groupements d'apiculteurs, afin de permettre la réalisation de la traçabilité des cires distribuées et de pouvoir les analyser en cas d'impact suspecté sur la santé d'une colonie ;

Assurer une traçabilité interne :

- disposer des proportions de chaque type de cires incluses dans le/s mélange/s réalisés au sein de l'établissement (registre de fabrication), afin de connaître précisément la composition des cires de mélanges et de pouvoir la communiquer à la demande d'un détaillant, acheteur (ou même de l'autorité compétente) ;
- enregistrer les éléments et données du processus de fonte et de transformation dans un registre de fabrication ;
- posséder un registre de stockage ;
- conserver les registres ;

Assurer une traçabilité aval :

- assurer la possibilité de contacter tous les acheteurs en cas de problème, identifiés grâce à une traçabilité en aval ;
- posséder un registre des sorties/livraisons/traçabilité aval.

9.4 Recommandations de bonnes pratiques pour les encadrants sanitaires et techniques apicoles

Les encadrants techniques (ITSAP et réseau des ADA) et sanitaires (GDS : vétérinaires conseils, vétérinaires praticiens apicoles, techniciens sanitaires apicoles (TSA)) bénéficient d'une formation continue sur la cire. Des recommandations sont proposées dans le Tableau 56 ci-après : former/informer les apiculteurs (problématique, production, méthodes de lutte contre les parasites de l'abeille) ; favoriser la diminution des intrants liés aux activités apicoles.

Tableau 56 : Recommandations destinées aux encadrants sanitaires et techniques apicoles

Former/informer les apiculteurs (problématique, production, méthodes de lutte contre les parasites de l'abeille) :

- assurer des formations relatives aux bonnes pratiques apicoles concernant l'utilisation, c'est-à-dire la manipulation et le recyclage, des cires (ITSAP 2018 <https://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/> et mallette pédagogique : <https://mallette-pedagogique.itsap.asso.fr/>) ;

- sensibiliser et informer les apiculteurs aux risques inhérents aux cires de mauvaise qualité (outils en ligne comme Bee Tox Wax ou celui prévu par l'ITSAP : <https://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/>) ;

Favoriser la diminution des intrants liés aux activités apicoles :

- se placer dans une démarche de prescription raisonnée, telle qu'adoptée par les vétérinaires ces dernières années pour d'autres filières, qui tiendra compte de la contamination des cires, notamment dans le cadre de PSE (programme sanitaire d'élevage) ;
- accompagner les apiculteurs dans la lutte intégrée des parasites de l'abeille (*V. destructor*) et encadrer les traitements médicaux de lutte contre celui-ci en favorisant les non-contaminants (acides organiques) et les gestes biotechniques qui permettent une diminution des intrants.

9.5 Recommandations pour les laboratoires

En plus des recommandations destinées à l'Autorité compétente (cf. Tableau 58) visant l'agrément et la désignation d'un laboratoire de référence pour l'obtention de résultats d'analyses homogènes, les recommandations listées dans le Tableau 57 visent le fonctionnement du laboratoire afin de réduire les incertitudes sur les résultats d'analyses.

Tableau 57 : Recommandations destinées aux laboratoires d'analyse

Harmoniser les analyses :

- harmoniser les étapes de préparation de l'échantillon de cire préalables au dosage des résidus : extraction et purification ;
- mettre en œuvre des techniques avancées comme la GC-MS, la HTGC-FID (MS) et/ou FTIR-ATR de façon préférentielle afin de connaître la nature et la quantité des adultérants éventuellement présents dans la cire ;
- harmoniser les limites de quantification afin de pouvoir comparer les résultats entre eux et faciliter les échanges commerciaux de cires ;
- mettre en place des essais inter-laboratoires ou bilatéraux ;

Développer et généraliser les méthodes d'analyses :

- mettre au point et valider des méthodes d'analyses à d'autres molécules (métaux lourds, HAP, glyphosate, etc.).

9.6 Recommandations de gestion à destination de l'Autorité compétente

Les recommandations listées ci-après dans le Tableau 58, issues des travaux des experts, reprennent en grande partie les items du « Plan d'actions cire » présenté en CNOPSAP apicole en 2018, qui devrait être publié. Il semble également primordial pour les experts de garantir le maintien d'un système sentinelle sur les ruchers tels que l'OMAA et sur leur exposition aux produits phytopharmaceutiques tel que la phytopharmacovigilance. Les objectifs de ces recommandations sont les suivants : définir la cire à usage apicole ; former les apiculteurs ; identifier les acteurs dans le but d'améliorer la production de cires de bonnes qualités (par cirier) ;

favoriser la coordination entre les acteurs de la filière apicole ; diminuer les intrants (pratiques apicoles et agricoles) ; détecter les (lots de) cires potentiellement contaminées de façon à les écarter ; harmoniser et favoriser les analyses ; assurer une traçabilité globale ; assurer une surveillance des cires ; identifier les sources de contamination ; améliorer les connaissances sur les contaminations environnementales (et en partie des cires) ; améliorer les connaissances sur les effets des contaminations des cires sur les abeilles ; améliorer les procédures ; identifier les (lots de) cires potentiellement contaminées de façon à les écarter ; améliorer la traçabilité au niveau international pour les échanges internationaux ; diminuer les intrants (pratiques autres qu'apicoles) pour les échanges internationaux.

Tableau 58 : Recommandations destinées à l'Autorité compétente

Définir la cire à usage apicole :

- définir réglementairement la cire à usage apicole au niveau européen et si possible international. Basé sur une analyse de risque de type HACCP, un cadre réglementaire tenant compte de l'existant, permettrait d'agréer la cire à usage technique apicole ;

Former les apiculteurs :

- recenser, évaluer et agréer les formations proposées aux acteurs de la filière ;
- mettre en place des formations destinées aux apiculteurs afin de les sensibiliser aux signes cliniques de la colonie liés à des cires de mauvaise qualité et aux démarches à adopter le cas échéant (réalisation d'une déclaration à l'OMAA, appel du vétérinaire, des techniciens sanitaires apicoles) ;

Identifier les acteurs dans le but d'améliorer la production de cires de bonnes qualités (par cirier) :

- répertorier officiellement les ciriers français en leur associant une information sur leurs volumes d'achat-vente ;
- définir une obligation d'agrément homogène pour l'ensemble des ciriers de France, comprenant l'exigence d'une parfaite traçabilité ainsi que les responsabilités correspondantes à adapter et encadrer en fonction de la taille de la structure ;
- sensibiliser, y compris par des contrôles plus fréquents, les ciriers sur leur rôle et responsabilités ;

Favoriser la coordination entre les acteurs de la filière apicole :

- définir une personne ressource au sein de la DGAL, experte pour toute problématique liée aux cires ;

Diminuer les intrants (pratiques apicoles et agricoles) :

- mesures de gestion concernant la mise sur le marché de produits phytopharmaceutiques, biocides et médicaments à usage apicole ;
- limiter l'usage des produits phytopharmaceutiques en agriculture, source majeure de la contamination des cires ;
- considérer la rémanence de la substance active dans la cire et le lien avec la santé des colonies lors de la délivrance des autorisations de mise sur le marché pour des médicaments vétérinaires apicoles ;

- prendre en compte la rémanence et l'accumulation des substances dans la cire et le risque lié à la contamination de la cire pour l'évaluation des substances à usage phytopharmaceutique au niveau européen ;
- mettre en œuvre la méthodologie de l'avis de l'EFSA 2013 pour l'évaluation des substances phytopharmaceutiques au niveau européen ;
- prendre en compte la contamination des cires par les produits biocides et envisager une évaluation et une prise en compte de ceux-ci dans la réglementation sur l'exposition des abeilles ;

Détecter les (lots de) cires potentiellement contaminées de façon à les écarter :

- améliorer la collecte d'informations issues de la surveillance événementielle sur des troubles relatifs aux cires en encourageant les investigations de terrain ;

Harmoniser et favoriser les analyses :

- prévoir un agrément et désigner un laboratoire de référence pour l'obtention de résultats d'analyses homogènes ;
- s'assurer que les laboratoires français qui réalisent les dosages de contaminants ou la recherche d'adultérants soient dotés de méthode(s) d'analyse(s) validées, répétables et reproductibles ; organiser des essais inter-laboratoires pour s'assurer de la répétabilité, fiabilité des mesures ;
- encourager la création d'un réseau de laboratoires européens ;

Assurer une traçabilité globale :

- imposer le recueil d'informations sur les cires importées afin de classer les pains de cires dans une catégorie plus spécifique (destination : cosmétique, apicole, alimentaire...) et réaliser des contrôles frontaliers plus précis ;

Assurer une surveillance des cires :

- mettre en place un système de déclaration en cas de détection de certaines substances (liste de substances concernées et teneurs seuil à définir) ;
- transmettre, pour les laboratoires qui seront agréés, les résultats d'analyses pour lesquels des substances interdites sont détectées, à l'autorité compétente afin de mettre en œuvre des enquêtes épidémiologiques permettant d'identifier l'origine de la contamination.
- intégrer des analyses de cires dans les aides de FranceAgriMer ;

Identifier les sources de contamination :

- conduire des enquêtes épidémiologiques lorsque des substances interdites sont détectées dans les cires et déterminer leur origine ;

Améliorer les connaissances sur les contaminations environnementales (et en partie des cires) :

- se donner pour objectif d'utiliser et d'analyser la matrice cire comme une sentinelle de l'environnement par la phytopharmacovigilance ;

Améliorer les connaissances sur les effets des contaminations des cires sur les abeilles :

- demander la réalisation d'études écotoxicologiques dans les dossiers d'évaluation des substances afin de fixer des valeurs toxicologiques de référence (NOAEC, LOAEC) pour les larves et les abeilles adultes ;
- mener une réflexion quant à l'établissement de seuils toxicologiques au-delà desquels une cire ne peut plus être utilisée en apiculture et, compte tenu des informations disponibles au moment de la rédaction de ce rapport, provisoirement tenir compte d'un seuil de QR=5 000 par l'utilisation de l'outil actuellement disponible en ligne (Bee Tox Wax) ;

Améliorer les connaissances des différents acteurs quant à la situation concernant la contamination des cires :

- partager les informations entre acteurs de la filière apicole en ce qui concerne la qualité des cires commercialisées en France ;
- envisager la centralisation des données d'autocontrôles dans le but d'enregistrer les données acquises dans un format commun. L'homogénéité des données acquises permettrait d'en envisager une exploitation et d'interpréter les résultats ;

Améliorer les procédures :

- établir une liste de critères permettant de vérifier la bonne appropriation d'un guide de bonnes pratiques des ciriers et son application sur le terrain ;
- créer un réseau entre responsables publics du circuit des cires en France (points de contrôles frontaliers, douanes, DGAI et données TRACES, DGCCRF) ;

Identifier les (lots de) cires potentiellement contaminées de façon à les écarter :

- améliorer la collecte d'informations issues de la surveillance événementielle sur des troubles relatifs aux cires en encourageant les investigations de terrain.

Améliorer la traçabilité au niveau international pour les échanges internationaux :

- proposer d'établir les bases d'un agrément pour les fournisseurs de cires situés dans d'autres États membres ou à l'international, reposant sur la traçabilité (lorsqu'une cire vient d'un pays intracommunautaire, conserver l'information de provenance, même si ce pays a lui-même importé cette cire) de leurs lots et la réalisation d'analyses complètes de contaminants (multirésidus) et adultérants. La traçabilité des cires échangées à l'international est moindre et en outre, variable en fonction de la stabilité politique du pays fournisseur ;
- mettre en place des audits mutualisés entre acheteurs et fournisseurs pour évaluer le travail des fournisseurs in situ. Cette mesure est, par exemple, imposée pour la filière pharmaceutique ;

Diminuer les intrants (pratiques autres qu'apicoles) pour les échanges internationaux :

- mettre en œuvre des mesures destinées à protéger les cires des contaminations lors du stockage et du transport de celles-ci. Les cires destinées à un usage apicole devraient être identifiées comme telles et faire

l'objet de mesures appropriées. Indiquer sur le bordereau de transport des cires, le type de fumigant qui a été utilisé durant le transport.

9.7 Recommandations relatives aux substances à rechercher et à quantifier pour évaluer la qualité des cires

Les recommandations relatives aux substances à rechercher et à quantifier pour évaluer la qualité des cires font l'objet du Tableau 59, elles visent à assurer une surveillance des cires et améliorer la traçabilité au niveau international.

Tableau 59 : Recommandations relatives aux substances à rechercher et à quantifier pour évaluer la qualité des cires

Assurer une surveillance des cires :

- prioriser la recherche de molécules à usage acaricide et insecticide, toutes familles chimiques possibles, compte tenu des résultats des études françaises disponibles au moment de la rédaction de ce rapport et réévaluer la liste en fonction des résultats (et autres méthodes) ; lister les substances à rechercher (PPPs, biocides, médicaments vétérinaires, ainsi que les antibiotiques, métaux lourds, dioxines et HAP) en priorité lors de l'analyse de contaminants chimiques dans les cires (par observatoire des résidus/phytopharmacovigilance). Cette liste évolutive devrait être régulièrement évaluée par les pairs/scientifiques ;
- suivre des substances qui ne sont pas autorisées pour un usage apicole et notamment les antibiotiques (*One Health*) ;
- utiliser cette liste de substances prioritaires pour les propositions de surveillance des cires et des propositions de recherches ciblées. En cas de limite de détection ou limite de quantification élevée (au-delà de 0,01 mg/kg), ou pour certaines substances hautement toxiques, envisager une recherche ciblée par résidu afin de diminuer ces valeurs. En outre, réduire le spectre de molécules recherchées permet de réduire le coût de l'analyse. Cette diminution du coût pourrait augmenter le recours à ces analyses lors d'autocontrôles que ce soit à titre informatif/préventif ou lors d'investigations de troubles de santé ;
- suivre toute nouvelle substance dans la cire d'abeilles à usage technique apicole, à titre d'exemple, les HAP. Les HAP ne sont pas recherchés parmi les substances analysées pour la filière apicole alors qu'elles le sont pour la filière cosmétique. Les fumées africaines intervenant dans le procédé de collecte des cires sur ce continent, par exemple, engendrent de fortes teneurs en HAP dans la cire. La rémanence des HAP dans la cire et leurs potentiels effets sur la santé des abeilles et de la colonie ne sont jusqu'alors pas étudiés ;

Améliorer la traçabilité au niveau international (versant contrôle) :

développer les outils (analyses isotopiques) qui permettent à partir des substances présentes dans la cire de déterminer la/les origine/s géographique/s de la cire.

9.8 Recommandations relatives aux données écotoxicologiques et leur centralisation

Les recommandations relatives aux données écotoxicologiques et leur centralisation sont listées dans le Tableau 60. Elles visent à favoriser l'accès aux connaissances sur les effets des contaminants sur les abeilles et améliorer les connaissances sur les effets des contaminations des cires sur les abeilles.

Tableau 60 : Recommandations relatives aux données écotoxicologiques et leur centralisation

Favoriser l'accès aux connaissances sur les effets des contaminants sur les abeilles :

- créer une base de données centralisée des données toxicologiques concernant l'abeille et les larves d'abeilles, inexistante à ce jour, mais nécessaire et attendue par l'ensemble des chercheurs scientifiques et des acteurs de la filière apicole. Cette base de données devra être rendue accessible à tous ;
- rendre accessibles l'ensemble des données d'écotoxicologie issues des dossiers d'évaluation des substances au niveau européen, dans un premier temps. L'obtention de ces données individuellement, nécessite aujourd'hui encore de rechercher dans les documents d'évaluation des substances : les DAR¹⁰⁷ et les RAR¹⁰⁸, parfois non accessibles *in extenso* dans la base de données officielle OpenEFSA¹⁰⁹ ;
- utiliser les lignes directrices proposées par l'EFSA (2013) pour l'évaluation écotoxicologique des substances au niveau européen qui doivent permettre l'obtention de données quant aux : (i) risque de contact aigu ; (ii) risque alimentaire aigu ; (iii) risque alimentaire chronique ; (iv) risque alimentaire pour les larves ;

Améliorer les connaissances sur les effets des contaminations des cires sur les abeilles et les larves :

- collecter, pour créer une base de données partagée, les données toxicologiques pour les abeilles et les larves concernant les médicaments vétérinaires, les produits phytopharmaceutiques et les produits biocides. La base de données devrait être mise à jour régulièrement afin d'y inclure les données obtenues lors des nouvelles évaluations de chaque substance. Les usages des molécules et les dates d'autorisation ainsi que les nouvelles interdictions au niveau européen et français devraient faire partie des données incluses dans cette base ;
- définir les valeurs toxicologiques de référence pour l'abeille et la larve, y compris chroniques, pour l'ensemble des substances contaminantes ;
- augmenter et standardiser le panel d'analyses pour évaluer les effets sublétaux (pouvant affecter le bon fonctionnement de la colonie, y compris les approches génomiques), pour tous les stades de développement et castes ;

¹⁰⁷ DAR : Projet de rapport d'évaluation (DAR) concernant une substance active transmis par un Etat membre rapporteur à l'EFSA

¹⁰⁸ RAR : Rapport d'évaluation de renouvellement (RAR) concernant une substance active transmis par un Etat membre rapporteur à l'EFSA

¹⁰⁹ [Chemical Hazards Database \(OpenFoodTox\) | EFSA](#)

- se doter d'outils permettant d'évaluer les co-expositions et leurs effets : pour un produit qui fait l'objet d'un mélange de plusieurs substances actives, chaque substance est évaluée individuellement au niveau européen jusqu'alors.

9.9 Recommandations de recherches

Les recommandations de recherches figurent dans le Tableau 61, elles ont pour objectifs d'améliorer la qualité des cires apicoles ; améliorer les outils d'évaluation du risque chimique ; améliorer la détection de l'adultération ; améliorer les connaissances sur le devenir et les effets des adultérants dans les cires d'abeilles ; étudier le transfert de molécules entre les matrices (comportement contaminant/adultérant entre les matrices) ; améliorer la surveillance des cires.

Tableau 61 : Recommandations de recherches

Améliorer la qualité des cires apicoles :

- étudier et identifier les processus de destruction ou d'utilisation des cires de mauvaise qualité et non utilisables en filière apicole ;
- étudier les effets des traitements nécessaires à la stérilisation de la cire, sur la réduction et la transformation des contaminants chimiques ;
- étudier des méthodes actives de décontamination de la cire, ne contribuant pas, elle-même, à sa contamination (cf. Navarro-Hortal et al. (2019)) ;
- étudier l'effet des biotechnologies émergentes dans la production/recyclage de la cire ;

Améliorer les outils d'évaluation du risque chimique :

- faire évoluer l'outil d'évaluation du risque chimique en ligne (Bee Tox Wax : <https://www.beetools.uliege.be/beetoxwax/>) afin d'y inclure toutes les substances chimiques pour lesquelles des DL₅₀ pour les abeilles sont disponibles, déterminer comment les effets cocktails pourraient être pris en compte ainsi que la toxicité larvaire ;
- établir une corrélation entre un score de risque chimique (QR) de BeeToxWax (dans l'idéal, tenant compte des effets cocktails et de NOAEC et LOAEC pour les adultes et les larves) et des effets sur les individus et/ou la colonie ;

Améliorer la détection de l'adultération :

- étudier par des techniques d'analyses actuelles, la composition de la cire naturelle d'abeilles afin de pouvoir se référer à des quantités et à des profils moléculaires, en particulier, d'acides et d'alcools gras ainsi que d'hydrocarbures naturellement présents dans la cire et permettre ainsi l'identification de cires adultérées ;
- déterminer la présence et la quantité d'antibiotiques présents dans les cires, compte-tenu de l'internationalisation du commerce des cires et bien que l'usage des antibiotiques soit interdit en France, vérifier l'absence d'activité

résiduelle de ces molécules et en conséquence l'absence d'action possible sur les agents pathogènes et dans des phénomènes de résistance ;

Améliorer les connaissances sur le devenir et les effets des adultérants dans les cires d'abeilles :

- déterminer les caractères de toxicité des substances adultérantes potentiellement présentes dans la cire pour les abeilles et la colonie, afin de pouvoir en évaluer le risque ;
- étudier les effets combinés des substances contaminantes et adultérantes entre elles ;
- rechercher comment intégrer, dans un outil d'évaluation de risque, les effets synergiques et antagonistes de substances mélangées au sein d'une même matrice ;

Étudier le transfert de molécules entre les matrices (comportement contaminant/adultérant entre les matrices) :

- étudier le transfert entre matrices et caractériser les facteurs de transfert, en particulier pour les substances les plus prévalentes ou toxiques ;

Améliorer la surveillance des cires :

- lister toutes les molécules (physiques et chimiques) susceptibles d'être présentes dans la matrice cire (HAP/dioxines/glyphosate/antibiotiques, etc.) afin de faire évoluer la liste de molécules à rechercher par les méthodes d'analyses multirésidus fonctionnant en *a priori* ;
- mettre en œuvre une évaluation de risque cumulative à partir des données de contamination et d'adultération collectées par les études de terrains conduites en France hexagonale. L'intérêt de cette évaluation de risque est de ne pas raisonner danger par danger mais d'envisager la palette de tous les dangers contenus dans la cire.

9.10 Recommandation pour une veille sanitaire internationale

Les experts recommandent de **mettre en place une veille sanitaire internationale concernant la contamination et l'adultération de la cire d'abeilles** :

- être capable d'identifier un éventuel nouveau type d'adultération ou de contaminant (démarche sans *a priori*) en vue d'anticiper la surveillance ; fonder cette veille sur des méthodes qui permettraient d'anticiper, par exemple, le modèle thématique peut être utilisé pour traiter rapidement des informations dans les médias, soutenir la définition de filtres pour la fraude alimentaire plus spécifiques sur EMM/MEDISYS (Rortais et al. 2021). L'usage de tels modèles devrait permettre de localiser les sources d'adultération ou de contamination et d'anticiper les éventuels effets via une surveillance précoce ciblée.

9.11 Dix recommandations pour une amélioration rapide de la qualité de la cire sélectionnées par les experts du GT Cires

Parmi l'ensemble des 132 recommandations listées, dix d'entre elles ont été sélectionnées par les experts du GT pour leur importance, leur efficacité supposée et leur impact pour une amélioration rapide de la qualité de la cire (cf. Tableau 62). Elles sont présentées par ordre alphabétique des acteurs concernés. La méthode utilisée est consultable en Annexe 11.

Tableau 62 : Dix recommandations sélectionnées par les experts comme les plus opérationnelles et ayant un impact potentiellement rapide

Type d'acteur	Recommandation du GT
Apiculteurs	Mettre en œuvre toutes les démarches permettant, à la fois, de proposer au recyclage et de se fournir soi-même en cires apicoles de très bonne qualité : – identifier clairement l'origine de sa cire fondue, opercules d'une part et cires de cadres d'autre part, seule la première catégorie étant conservée pour un usage apicole après recyclage ; – recyclage de lots personnalisés provenant d'opercules (voire de cadres de hausses si les BPA sont respectées) ; – livraison au cirier ou au collectif d'apiculteurs de la cire du même type (opercules ou cadres de hausses si BPA parfaitement respectées)
Apiculteurs	Favoriser les pratiques permettant de récupérer de la cire récemment sécrétée par les abeilles : bâtisse libre (lorsque les ressources sont abondantes), opercules, cire utilisée lors du piégeage de <i>Varroa destructor</i> dans le couvain de mâles, etc.
Apiculteurs	Respecter les BPA, telles qu'elles sont prescrites par l'ITSAP et notamment, renouveler régulièrement les cadres de corps, à raison de 25 à 33 % par an et par ruche ainsi que les cadre de hausses ¹¹⁰
Apiculteurs Collectifs d'apiculteurs	Dans le cadre de la lutte contre <i>V destructor</i> : – favoriser, dans la mesure du possible et des compétences de l'apiculteur, les médicaments vétérinaires acaricides qui ne s'accumulent pas dans la cire (acide oxalique et acide formique) et les méthodes biotechniques ¹¹¹ ; – respecter les durées et doses prescrites des autres médicaments vétérinaires apicoles de manière à limiter l'accumulation de résidus dans les cires et éviter une surexposition des colonies ; – éviter les substances varroocides pour lesquelles la toxicité pour les abeilles est élevée (correspondant à une DL₅₀ faible)
Ciriers	Indiquer la provenance géographique de la cire pour tous les lots commercialisés, ainsi que sa composition relative s'il s'agit d'un mélange de cires

¹¹⁰ https://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/wp-content/uploads/2018/09/Pages-de-ITSAP-GBPA-MAJ_2018-Fiche_R3-Web.pdf

https://www.ada-aura.org/wp-content/uploads/2024/10/rucher_renouvellement_cadres.pdf

¹¹¹ https://www.ada-aura.org/wp-content/uploads/2024/10/rucher_lutte_contre_varroa.pdf

Type d'acteur	Recommandation du GT
Gestionnaire	Définir réglementairement la cire à usage apicole au niveau européen et si possible international. Un cadre réglementaire tenant compte de l'existant, basé sur une analyse de risque de type HACCP, permettrait d'agréer la cire à usage apicole
Gestionnaires Apiculteurs	D'une manière générale, surveiller les troubles de santé des abeilles et des colonies afin d'alerter le plus rapidement possible (Observatoire des Mortalités et des Affaiblissements de l'Abeille mellifère (OMAA), vétérinaire, encadrants sanitaires et techniques apicoles) et, plus particulièrement, suivre l'évolution de la colonie (acceptation de la cire, événements de santé, couvain) dans les semaines qui suivent l'introduction de la nouvelle cire
Gestionnaires et ciriers	Établir des seuils toxicologiques au-delà desquels une cire ne peut plus être utilisée en apiculture et, compte tenu des informations disponibles au moment de la rédaction de cet avis, tenir provisoirement compte d'un seuil de QR = 5 000 par l'utilisation de l'outil actuellement disponible en ligne (Bee Tox Wax)
Gestionnaires	Définir une obligation d'agrément homogène pour l'ensemble des ciriers de France, comprenant l'exigence d'une parfaite traçabilité ainsi que les responsabilités correspondantes à adapter et encadrer en fonction de la taille de la structure
Gestionnaires	Imposer le recueil d'informations sur les cires importées afin de classer les pains de cires dans une catégorie plus spécifique (destination : cosmétique, apicole, alimentaire, etc.) et réaliser des contrôles frontaliers plus approfondis

10 Conclusions du groupe de travail

Il est aujourd'hui admis que le déclin de la santé des abeilles, constaté depuis plusieurs décennies, est d'origine multifactorielle. En 2015, le rapport de l'Anses « Co-exposition des abeilles aux facteurs de stress¹¹² » faisait état d'un nombre important d'agents infectieux et parasitaires affectant les colonies d'abeilles et de nombreuses substances chimiques présentes dans les matrices apicoles (Anses 2015b). Ces éléments définissent le contexte actuel dans lequel vivent les colonies d'abeilles, dont le cycle biologique annuel doit s'adapter, en outre, à d'autres facteurs environnementaux (climat, alimentation, etc.). Dès lors, la conclusion de ce rapport indiquait déjà que les agents infectieux, parasitaires et chimiques, y compris les acaricides dans les cires, doivent être recherchés de manière concomitante, lors de surveillance active comme lors d'apparition de troubles dans les colonies (i.e. surveillance événementielle ou passive). La cire produite par les abeilles est en effet une substance de composition essentiellement lipidique dont les caractéristiques physico-chimiques permettent la fixation et la diffusion d'un grand nombre de résidus de substances chimiques lipophiles. Ainsi, ces cires contaminées pourraient être un facteur supplémentaire participant au déclin des abeilles mellifères.

Le groupe de travail « Cire d'abeilles » devait répondre à quatre questions, dans le cadre décrit ci-après :

« L'absence de cadre réglementaire relatif aux résidus de substances chimiques dans les cires conduit l'Agence à se poser des questions d'évaluation de risque spécifique pour les cires d'abeilles recyclées et/ou adultérées :

- Quelles sont les données existantes quant aux résidus de contaminants et d'adultérants dans les cires apicoles en France hexagonale ?
- Compte tenu des données de la France hexagonale, quel est le risque lié aux contaminations des cires d'abeilles par les produits phytopharmaceutiques, les biocides et les médicaments vétérinaires pour la santé des abeilles et de la colonie ?
- Compte tenu des données disponibles, quels sont les dangers liés à l'adultération des cires apicoles pour la santé des abeilles et de la colonie (caractérisation des dangers et le cas échéant, risque associé) ?
- Compte tenu des risques évalués et de l'objectif souhaité, quelles sont les recommandations qui permettraient de mieux contrôler la situation en France hexagonale ?

Ainsi que précisé dans ces différentes questions, les DROM (Départements et régions d'outre-mer) n'appartiennent pas au périmètre défini pour cette autosaisine. »

Les experts proposent les réponses suivantes :

Quelles sont les données existantes quant aux résidus de contaminants et d'adultérants dans les cires en France métropolitaine ?

Depuis 2018, l'ADA AURA (Association pour le Développement de l'Apiculture en Auvergne-Rhône-Alpes) a mis en place un observatoire de la qualité des cires¹¹³ dont l'objectif est de rendre compte de la qualité des cires utilisées dans les exploitations en collectant des échantillons de

¹¹² <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2012sa0176Ra.pdf>

¹¹³ <https://www.ada-aura.org/observatoire-de-la-qualite-des-cires/>

leurs adhérents pour élaborer des références. Cet observatoire permet de proposer à ses adhérents un état des lieux toxicologique de la cire introduite dans leurs colonies et de disposer d'une base de données régionale sur la qualité des cires dans les exploitations apicoles chez les professionnels et dans le commerce. Il s'agit de la seule initiative portant sur la surveillance de la qualité des cires au sein de la filière apicole à ce jour.

L'état des lieux de la bibliographie permet de faire le constat de contaminations et d'adultérations généralisées de la cire à usage apicole dans le monde. Les études de terrain françaises et leurs résultats analysés dans ce rapport (autocontrôles des ciriers, Cimeqa et CRD) ont conforté ce constat et ont permis de caractériser plus précisément la qualité des cires disponibles sur le marché français.

Cette qualité s'avère très variable selon son réseau de distribution (lot personnalisé > groupement d'apiculteurs > cirier > commerce spécialisé ou général), sa provenance géographique (France > mélange UE/non EU > pays tiers), sa nature (opercules > mélanges divers) et son type de production (AB > conventionnelle). Une part considérable des cires proposées aux apiculteurs français présente une qualité insuffisante pour garantir l'absence d'impact négatif sur la santé des abeilles (larves, ouvrières, reines et faux-bourçons) et l'équilibre vital des colonies.

Compte tenu des données françaises métropolitaines, quel est le risque lié aux contaminations des cires d'abeilles par les produits phytopharmaceutiques, les biocides et les médicaments vétérinaires pour la santé des abeilles et de la colonie ?

L'étude bibliographique et l'analyse des résultats obtenus à partir de cires apicoles utilisées en France permettent d'objectiver leur contamination par de nombreuses substances d'origines diverses (médicaments vétérinaires apicoles, PPP, biocides, ETM) et modes d'action variés (acaricides, insecticides, fongicides, herbicides, etc.).

Le risque pour la santé des abeilles et des colonies est avéré pour certaines substances présentes dans la cire, comme le coumaphos ou le chlorfenvinphos, lorsque leur teneur dans la cire est élevée. Des teneurs proches ont pu être objectivées dans les études de terrain conduites pour cette expertise ainsi que dans le deuxième cas clinique présenté au chapitre 7 (pour le coumaphos, 35 mg/kg de cire quantifié dans un échantillon de l'étude Cimeqa et 35 mg/kg pour le cas clinique. Pour le chlorfenvinphos, 2,1 mg/kg de cire quantifié dans un échantillon de l'étude Cimeqa). La multitude et la diversité des substances présentes concomitamment dans les cires est cependant alarmante compte tenu des effets cocktails et des effets sublétaux supposés qui ne peuvent toujours pas, au moment de la rédaction de ce rapport, être objectivés.

Le risque chimique a été évalué à partir du quotient de risque (QR). Les cires présentant un danger pour l'utilisation en apiculture avec un QR >5 000 sont présentes avec une proportion de moins de 5 % des cires utilisées en autorenouvellement (apiculteurs professionnels majoritairement) et près de 40 % pour les autres sources d'approvisionnement. Toutefois, le risque dépend beaucoup de la source d'approvisionnement et de la nature de la cire : 13 % des cires d'opercules présentent un QR >5 000 alors que près de 60 % des cires de mélanges présentent un QR >5 000. Les analyses des études de terrain françaises démontrent que, lorsque les bonnes pratiques sont respectées (utilisation des cires d'opercules, renouvellement des cadres, etc. cf. chapitre 9), avec un fonctionnement préférentiel en autorenouvellement, la qualité des cires s'en trouve nettement améliorée.

Dans le cas d'une référence aux seuils calculés pour établir des TAP (teneurs acceptables provisoires) pour chaque substance, 10 % des échantillons de la CRD dépassent ces valeurs limites (cf. chapitre 5.2.3). Dans le cas d'une référence au QR, près de 40 % des échantillons de

la CRD se situent au-dessus de la valeur seuil de 5 000 pour 4,6 % des échantillons de l'étude Cimeqa (cf. chapitre 5.4.4).

La famille de contaminants la plus préoccupante est celle des pyréthrinoïdes, et ce, d'autant plus que l'occurrence du PBO, synergisant de leur activité insecticide, est quasi-constante et renforce probablement leur pouvoir toxique vis-à-vis de l'abeille, même si ses teneurs observées dans la cire sont faibles. Les pyréthrinoïdes sont largement utilisés dans le monde et constituent les principes actifs de nombreux produits : PPP, biocides, médicaments vétérinaires apicoles et non apicoles.

De manière concordante avec l'état des lieux bibliographique au niveau européen, les substances varrocidés des médicaments vétérinaires autorisés en Europe sont très présentes dans les cires qui ont été étudiées par le GT mais n'ont qu'un impact mineur sur la santé de la colonie. Néanmoins, le cas de la fluméthrine (acaricide apicole autorisé en Europe) doit être examiné avec attention compte tenu de son niveau de toxicité pour les abeilles (considéré comme hautement toxique (Atkins, Greywood, et MacDonald 1975)).

La fréquence d'occurrence et à des teneurs élevées de certains contaminants dans les cires étudiées pose la question de leur(s) origine(s) et de leur persistance, tant dans la cire elle-même que dans l'environnement : acaricides apicoles qui ne sont plus autorisés en Europe ou qui ne l'ont jamais été, PPP interdits d'usage en Europe de longue date, etc. Le maintien de leurs usages dans certains pays tiers, voire leurs usages détournés et mésusages en France ou ailleurs dans le monde, amène à souligner la nécessité de contrôler efficacement la provenance réelle et la qualité des cires apicoles disponibles sur le marché français, quelle que soit leur origine géographique connue.

La tendance des contaminants chimiques à diffuser, à se disperser ou à s'accumuler dans les matrices apicoles est conditionnée par différents facteurs : quantité initiale de ces contaminants dans la cire de fondation, propriétés physico-chimiques des substances (solubilité dans l'eau, pression de vapeur, structure moléculaire, valeur de $\text{Log } P_{o/w}$ et lipophilie), traitements vétérinaires appliqués et durée d'application du traitement. Le niveau d'exposition des abeilles aux contaminants de la cire dépend à la fois de leur stade de développement (adulte ou immature), pour les voies topique et orale, et de la nature de leur alimentation (pollen, miel, pain d'abeille contaminés par la cire) pour la seule voie orale. Les conséquences de cette exposition varient en fonction du stade de développement de l'abeille (adulte ou immature). Des colonies d'abeilles exposées à un risque lié à la cire sont également exposées simultanément à d'autres matrices potentiellement contaminées, comme le nectar ou le pollen. Les effets combinés de ces différentes sources et substances nécessiteraient d'être pris en compte, mais aucun modèle ne le permet au moment de la rédaction de ce rapport. L'analyse du corpus scientifique disponible a mis en évidence la difficulté d'établir des corrélations entre la contamination des cires apicoles et le constat d'effets, tant sur les individus que pour les colonies.

Compte tenu des données disponibles, quels sont les dangers liés à l'adultération des cires d'abeilles pour la santé des abeilles et de la colonie (caractérisation des dangers et le cas échéant, risque associé) ?

Comme pour les contaminants chimiques, l'adultération est devenue un phénomène chronique, impliquant la présence de substances adultérantes quasi systématique, mais à de faibles teneurs. L'absence de critères de pureté clairement définis, couplée à l'absence de contrôles officiels de la qualité (authenticité) et aux difficultés d'interprétation des méthodes analytiques utilisées pour la détection de l'adultération compliquent la mise en évidence de l'adultération des cires.

L'adultérant le plus présent dans les cires apicoles est la paraffine. Les cires issues des circuits en autorenouvellement présentent une fréquence de quantification des hydrocarbures de

paraffine de 56 % alors que ce même critère est évalué à 84 % pour les cires des autres sources d'approvisionnement. Les lots de cires présentant des volumes insuffisants pour être pris en charge par les ciriers pourraient être mis en commun par des regroupements d'apiculteurs afin de réaliser un gaufrage personnalisé ou à façon, alternative à l'achat de cire dans le commerce pour lesquelles les plus hautes teneurs en hydrocarbures de paraffine ont été identifiées. Bien que cette adultération soit généralisée, sa teneur globale est faible (en moyenne < 1 %), ce qui conduit à supposer que son impact sur les colonies est à l'heure actuelle moins important qu'il n'a pu l'être par le passé. Au contraire, la stéarine/acide stéarique, bien que peu présente dans les cires étudiées, possède des effets néfastes sur la santé du couvain. Ainsi, une exposition à des concentrations croissantes de stéarine/acide stéarique induit une augmentation de la mortalité du couvain (LOAEL : 3 %) et stimule l'expression des certains gènes de l'immunité et de détoxification des nymphes (El Agrebi et al. 2024). Malgré ce constat de faibles teneurs de substances adultérantes, il convient de noter que chaque année des signalements sont effectués par les apiculteurs auprès de leurs référents sanitaires et techniques ainsi que d'OMAA dans les régions en disposant.

Compte tenu des risques évalués et de l'objectif souhaité, quelles sont les recommandations qui permettraient de mieux contrôler la situation en France ?

S'il est notable que l'alerte sur les effets de cires contaminées et/ou adultérées sur la santé des colonies a été donnée en premier lieu par des acteurs de la filière, il est nécessaire qu'aujourd'hui la prise de conscience soit générale, par l'ensemble des acteurs du secteur apicole, tant au niveau national qu'europpéen, afin de permettre la nécessaire et constante amélioration de la qualité des cires à usage apicole proposées aux apiculteurs français. Pour répondre à cet objectif, le GT propose à chacun des acteurs identifiés un panel de recommandations dont la mise en œuvre sollicite la responsabilisation de chacun.

Compte tenu de la situation alarmante, des recommandations sont émises à destination de tous les acteurs de la filière : les apiculteurs, les collectifs d'apiculteurs, les ciriers, les encadrants sanitaires et techniques apicoles, mais également à destination de l'Autorité compétente. Il sera nécessaire de doter la France d'un laboratoire national de référence agréé et de disposer d'une liste de laboratoires dédiés agréés et/ou reconnus¹¹⁴, pour les échanges internationaux, pour la collecte et la centralisation des données écotoxicologiques. Enfin, des recommandations de recherches et de mise en œuvre d'une veille sanitaire internationale sont également préconisées.

Éléments de réflexion/prospective des experts

Le constat de la dégradation de la qualité des cires proposées aux apiculteurs repose sur des manques majeurs, notamment de cadre réglementaire définissant une cire à usage technique apicole par sa composition précise et l'adjonction de seuils éventuels pour certaines substances à ne pas dépasser ou dont l'occurrence même pourrait être interdite. L'encadrement technique proposé pour la filière apicole française est récent, ce qui peut également expliquer ce phénomène par un manque de connaissances et de formation des acteurs sur des bonnes pratiques en lien avec la cire. Compte tenu de l'état des lieux de la contamination et de l'adultération des cires françaises, il convient à présent de proposer des actions, comme recommandées dans ce rapport, qui permettront d'assainir la filière cire, comme ce fut le cas pour les substances adultérantes dans les cires à la suite de l'enquête conduite par la BNEVP.

¹¹⁴https://www.legifrance.gouv.fr/affichCode.do?sessionId=011A9BB99ADBC1221D04C48E86AA06FC.tplgr32s_1?idSectionTA=LEGISCTA00006138392&cidTexte=LEGITEXT000006071367&dateTexte=20191025

Il a été nécessaire, compte tenu de l'absence de données disponibles, de circonscrire le périmètre de cette autosaisine à la santé des abeilles et des colonies de la France hexagonale.

Il conviendrait, compte tenu des différences de pratiques apicoles et agricoles, d'environnements et écosystèmes, de conduire un état des lieux similaire de la qualité des cires dans les départements et régions d'outre-mer français, et de mettre en œuvre, dès lors, les recommandations proposées par les experts pour ces territoires français.

L'autosaisine de l'Anses a pour seul objet la cire à usage apicole, les autres destinations et usages de la cire d'abeilles n'ont pas été traités. Si la cire à destination pharmaceutique ou de la chaîne alimentaire (E901) est soumise à des contrôles, pour de nombreuses autres utilisations (miel en rayons, films alimentaires, pâte à modeler, bougies, encaustiques, etc.), l'absence de contrôle (de ces cires probablement contaminées et adultérées au même titre que la cire à usage apicole, voire plus, puisqu'elle peut utiliser les cires d'abeilles considérées impropres pour un usage apicole) conduit à s'interroger en termes de santé publique. L'étude des potentiels effets de la contamination et adultération de la cire ne devrait pas se limiter à la santé des abeilles et des colonies, bien qu'elle soit considérée comme un sous-produit issu de l'apiculture (Rortais et al. 2021). Une prise en compte concomitante de la santé des abeilles, de la santé publique et de la santé environnementale, est une nécessité, comme cela est prôné dans la démarche One Health. Par ailleurs, les pollinisateurs dont l'Abeille mellifère sont essentiels pour le maintien de l'équilibre des écosystèmes du monde entier, les abeilles contribuant à la production de la majorité de nos cultures et elles sont des espèces clé de voûte, cruciales pour maintenir en bonne santé les milieux naturels.

Compte tenu de l'état des lieux des cires en France, il convient de rappeler l'importance de dispositifs limitant l'exposition des abeilles aux PPP (plans écophyto (2008), écoantibio (2011), pollinisateurs (2021), écoantiparasito (2022), par exemple) qui devraient avoir leurs pendants dans le domaine des biocides. Les recommandations émises conduisent à consolider encore l'état des lieux réalisé par la recherche de molécules aujourd'hui interdites en France, par exemple, les antibiotiques. D'autres substances non prises en compte dans cet état des lieux devraient également faire l'objet d'une recherche de leur présence : dangers chimiques (dioxines, HAP, par exemple) et dangers physiques (radionucléides, nanoparticules, microplastiques, par exemple).

La contamination des cires relève de la contamination générale de l'environnement et doit être prise en compte dans la démarche *One Health*. A ce titre, comme les plans qui ont été mis en place pour l'environnement et la santé publique : écoantibio, écoantiparasito, écophyto, etc., il est urgent de publier le « Plan d'actions cire » élaboré au sein de la DGAI. La contamination des cires françaises contribue au stress environnemental global auquel sont soumises les abeilles et participe à la perte annuelle des colonies sans qu'il soit possible au moment de la rédaction de ce rapport de quantifier ce phénomène. Il est donc important de réduire globalement l'exposition des abeilles aux différentes substances chimiques : médicaments, biocides, produits phytopharmaceutiques, dans tous leurs usages.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le groupe de travail et par le comité d'experts spécialisé : 9 septembre 2025

11 Bibliographie

11.1 Publications

- ADA France. 2024. « L'organisation de la filière apicole ». ADA France. 2024. <https://www.adafrance.org/lorganisation-de-la-filiere/>.
- Adamczyk, S., R. Lázaro, C. Pérez-Arquillué, S. Bayarri, et A. Herrera. 2010. « Impact of the use of fluvalinate on different types of beeswax from Spanish hives ». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 58 (3) : 733-39. <https://doi.org/10.1007/s00244-009-9387-7>.
- Adams, S.J., K. Heinrich, R.J. Fussell, S. Wilkins, H.M. Thompson, H.M. Ashwin, et M. Sharman. 2008. « Study of the distribution and depletion of chloramphenicol residues in bee products extracted from treated honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies ». *Apidologie* 39 (5) : 537-46. <https://doi.org/10.1051/apido:2008035>.
- Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire. 2018. « Comité scientifique de l'AFSCA -Avis 18-2018: Contamination et adultération de la cire d'abeille : risque pour la santé des abeilles ». dossier SciCom 2016/27. Bruxelles : Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire. Consulté le 9 janvier 2025. https://scicom.favv-afsca.be/comitescientifique/avis/2018/_documents/Avis18-2018_SciCom2016-27_residus_cire_santeabeilles.pdf.
- Albero, B., E. Miguel, et A.I. García-Valcárcel. 2023. « Acaricide residues in beeswax. Implications in honey, brood and honeybee ». *Environmental Monitoring and Assessment* 195 (4). <https://doi.org/10.1007/s10661-023-11047-6>.
- Alburaki, M., D. Chen, J.A. Skinner, W.G. Meikle, D.R. Tarpy, J. Adamczyk, et S.D. Stewart. 2018. « Honey bee survival and pathogen prevalence: from the perspective of landscape and exposure to pesticides ». *Insects* 9 (2). <https://doi.org/10.3390/insects9020065>.
- Aljedani, D.M. 2020. « Revealing some elements and heavy metals in honeybee and beeswax samples collected from different environments ». *Entomol. Appl. Sci. Lett.*, n° 7 : 89-101.
- Alkassab, A.T., G. Bischoff, D. Thorbahn, M. Frommberger, et J. Pistorius. 2022. « Transfer of xenobiotics from contaminated beeswax into different bee matrices under field conditions and the related exposure probability ». *Chemosphere* 307. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135615>.
- Alkassab, A.T., D. Thorbahn, M. Frommberger, G. Bischoff, et J. Pistorius. 2020. « Effect of contamination and adulteration of wax foundations on the brood development of honeybees ». *Apidologie* 51 (4) : 642-51. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00749-2>.
- Amulen, D.R., P. Spanoghe, M. Houbaken, A. Tamale, D.C. De Graaf, P. Cross, et G. Smagghe. 2017. « Environmental contaminants of honeybee products in Uganda detected using LC-MS/MS and GC-ECD ». *PLoS ONE* 12 (6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178546>.
- Afssa. 2008. « Une méthode qualitative d'estimation du risque en santé animale ». Maisons-Alfort : Afssa, 69 p. <https://www.anses.fr/system/files/SANT-Ra-MethodeRisque.pdf>
- Anses. 2013. « Actualisation des indicateurs de risque alimentaire lié aux résidus de pesticides (Avis 2013-SA-0138) ». Maisons-Alfort : Anses, 122 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/AUT2013sa0138.pdf>
- Anses. 2015a. « Guide de validation des méthodes d'analyses. Pôle Recherche et Référence ». Maisons-Alfort : Anses, 67 p. https://www.anses.fr/en/system/files/ANSES_GuideValidation.pdf
- Anses. 2015b. « Co-exposition des abeilles aux facteurs de stress. (2012-SA-0176) ». Maisons-Alfort : Anses, 268 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2012sa0176Ra.pdf>

- Anses. 2017. « Guide méthodologique pour la planification des expertises, l'analyse d'incertitude, la revue de la littérature et l'évaluation du poids des preuves ». Maisons-Alfort : Anses, 114 p. https://www.anses.fr/sites/default/files/Rapport_methologique_ACCMER.pdf
- Anses. 2019. « Demande d'autorisation de mise à disposition sur le marché pour le produit biocide NON FLAMMABLE AIRCRAFT INSECTICIDE PHENOTHRIN à base de 1R-trans-phénothrine, de la société PRODUITS SANITAIRES AERONEFS (Avis n° BC-UX019685-93) ». Maisons-Alfort : Anses, 9p. https://www.anses.fr/fr/system/files/biocides/evaluations/NONFLAMMAB_BC-UX019685-93_NA-MRP_Ans.pdf
- Anses. « Index des RCP ». Consulté le 15 octobre 2025. <https://www.ircp.anmv.anses.fr/>.
- Aquino, I.S., C.I. Abramson, et M.E. Payton. 1999. « A rapid bioassay for detection of adulterated beeswax ». *Journal of Entomological Science* 34 (3) : 265-72. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-34.3.265>.
- Atkins, E., E. Greywood, et R. MacDonald. 1975. « Toxicity of Pesticides and Other Agricultural Chemicals to Honey Bees ». *Laboratory Studies. University of California. Div. Agric. Sci. Leaflet 2287.*, 1-37.
- Barbançon, J.M. 2006. « Editorial "Les résidus de nos cires (...) » ». *La Santé de l'Abeille*, n° 211 (Jav-Fev) : 1-2.
- Baša Česnik, H., V. Kmecl, et Š. Velikonja Bolta. 2019. « Pesticide and veterinary drug residues in honey - validation of methods and a survey of organic and conventional honeys from Slovenia ». *Food Additives & Contaminants: Part A* 36 (9) : 1358-75. <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1631492>.
- Bauer, D., et K. Bienefeld. 2013. « Hexagonal comb cells of honeybees are not produced via a liquid equilibrium process ». *Naturwissenschaften* 100 (1) : 45-49. <https://doi.org/10.1007/s00114-012-0992-3>.
- Bendali, F., F. Meziani, S. Franco, et P. Hendriks. 2013. « Bilan de la surveillance des maladies et troubles des abeilles sur l'année 2013 | Bulletin épidémiologique ». Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation 64. Maisons-Alfort : Anses. Consulté le 10 janvier 2025. <https://be.anses.fr/fr/node/109>.
- Benito-Murcia, M., C. Bartolomé, X. Maside, J. Bernal, J.L. Bernal, M. Jesús Del Nozal, A. Meana, C. Botías, R. Martín-Hernández, et M. Higes. 2021. « Residual Tau-Fluvalinate in Honey Bee Colonies Is Coupled with Evidence for Selection for Varroa destructor Resistance to Pyrethroids ». *Insects* 12 (8) : 731. <https://doi.org/10.3390/insects12080731>.
- Bernal, J.L., M.J. Del Nozal, L. Toribio, J.J. Jiménez, et J. Atienza. 1997. « High-performance liquid chromatographic determination of benomyl and carbendazim residues in apian samples ». *Journal of Chromatography A* 787 (1-2) : 129-36. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00633-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00633-X).
- Bernal, J.L., J.J. Jiménez, M.J. Del Nozal, L. Toribio, et M.T. Martín. 2005. « Physico-chemical parameters for the characterization of pure beeswax and detection of adulterations ». *European Journal of Lipid Science and Technology* 107 (3) : 158-66. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200401105>.
- Bischoff, K., N. Baert, et S. McArt. 2023. « Pesticide contamination of beeswax from managed honey bee colonies in New York State ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 35 (6) : 617-24. <https://doi.org/10.1177/10406387231199098>.
- Boelter, A.M., et W.T. Wilson. 1984. « Effect of methyl parathion vapors from contaminated pollen on honey bees (Hymenoptera: Apidae) within a hive ». *Environmental Entomology* 13 (5) : 1233-36. <https://doi.org/10.1093/ee/13.5.1233>.
- Bogdanov, S. 2004. « Beeswax: Quality issues today ». *Bee World* 85 (3) : 46-50. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2004.11099623>.

- . 2006. « Contaminants of bee products ». *Apidologie* 37 (1) : 1-18. <https://doi.org/10.1051/apido:2005043>.
- . 2016. « Beeswax: Production, Properties, Composition, Control ». *Bee Product Science*, avril, 18 p. https://www.researchgate.net/publication/304012435_Beeswax_Production_Properties_Composition_Control.
- Bogdanov, S., V. Kilchenmann, et A. Imdorf. 1998. « Acaricide residues in some bee products ». *Journal of Apicultural Research* 37 (2) : 57-67. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100956>.
- Boi, M., G. Serra, R. Colombo, M. Lodesani, S. Massi, et C. Costa. 2016. « A 10 year survey of acaricide residues in beeswax analysed in Italy ». *Pest Management Science* 72 (7) : 1366-72. <https://doi.org/10.1002/ps.4161>.
- Bommuraj, V., Y. Chen, H. Klein, R. Sperling, S. Barel, et J.A. Shimshoni. 2019. « Pesticide and trace element residues in honey and beeswax combs from Israel in association with human risk assessment and honey adulteration ». *Food Chemistry* 299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125123>.
- Bonzini, S., P. Tremolada, I. Bernardinelli, M. Colombo, et M. Vighi. 2011. « Predicting pesticide fate in the hive (part 1): Experimentally determined τ -Fluvalinate residues in bees, honey and wax ». *Apidologie* 42 (3) : 378-90. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0011-2>.
- Brigade Nationale d'Enquêtes Vétérinaires et Phytosanitaires (BNEVP) Martinet, J.P., J.P. Carlier, J.B. Davaine. 2018. *Enquête sur la filière française de transformation des cires d'abeilles à usage apicole* <https://agriculture.gouv.fr/telecharger/92154?token=d22622bf233444ebde1a0110ef2c08cece6b3fa2a3700b50a943ea919d5cb2e3>.
- Bruneau, E. 2002. « Cadres de bâtis Stop ou encore ». *Actu Api*, L'essentiel du programme européen miel, , n° 20 : 8 p.
- Calatayud-Vernich, P., F. Calatayud, E. Simó, J.A. Pascual Aguilar, et Y. Picó. 2019. « A two-year monitoring of pesticide hazard in-hive: High honey bee mortality rates during insecticide poisoning episodes in apiaries located near agricultural settings ». *Chemosphere* 232 : 471-80. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.170>.
- Calatayud-Vernich, P., F. Calatayud, E. Simó, et Y. Picó. 2017. « Occurrence of pesticide residues in Spanish beeswax ». *Science of the Total Environment* 605-606 : 745-54. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.174>.
- . 2018. « Pesticide residues in honey bees, pollen and beeswax: Assessing beehive exposure ». *Environmental Pollution* 241 : 106-14. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.062>.
- Carayon, J.L., N. Téné, E. Bonnafé, J. Alayrangues, L. Hotier, C. Armengaud, et M. Treilhou. 2014. « Thymol as an alternative to pesticides: persistence and effects of Apilife Var on the phototactic behavior of the honeybee *Apis mellifera* ». *Environmental Science and Pollution Research* 21 (7) : 4934-39. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2143-6>.
- CARI, A. Fayet. 2025. « FICHE : L'abeille mellifère et la protection du nid ». CARI. 10 janvier 2025. <https://www.cari.be/L-abeille-mellifere-et-la-protection-du-nid.html>.
- Carroll, M.J., V. Corby-Harris, N. Brown, L. Snyder, et D.C. Reitz. 2022. « Methoxyfenozide has minimal effects on replacement queens but may negatively affect sperm storage ». *Apidologie* 53 (3). <https://doi.org/10.1007/s13592-022-00940-7>.
- Cartín-Rojas, A. 2017. « Food fraud and adulteration: A challenge for the foresight of Veterinary Services ». *OIE Revue Scientifique et Technique* 36 (3) : 1015-24. <https://doi.org/10.20506/rst36.3.2733>.
- Castro, A.V., S.K. Medici, E.G. Sarlo, et M.J. Eguaras. 2010. « Effects of paraffin incorporation in beeswax foundations on comb-building and brood survivorship in *Apis Mellifera*

- colonies ». *Zootechnia Tropical* 28 (3). <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-79956267518&partnerID=40&md5=302db997f7242c36d54fbc81b91abfa0>.
- Chassin, P., D. Baize, P. Cambier, et T. Sterckeman. 1996. « Les éléments traces métalliques et la qualité des sols. Impacts à moyen et long terme ». *Etude et Gestion des Sols* 3 (décembre) : 297-305.
- Chauzat, M.P., P. Carpentier, A.C. Martel, S. Bougeard, N. Cougoule, P. Porta, J. Lachaize, F. Madec, M. Aubert, et J.-P. Faucon. 2009. « Influence of pesticide residues on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony health in France ». *Environmental Entomology* 38 (3) : 514-23. <https://doi.org/10.1603/022.038.0302>.
- Chauzat, M-P., et J.-P. Faucon. 2007. « Pesticide residues in beeswax samples collected from honey bee colonies (*Apis mellifera* L.) in France ». *Pest Management Science* 63 (11) : 1100-1106. <https://doi.org/10.1002/ps.1451>.
- Chauzat, M.P., A. Martel, N. Cougoule, P. Porta, J. Lachaize, S. Zeggane, M. Aubert, P. Carpentier, et J.-P. Faucon. 2011. « An assessment of honeybee colony matrices, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to monitor pesticide presence in continental France ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 30 (1) : 103-11. <https://doi.org/10.1002/etc.361>.
- Chęć, M., K. Olszewski, P. Dziechciarz, P. Skowronek, M. Pietrow, G. Borsuk, M. Bednarczyk, G. Jasina, J. Jasina, et M. Gagoś. 2021. « Effect of stearin and paraffin adulteration of beeswax on brood survival ». *Apidologie* 52 (2) : 432-46. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00833-7>.
- Ćirić, J., D. Spirić, T. Baltić, I. Branković Lazić, D. Trbović, N. Parunović, R. Petronijević, et V. Đorđević. 2021. « Honey Bees and Their Products as Indicators of Environmental Element Deposition ». *Biological Trace Element Research* 199 (6) : 2312-19. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02321-6>.
- Collins, A.M., J.S. Pettis, R. Wilbanks, et M.F. Feldlaufer. 2004. « Performance of honey bee (*Apis mellifera*) queens reared in beeswax cells impregnated with coumaphos ». *Journal of Apicultural Research* 43 (3) : 128-34. <https://doi.org/10.1080/00218839.2004.11101123>.
- Collins, A.M., et J.S. Pettis. 2013. « Correlation of queen size and spermathecal contents and effects of miticide exposure during development ». *Apidologie* 44 (3) : 351-56. <https://doi.org/10.1007/s13592-012-0186-1>.
- Conti, M.E., M.L. Astolfi, M.G. Finoia, L. Massimi, et S. Canepari. 2022. « Biomonitoring of element contamination in bees and beehive products in the Rome province (Italy) ». *Environmental Science and Pollution Research* 29 (24) : 36057-74. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18072-3>.
- Conti, M.E., et F. Botrè. 2001. « Honeybees and Their Products as Potential Bioindicators of Heavy Metals Contamination ». *Environmental Monitoring and Assessment* 69 (3) : 267-82. <https://doi.org/10.1023/A:1010719107006>.
- Daniele, G., B. Giroud, C. Jabot, et E. Vulliet. 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 ». *Environmental Science and Pollution Research* 25 (7) : 6145-53. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9227-7>.
- Darchen, R., et P. Lavie. 1958. « Étude Préliminaire de quelques qualités des cires gaufrées présentées aux abeilles ». *Les Annales de l'Abeille* 1 (1) : 11-18.
- Davidson, B.C., et H.R. Hepburn. 1986. « Transformations of the acylglycerols in comb construction by honeybees ». *Naturwissenschaften* 73 (3) : 159-60. <https://doi.org/10.1007/BF00367408>.
- Desoky, A.E., N.S. Omran, M.O.M. Omar, M.H. Hussein, et M.M. Abd-Allah. 2019. « Heavy metals concentrations in bee products collected from contaminated and non-contaminated

- areas from Upper Egypt Governorates ». *JOURNAL OF ADVANCES IN AGRICULTURE* 10 (février) : 1657-66. <https://doi.org/10.24297/jaa.v10i0.8149>.
- De Souza, A.P.F. de, N.R. Rodrigues, A.R. Fernández-Alba, et F.G. Reyes Reyes. 2022. « Occurrence of pesticide residues in Brazilian *Apis mellifera* beeswax by gas chromatography-tandem mass spectrometry and pesticide hazard evaluation ». *Journal of Apicultural Research*. <https://doi.org/10.1080/00218839.2022.2043228>.
- Ebadi, R., et N.E. Gary. 1980. « Acceptance by Honeybee Colonies of Larvae in Artificial Queen Cells ». *Journal of Apicultural Research* 19 (2) : 127-32. <https://doi.org/10.1080/00218839.1980.11100011>.
- El Agrebi, N., L. Svečnjak, J. Horvatinec, V. Renault, A. Rortais, J.P. Cravedi, et C. Saegerman. 2021. « Adulteration of beeswax: A first nationwide survey from Belgium ». *PLOS ONE* 16 (9) : e0252806. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252806>.
- El Agrebi, N., K. Traynor, O. Wilmart, S. Tosi, L. Leinartz, E. Danneels, D.C. de Graaf, et C. Saegerman. 2020. « Pesticide and veterinary drug residues in Belgian beeswax: Occurrence, toxicity, and risk to honey bees ». *Science of the Total Environment* 745. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141036>.
- El Agrebi, N., O. Wilmart, B. Urbain, E.L. Danneels, D.C. de Graaf, et C. Saegerman. 2019. « Belgian case study on flumethrin residues in beeswax: Possible impact on honeybee and prediction of the maximum daily intake for consumers ». *Science of the Total Environment* 687 : 712-19. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.493>.
- El Agrebi, N. 2023. (TOOLS FOR) UNDERSTANDING AND IMPROVING HONEY BEE HEALTH. ULiège - Université de Liège [Médecine Vétérinaire], Liège, Belgium. <https://orbi.uliege.be/handle/2268/304080>.
- El Agrebi, N., L. De Smet, C. Douny, M.L. Scippo, L. Svečnjak, D.C. De Graaf, et C. Saegerman. 2024. « A field realistic model to assess the effects of pesticides residues and adulterants on honey bee gene expression ». Sous la direction de Muhammad Faisal Shahzad. *PLOS ONE* 19 (6) : e0302183. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0302183>.
- El Agrebi, N., K. Traynor, O. Wilmart, S. Tosi, L. Leinartz, E. Danneels, D.C. De Graaf, et C. Saegerman. 2020. « Pesticide and veterinary drug residues in Belgian beeswax: Occurrence, toxicity, and risk to honey bees ». *Science of The Total Environment* 745 (novembre) : 141036. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141036>.
- Estep, C.B., G.N. Menon, H.E. Williams, et A.C. Cole. 1977. « Chlorinated hydrocarbon insecticide residues in tennessee honey and beeswax ». *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 17 (2) : 168-74. <https://doi.org/10.1007/BF01685546>.
- EU Food Fraud Network. 2019. « Adulteration of beeswax intended for honey production with stearin and paraffin ». Commission européenne. https://food.ec.europa.eu/system/files/2019-04/food-fraud_succ-coop_beeswax.pdf.
- European Food Safety Authority (EFSA). 2010. « Application of systematic review methodology to food and feed safety assessments to support decision making ». *Efsa Journal* 8(6):1637 doi:10.2903/j.efsa.2010.1637
- . 2013. « EFSA Guidance Document on the risk assessment of plantprotection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees) ». *EFSA Journal* 2013;11(7):3295, 268 p. doi:10.2903/j.efsa.2013.3295
- . 2020. « Risk assessment of beeswax adulterated with paraffin and/or stearin/stearic acid when used in apiculture and as food (honeycomb) ». *EFSA Supporting Publications* 17 (5). <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2020.EN-1859>.
- FAOSTAT. Consulté le 15 octobre 2025. <https://www.fao.org/faostat/fr/#data/QCL>.
- Fernandez-Muiño, M.A., M.T. Sancho, S. Muniategui, J.F. Huidobro, et J. Simal-Lozano. 1995. « Acaricide Residues in Honey: Analytical Methods and Levels Found ». *Journal of Food Protection* 58 (4) : 449-54. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-58.4.449>.

- Fisher, A., II, et J. Rangel. 2018. « Exposure to pesticides during development Negatively affects honey bee (*Apis mellifera*) Drone sperm viability ». *PLoS ONE* 13 (12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208630>.
- Floris, I., A. Satta, P. Cabras, V.L. Garau, et A. Angioni. 2004. « Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: effectiveness, persistence, and residues ». *Journal of Economic Entomology* 97 (2) : 187-91. <https://doi.org/10.1093/jee/97.2.187>.
- Formicki, G., A. Gręń, R. Stawarz, B. Zyśk, et A. Gał. 2012. « Metal content in honey, propolis, wax, and bee pollen and implications for metal pollution monitoring ». *Pol. J. Environ. Stud.*, n° 22 : 99-106.
- FranceAgriMer. 2023. « Dossier de Presse pour le salon de l'agriculture 2023 ». Dossier de presse. Montreuil : FranceAgriMer. https://www.franceagrimer.fr/content/download/70547/document/DP_SIA_2023.pdf.
- . 2024a. « APICULTURE, Fiche filière ». Montreuil : FranceAgriMer. Consulté le 8 janvier 2025. https://www.franceagrimer.fr/content/download/72751/document/20240112_FICHE_FILIERE_APICULTURE%20_2024.pdf.
- . 2024b. « Publications | FranceAgriMer - établissement national des produits de l'agriculture et de la mer; Bilan de campagne miel 2023 ». Bilan campagne miel. Montreuil. Consulté le 16 janvier 2025. <https://www.franceagrimer.fr/Autres-filieres/Apiculture/Publications>.
- Fries, I., K. Wallner, et P. Rosenkranz. 1998. « Effects on *Varroa jacobsoni* from acaricides in beeswax ». *Journal of Apicultural Research* 37 (2) : 85-90. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100959>.
- Fröhlich, B., et M. Riederer. 2000. « Chemometric Classification of Comb and Cuticular Waxes of the Honeybee *Apis Mellifera Carnica* ». *Journal of Chemical Ecology* 26 (1) : 123-37. <https://doi.org/10.1023/A:1005493512305>.
- Fuente-Ballesteros, A., M.J. Nozal, A.M. Ares, et J. Bernal. 2023. « Evaluation of the potential migration of acaricides from stamped beeswax to honey simulating beehive conditions: A pilot study ». *Journal of Food Composition and Analysis* 123 (octobre) : 105542. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105542>.
- Fulton, C.A., K.E. Huff Hartz, R.D. Fell, C.C. Brewster, J.D. Reeve, et M.J. Lydy. 2019. « An assessment of pesticide exposures and land use of honey bees in Virginia ». *Chemosphere* 222 : 489-93. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.156>.
- Fulton, C.A., K.E. Huff Hartz, J.D. Reeve, et M.J. Lydy. 2019. « An Examination of Exposure Routes of Fluvalinate to Larval and Adult Honey Bees (*Apis mellifera*) ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 38 (6) : 1356-63. <https://doi.org/10.1002/etc.4427>.
- Gajger, I.T., M. Kosanović, V. Oreščanin, S. Kos, et N. Bilandžić. 2019. « Mineral Content in Honeybee Wax Combs as a Measurement of the Impact of Environmental Factors ». *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 103 (5) : 697-703. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02713-y>.
- Gajger, I.T., M. Kosanović, N. Bilandžić, M. Sedak, et B. Čalopek. 2016. « Variations in lead, cadmium, arsenic, and mercury concentrations during honeybee wax processing using casting technology ». *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 67 (3) : 223-28. <https://doi.org/10.1515/aiht-2016-67-2780>.
- García, M.D. Gil, S. Uclés Duque, A.B. Lozano Fernández, A. Sosa, et A.R. Fernández-Alba. 2017. « Multiresidue method for trace pesticide analysis in honeybee wax comb by GC-QqQ-MS ». *Talanta* 163 (janvier) : 54-64. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.10.083>.

- Goss, K.U., et R.P. Schwarzenbach. 2001. « Linear Free Energy Relationships Used To Evaluate Equilibrium Partitioning of Organic Compounds ». *Environmental Science & Technology* 35 (1) : 1-9. <https://doi.org/10.1021/es000996d>.
- Gouzy, A., et G. Ducos. 2008. « La connaissance des éléments traces métalliques : un défi pour la gestion de l'environnement ». *Air pur* 75 (janvier) : 6-10.
- Graham, K.K., M.O. Milbrath, Y. Zhang, N. Baert, S. McArt, et R. Isaacs. 2022. « Pesticide risk to managed bees during blueberry pollination is primarily driven by off-farm exposures ». *Scientific Reports* 12 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11156-1>.
- Grisot, L. 2025. « Démarche diagnostique des intoxications non aiguës des colonies d'abeilles : possibilités et limites pour le clinicien ». *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France* Janvier 2025 : 178. <https://doi.org/10.3406/bavf.2025.71117>.
- Haarmann, T., M. Spivak, D. Weaver, B. Weaver, et T. Glenn. 2002. « Effects of fluvalinate and coumaphos on queen honey bees (Hymenoptera: Apidae) in two commercial queen rearing operations. » *Journal of economic entomology* 95 (1) : 28-35. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-95.1.28>.
- Harriet, J., J.P. Campá, M. Grajales, C. Lhéritier, A. Gómez Pajuelo, Y. Mendoza-Spina, et L. Carrasco-Letelier. 2017. « Agricultural pesticides and veterinary substances in Uruguayan beeswax ». *Chemosphere* 177 : 77-83. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.131>.
- Hassona, N.M., et A.A. Abd El-Wahed. 2023. « Heavy Metal Concentrations of Beeswax (*Apis mellifera* L.) at Different Ages ». *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 111 (3) : 26. <https://doi.org/10.1007/s00128-023-03779-5>.
- Haydak, M.H. 1970. « Honey Bee Nutrition ». *Annual Review of Entomology* 15 (1) : 143-56. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.15.010170.001043>.
- Hepburn, H.R., R.T.F. Bernard, B.C. Davidson, W.J. Muller, P. Lloyd, S.P. Kurstjens, et S.L. Vincent. 1991. « Synthesis and secretion of beeswax in honeybees ». *Apidologie* 22 : 21-36.
- Hepburn, H.R., et S.P. Kurstjens. 1988. « THE COMBS OF HONEYBEES AS COMPOSITE MATERIALS ». *Apidologie* 19 (1) : 25-36. <https://doi.org/10.1051/apido:19880102>.
- Hepburn, H.R. 1986. *Honeybees and Wax*. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-71458-0>.
- Herrera López, S., A. Lozano, A. Sosa, M.D. Hernando, et A.R. Fernández-Alba. 2016. « Screening of pesticide residues in honeybee wax comb by LC-ESI-MS/MS. A pilot study ». *Chemosphere* 163 : 44-53. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.008>.
- Issa, M.M., S. M. Taha, A.M. El-Marsafy, M.M.H. Khalil, et E.H. Ismail. 2020. « Acetonitrile-Ethyl acetate based method for the residue analysis of 373 pesticides in beeswax using LC-MS/MS and GC-MS/MS ». *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 1145. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122106>.
- ITSAP Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation. 2018a. « Chapitre R – Guide des bonnes pratiques apicoles ». Paris XII : ITSAP. Consulté le 16 janvier 2025. <https://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/chapitre-r-conduite-des-ruchers/>.
- . 2018b. « Guide des bonnes pratiques apicoles ». 2018. <https://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/>.
- . 2024. « Dossier spécial Cire ». ITSAP. 2024. <https://itsap.asso.fr/articles/dossier-special-projet-cimeqa?fbclid=IwAR3yrQUOZ65mZ2IWWullg-86NVZyzFSDjxPXerkUQ4W9dRg9dMrr2fAgEJE#up>.
- Jabot, C., M. Fieu, B. Giroud, A. Buleté, H. Casabianca, et E. Vulliet. 2015. « Trace-level determination of pyrethroid, neonicotinoid and carboxamide pesticides in beeswax using dispersive solid-phase extraction followed by ultra-high-performance liquid

- chromatography-tandem mass spectrometry ». *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 95 (3) : 240-57. <https://doi.org/10.1080/03067319.2015.1016011>.
- Jiménez, J.J., J.L. Bernal, M.J. Del Nozal, et M.T. Martín. 2005. « Residues of organic contaminants in beeswax ». *European Journal of Lipid Science and Technology* 107 (12) : 896-902. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200500284>.
- Jiménez, J.J., J.L. Bernal, M.J. Del Nozal, L. Toribio, et J. Bernal. 2007. « Detection of beeswax adulterations using concentration guide-values ». *European Journal of Lipid Science and Technology* 109 (7) : 682-90. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200600308>.
- Kast, C., et V. Kilchenmann. 2022. « An in vitro model for assessing the toxicity of pesticides in beeswax on honey bee larvae ». *Chemosphere* 287. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132214>.
- Kast, C., V. Kilchenmann, et J.-D. Charrière. 2021. « Long-term monitoring of lipophilic acaricide residues in commercial Swiss beeswax ». *Pest Management Science* 77 (9) : 4026-33. <https://doi.org/10.1002/ps.6427>.
- Kast, C., V. Kilchenmann, et B. Droz. 2020. « Distribution of coumaphos in beeswax after treatment of honeybee colonies with CheckMite® against the parasitical mite Varroa destructor ». *Apidologie* 51 (1) : 112-22. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00724-6>.
- Kast, C., B. Droz, et V. Kilchenmann. 2023. « Toxicity of Coumaphos Residues in Beeswax Foundation to the Honey Bee Brood ». *Environmental Toxicology and Chemistry* 42 (8) : 1816-22. <https://doi.org/10.1002/etc.5645>.
- Kochansky, J., K. Wilzer, et M. Feldlaufer. 2001. « Comparison of the transfer of coumaphos from beeswax into syrup and honey ». *Apidologie* 32 (2) : 119-25. <https://doi.org/10.1051/apido:2001117>.
- Korta, E., A. Bakkali, L. A. Berrueta, B. Gallo, F. Vicente, V. Kilchenmann, et S. Bogdanov. 2001. « Study of Acaricide Stability in Honey. Characterization of Amitraz Degradation Products in Honey and Beeswax ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (12) : 5835-42. <https://doi.org/10.1021/jf010787s>.
- Kurstjens, S.P., H.R. Hepburn, F.R.L. Schoening, et B. C. Davidson. 1985. « The conversion of wax scales into comb wax by African honeybees ». *Journal of Comparative Physiology B* 156 (1) : 95-102. <https://doi.org/10.1007/BF00692930>.
- Lawrence, T.J., E.M. Culbert, A.S. Felsot, V.R. Hebert, et W.S. Sheppard. 2016. « Survey and risk assessment of apis mellifera (Hymenoptera: Apidae) exposure to neonicotinoid pesticides in Urban, Rural, and agricultural settings ». *Journal of Economic Entomology* 109 (2) : 520-28. <https://doi.org/10.1093/jee/tov397>.
- Ledjanac, S., F. Hoxha, N. Jasnić, A. Tasić, M. Jovanović, S. Blagojević, N. Plavša, et T. Tosti. 2024. « The Influence of the Chemical Composition of Beeswax Foundation Sheets on Their Acceptability by the Bee's Colony ». *Molecules* 29 (23) : 5489. <https://doi.org/10.3390/molecules29235489>.
- Li, Y., R.A. Kelley, T.D. Anderson, et M.J. Lydy. 2015. « Development and comparison of two multi-residue methods for the analysis of select pesticides in honey bees, pollen, and wax by gas chromatography-quadrupole mass spectrometry ». *Talanta* 140 : 81-87. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.03.031>.
- Lodesani, M., A. Pellacani, S. Bergomi, E. Carpana, T. Rabitti, et P. Lasagni. 1992. « Residue determination for some products used against Varroa infestation in bees ». *Apidologie* 23 (3) : 257-72. <https://doi.org/10.1051/apido:19920309>.
- Lozano, A., M.D. Hernando, S. Uclés, E. Hakme, et A.R. Fernández-Alba. 2019. « Identification and measurement of veterinary drug residues in beehive products ». *Food Chemistry* 274 : 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.055>.

- Luna, A., J.M. Flores, E. Miguel, A.R. Fernández-Alba, et M.D. Hernando. 2023. « Coumaphos residue transfer to honey bee brood (*Apis mellifera*) in realistic scenarios ». *Research in Veterinary Science* 159 (juin) : 106-24. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2023.04.016>.
- Maggi, M., E. Tourn, P. Negri, N. Szawarski, A. Marconi, L. Gallez, S. Medici, et al. 2016. « A new formulation of oxalic acid for Varroa destructor control applied in *Apis mellifera* colonies in the presence of brood ». *Apidologie* 47 (4) : 596-605. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0405-7>.
- Maia, M., et F.M. Nunes. 2013. « Authentication of beeswax (*Apis mellifera*) by high-temperature gas chromatography and chemometric analysis ». *Food Chemistry* 136 (2) : 961-68. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.003>.
- Manning, R. 2018. « Chemical residues in beebread, honey, pollen and wax samples collected from bee hives placed on canola crops in Western Australia ». *Journal of Apicultural Research* 57 (5) : 696-708. <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1494889>.
- Manzano Sánchez, L., M.J. Gómez Ramos, M.D.M. Gómez-Ramos, P. Parrilla Vazquez, J.M. Flores, et A. R. Fernández-Alba. 2021. « Presence, persistence and distribution of thymol in honeybees and beehive compartments by high resolution mass spectrometry ». *Environmental Advances* 5. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2021.100085>.
- Martel, A.C., S. Zeggane, C. Aurières, P. Drajnudel, J.P. Faucon, et M. Aubert. 2007. « Acaricide residues in honey and wax after treatment of honey bee colonies with Apivar® or Asuntol® 50 ». *Apidologie* 38 (6) : 534-44. <https://doi.org/10.1051/apido:2007038>.
- Marti, J.N.G., V. Kilchenmann, et C. Kast. 2022. « Evaluation of pesticide residues in commercial Swiss beeswax collected in 2019 using ultra-high performance liquid chromatographic analysis ». *Environmental Science and Pollution Research* 29 (21) : 32054-64. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18363-9>.
- Mattos, I.M. de, A.E.E. Soares, et D.R. Tapy. 2017. « Effects of synthetic acaricides on honey bee grooming behavior against the parasitic Varroa destructor mite ». *Apidologie* 48 (4) : 483-94. <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0491-9>.
- McAfee, A., J.P. Milone, B. Metz, E. McDermott, L.J. Foster, et D.R. Tapy. 2021. « Honey bee queen health is unaffected by contact exposure to pesticides commonly found in beeswax ». *Scientific Reports* 11 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94554-1>.
- Medici, S.K., M.D. Maggi, E.G. Sarlo, S. Ruffinengo, J.M. Marioli, et M.J. Eguaras. 2015. « The presence of synthetic acaricides in beeswax and its influence on the development of resistance in Varroa destructor ». *Journal of Apicultural Research* 54 (3) : 267-74. <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1145407>.
- Medici, S.K., A. Castro, E.G. Sarlo, J.M. Marioli, et M.J. Eguaras. 2012. « The concentration effect of selected acaricides present in beeswax foundation on the survival of *Apis mellifera* colonies ». *Journal of Apicultural Research* 51 (2) : 164-68. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.51.2.03>.
- Meikle, W.G., M. Weiss, et E. Beren. 2020. « Landscape factors influencing honey bee colony behavior in Southern California commercial apiaries ». *Scientific Reports* 10 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61716-6>.
- Michlig, M.P., A.C. Pacini, J. Merke, E.M. Orellano, R. Brasca, et M.R. Repetti. 2023. « Sublethal exposure to imidacloprid in commercial *Apis mellifera* colonies in early spring: performance of honey bees and insecticide transference between in-hive products ». *Apidologie* 54 (2). <https://doi.org/10.1007/s13592-023-00993-2>.
- Milone, J.P., et D.R. Tapy. 2021. « Effects of developmental exposure to pesticides in wax and pollen on honey bee (*Apis mellifera*) queen reproductive phenotypes ». *Scientific Reports* 11 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80446-3>.

- Ministère de l'Agriculture. 1936. *Statistique agricole de la France publiée par le ministère de l'agriculture. Direction de l'agriculture. Résultats généraux de l'enquête de 1929.* <https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k6209868t>.
- Ministry of Agriculture and Forestry. 2004. *Import risk analysis: Honey bee products*. Wellington, New Zealand : Biosecurity New Zealand, Ministry of Agriculture and Forestry. <https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/2789-honey-bee-products-import-risk-analysis-december-2004>.
- Mullin, C.A., M. Frazier, J.L. Frazier, S. Ashcraft, R. Simonds, D. vanEngelsdorp, et J.S. Pettis. 2010. « High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health ». *PLoS ONE* 5 (3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009754>.
- Murcia Morales, M., M.J. Gómez Ramos, P. Parrilla Vázquez, F.J. Díaz Galiano, M. García Valverde, V. Gámiz López, J. Manuel Flores, et A.R. Fernández-Alba. 2020. « Distribution of chemical residues in the beehive compartments and their transfer to the honeybee brood ». *Science of the Total Environment* 710. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136288>.
- Murcia-Morales, M., F.J. Díaz-Galiano, F. Vejsnæs, O. Kilpinen, J.J.M. Van der Steen, et A.R. Fernández-Alba. 2021. « Environmental monitoring study of pesticide contamination in Denmark through honey bee colonies using APIStrip-based sampling ». *Environmental Pollution* 290. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117888>.
- Murcia-Morales, M., J.J.M. Van der Steen, F. Vejsnæs, F.J. Díaz-Galiano, J.M. Flores, et A.R. Fernández-Alba. 2020. « APIStrip, a new tool for environmental contaminant sampling through honeybee colonies ». *Science of the Total Environment* 729. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138948>.
- Navarro-Hortal, M.D., F.J. Orantes-Bermejo, C. Sánchez-González, A. Varela-López, F. Giampieri, C. Torres Fernández-Piñar, J. Serra-Bonvehí, et al. 2019. « Industrial-Scale Decontamination Procedure Effects on the Content of Acaricides, Heavy Metals and Antioxidant Capacity of Beeswax ». *Molecules* 24 (8) : 1518. <https://doi.org/10.3390/molecules24081518>.
- Ngat, T.T., T.X. Lam, H.G. Minh, et N.T. Phuong Lien. 2020. « Honeybee products as potential bioindicators of heavy metals contamination from Northern Vietnam ». *Vietnam Journal of Biotechnology* 18 (2) : 373-84. <https://doi.org/10.15625/1811-4989/18/2/15086>.
- Niell, S., F. Jesús, C. Pérez, Y. Mendoza, R. Díaz, J. Franco, V. Cesio, et H. Heinzen. 2015. « QuEChERS adaptability for the analysis of pesticide residues in beehive products seeking the development of an agroecosystem sustainability monitor ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63 (18) : 4484-92. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00795>.
- Niell, S., F. Jesús, N. Pérez, C. Pérez, L. Pareja, S. Abbate, L. Carrasco-Letelier, et al. 2017. « Neonicotinoids transference from the field to the hive by honey bees: Towards a pesticide residues biomonitor ». *Science of The Total Environment* 581-582 (mars) : 25-31. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.011>.
- Nozal, M.J., E. Imaz, J.L. Bernal, J.L. Nieto, M. Higes, et J. Bernal. 2021. « An optimized extraction procedure for determining acaricide residues in foundation sheets of beeswax by using gas chromatography-mass spectrometry ». *Agronomy* 11 (4). <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY11040804>.
- Obregon, D., O. Guerrero, D. Sossa, E. Stashenko, F. Prada, B. Ramirez, C. Duplais, et K. Poveda. 2024. « Route of exposure to veterinary products in bees: Unraveling pasture's impact on avermectin exposure and tolerance in stingless bees ». Sous la direction de Zhonghe Zhou. *PNAS Nexus* 3 (3) : pgae068. <https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgae068>.

- OCDE. 2013. *Test No. 237: Honey Bee (Apis Mellifera) Larval Toxicity Test, Single Exposure*. OCDE Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. OCDE. <https://doi.org/10.1787/9789264203723-en>.
- . 2016. *Guidance Document on Honey Bee Larval Toxicity Test following Repeated Exposure*. OCDE Series on Testing and Assessment. OCDE. <https://doi.org/10.1787/af108c61-en>.
- OIE. 2007. *Code sanitaire pour les animaux terrestres. Analyse du risque à l'importation*. Chapitre 131 et 132. https://rr-africa.woah.org/app/uploads/2019/08/fr_csar-vol1-2018.pdf
- Olszewski, K., P. Dziechciarz, M. Trytek, et G. Borsuk. 2022. « A scientific note on the strategy of wax collection as rare behavior of *Apis mellifera* ». *Apidologie* 53 (4) : 40. <https://doi.org/10.1007/s13592-022-00948-z>.
- Orantes-Bermejo, F.J., A.G. Pajuelo, M.M. Megías, et C.T. Fernández-Piñar. 2010. « Pesticide residues in beeswax and beebread samples collected from honey bee colonies (*Apis mellifera* L.) in Spain. Possible implications for bee losses ». *Journal of Apicultural Research* 49 (3) : 243-50. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.3.03>.
- Ostiguy, N., F.A. Drummond, K. Aronstein, B. Eitzer, J.D. Ellis, M. Spivak, et W.S. Sheppard. 2019. « Honey bee exposure to pesticides: A four-year nationwide study ». *Insects* 10 (1). <https://doi.org/10.3390/insects10010013>.
- Payne, A.N., E.M. Walsh, et J. Rangel. 2019. « Initial exposure of wax foundation to agrochemicals causes negligible effects on the growth and winter survival of incipient honey bee (*Apis mellifera*) colonies ». *Insects* 10 (1). <https://doi.org/10.3390/insects10010019>.
- Perret-Maisonnette. 1928. « La France apicole : anciennes revues l'Union agricole et Basse-cour et rucher ». Gallica. 1 avril 1928. <https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k65533408>.
- Perugini, M., S.M.R. Tulini, D. Zezza, S. Fenucci, A. Conte, et M. Amorena. 2018. « Occurrence of agrochemical residues in beeswax samples collected in Italy during 2013–2015 ». *Science of the Total Environment* 625 : 470-76. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.321>.
- Pettis, J.S., A.M. Collins, R. Wilbanks, et M.F. Feldlaufer. 2004. « Effects of coumaphos on queen rearing in the honey bee, *Apis mellifera* ». *Apidologie* 35 (6) : 605-10. <https://doi.org/10.1051/apido:2004056>.
- Pie, M.R., R.B. Rosengaus, et J.F.A. Traniello. 2004. « Nest architecture, activity pattern, worker density and the dynamics of disease transmission in social insects ». *Journal of Theoretical Biology* 226 (1) : 45-51. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2003.08.002>.
- Piechowicz, B., A. Kuliga, D. Kobylarz, A. Koziorowska, L. Zaręba, M. Podbielska, I. Piechowicz, et S. Sadło. 2022. « A case study on the occurrence of pyrimethanil, cyprodinil and cyflufenamid residues in soil and on apple leaves, blossoms and pollen, and their transfer by worker bees to the hive ». *Journal of Plant Protection Research* 62 (2) : 176-88. <https://doi.org/10.24425/jppr.2022.141355>.
- Piechowicz, B., J. Sieńko, J. Mytych, P. Grodzicki, M. Podbielska, E. Szpyrka, L. Zaręba, I. Piechowicz, et S. Sadło. 2021. « Assessment of risk to honey bees and honey consumers resulting from the insect exposure to captan, thiacloprid, penthiopyrad, and λ -cyhalothrin used in a commercial apple orchard ». *Environmental Monitoring and Assessment* 193 (3). <https://doi.org/10.1007/s10661-021-08913-6>.
- Plateforme ESA. 2024. *Analyse des déclarations de troubles de santé à l'OMAA (2022-2023)*. 2024. <https://www.plateforme-esa.fr/fr/analyse-des-declarations-de-troubles-de-sante-lomaa-2022-2023>.
- Pohorecka, K., T. Szczesna, M. Witek, A. Miszczak, et P. Sikorski. 2017. « The exposure of honey bees to pesticide residues in the hive environment with regard to winter colony losses ». *Journal of Apicultural Science* 61 (1) : 105-25. <https://doi.org/10.1515/JAS-2017-0013>.

- Porrini, C., F. Mutinelli, L. Bortolotti, A. Granato, L. Laurenson, K. Roberts, A. Gallina, et al. 2016. « The status of honey bee health in Italy: Results from the nationwide bee monitoring network ». *PLoS ONE* 11 (5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155411>.
- Poupon, J. 2021. « Spectrométrie de masse en plasma induit : principe, appareillage et intérêt en biologie clinique ». *Revue Francophone des Laboratoires* 2021 (533) : 55-63. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(21\)00171-4](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(21)00171-4).
- Qi, S., X. Niu, D.H. Wang, C. Wang, L. Zhu, X. Xue, Z. Zhang, et L. Wu. 2020. « Flumethrin at sublethal concentrations induces stresses in adult honey bees (*Apis mellifera* L.) ». *Science of the Total Environment* 700. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134500>.
- Raimets, R., S. Naudi, M. Mänd, V. Bartkevičs, G. Smagghe, et R. Karise. 2022. « Translocation of Tebuconazole between Bee Matrices and Its Potential Threat on Honey Bee (*Apis mellifera* Linnaeus) Queens ». *Insects* 13 (1). <https://doi.org/10.3390/insects13010045>.
- Ravoet, J., W. Reybroeck, et D.C. De Graaf. 2015. « Pesticides for apicultural and/or agricultural application found in Belgian honey bee wax combs ». *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 94 (5) : 543-48. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1511-y>.
- 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 [online] ». Final report. Melle, Belgique : ILVO, Melle, Belgique. <https://www.health.belgium.be/de/node/31713>.
- Rhodes, H.A., W.T. Wilson, P.E. Sonnet, et A. Stoner. 1979. « Exposure of *Apis mellifera* to bee-collected pollen containing residues of microencapsulated methyl parathion ». *Environmental Entomology* 8 (6) : 944-48. <https://doi.org/10.1093/ee/8.4.944>.
- Robatscher, P., D. Eisenstecken, F. Sacco, H. Pöhl, J. Berger, A. Zanella, et M. Oberhuber. 2012. « Diphenylamine residues in apples caused by contamination in fruit storage facilities ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60 (9) : 2205-11. <https://doi.org/10.1021/jf204477c>.
- Rortais, A., F. Barrucci, V. Ercolano, J. Linge, A. Christodoulidou, J.P. Cravedi, R. Garcia-Matas, C. Saegerman, et L. Svečnjak. 2021. « A topic model approach to identify and track emerging risks from beeswax adulteration in the media ». *Food Control* 119 (janvier) : 107435. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107435>.
- Schryve, A. 2016. « État des lieux sur les cires à usage apicole utilisées en France métropolitaine: Évaluation des points critiques ». PhD Thesis, VetAgro Sup.
- Seeley, T.D., et R.A. Morse. 1976. « The nest of the honey bee (*Apis mellifera* L.) ». *Insectes Sociaux* 23 (4) : 495-512. <https://doi.org/10.1007/BF02223477>.
- Semkiw, P., et P. Skubida. 2013. « Comb construction and brood development on beeswax foundation adulterated with paraffin ». *Journal of Apicultural Science* 57 (1) : 75-83. <https://doi.org/10.2478/jas-2013-0009>.
- Serra Bonvehí, J., et F.J. Orantes Bermejo. 2012. « Detection of adulterated commercial Spanish beeswax ». *Food Chemistry* 132 (1) : 642-48. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.104>.
- . 2010. « Acaricides and their residues in Spanish commercial beeswax ». *Pest Management Science* 66 (11) : 1230-35. <https://doi.org/10.1002/ps.1999>.
- Shimshoni, J.A., R. Sperling, M. Massarwa, Y. Chen, V. Bommuraj, M. Borisover, et S. Barel. 2019. « Pesticide distribution and depletion kinetic determination in honey and beeswax: Model for pesticide occurrence and distribution in beehive products ». Sous la direction de Simone Tosi. *PLOS ONE* 14 (2) : e0212631. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212631>.
- Snodgrass, R.E. 1910. *The anatomy of the honey bee*. Washington, D.C : G.P.O. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.87234>.

- Strachecka, A., M. Chęć, K. Olszewski, P. Staniszevska, P. Dziechciarz, et M. Gagoś. 2024. « How does adulteration of wax foundation affect phenoloxidase and lysozyme activities as selected parameters of immunity in *Apis mellifera*? » *Journal of Veterinary Research* 68 (3) : 395-400. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2024-0040>.
- Svečnjak, L., G. Baranović, M. Vinceković, S. Prđun, D. Bubalo, et I.T. Gajger. 2015. « N approach for routine analytical detection of beeswax adulteration using ftir-atr spectroscopy ». *Journal of Apicultural Science* 59 (2) : 37-49. <https://doi.org/10.1515/JAS-2015-0018>.
- Svečnjak, L., L.A. Chesson, A. Gallina, M. Maia, M. Martinello, F. Mutinelli, M.N. Muz, et al. 2019. « Standard methods for *Apis mellifera* beeswax research ». *Journal of Apicultural Research* 58 (2) : 1-108. <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1571556>.
- Svečnjak, L., O. Jović, S. Prđun, J. Rogina, Z. Marijanović, J. Car, M. Matošević, et I. Jerković. 2019. « Influence of beeswax adulteration with paraffin on the composition and quality of honey determined by physico-chemical analyses, ¹ H NMR, FTIR-ATR and HS-SPME/GC-MS ». *Food Chemistry* 291 : 187-98. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.151>.
- Svečnjak, L., F.M. Nunes, R.G. Matas, J.-P. Cravedi, A. Christodoulidou, A. Rortais, et C. Saegerman. 2021. « Validation of analytical methods for the detection of beeswax adulteration with a focus on paraffin ». *Food Control* 120. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107503>.
- Svečnjak, L., S. Prđun, G. Baranović, M. Damić, et J. Rogina. 2018. « Alarming situation on the EU beeswax market: The prevalence of adulterated beeswax material and related safety issues ». *Program & abstracts book RurBee 8 8th congress of apidology*, 114-15.
- Svetikiene, D., G. Zamokas, M. Jokubaitė, M. Marksa, L. Ivanauskas, L. Babickaitė, et K. Ramanauskienė. 2024. « The Comparative Study of the Antioxidant and Antibacterial Effects of Propolis Extracts in Veterinary Medicine ». *Veterinary Sciences* 11 (8) : 375. <https://doi.org/10.3390/vetsci11080375>.
- Tanner, N., et B. Lichtenberg-Kraag. 2019. « Identification and Quantification of Single and Multi-Adulteration of Beeswax by FTIR-ATR Spectroscopy ». *European Journal of Lipid Science and Technology* 121 (12). <https://doi.org/10.1002/ejlt.201900245>.
- Thompson, H.M. 2012. « Interaction between pesticides and other factors in effects on bees ». *EFSA Supporting Publications* 9 (9). <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2012.EN-340>.
- Tihelka, E. 2018. « EFFECTS OF SYNTHETIC AND ORGANIC ACARICIDES ON HONEY BEE HEALTH: A REVIEW ». *SLOVENIAN VETERINARY RESEARCH* 55 (3). <https://doi.org/10.26873/SVR-422-2017>.
- Tokach, R., A. Smart, et J. Wu-Smart. 2023. « Re-using food resources from failed honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies and their impact on colony queen rearing capacity ». *Scientific Reports* 13 (1) : 18127. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-44037-2>.
- Tomé, H.V.V., D.R. Schmehl, A.E. Wedde, R.S.M. Godoy, S.V. Ravaiano, R.N.C. Guedes, G.F. Martins, et J.D. Ellis. 2020. « Frequently encountered pesticides can cause multiple disorders in developing worker honey bees ». *Environmental Pollution* 256. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113420>.
- Traynor, K.S., J.S. Pettis, D.R. Tarpy, C.A. Mullin, J.L. Frazier, M. Frazier, et D. VanEngelsdorp. 2016. « In-hive Pesticide Exposome: Assessing risks to migratory honey bees from in-hive pesticide contamination in the Eastern United States ». *Scientific Reports* 6. <https://doi.org/10.1038/srep33207>.
- Tremolada, P., I. Bernardinelli, M. Colombo, M. Spreafico, et M. Vighi. 2004. « Coumaphos distribution in the hive ecosystem: Case study for modeling applications ». *Ecotoxicology* 13 (6) : 589-601. <https://doi.org/10.1023/B:ECTX.0000037193.28684.05>.

- Tremolada, P., I. Bernardinelli, B. Rossaro, M. Colombo, et M. Vighi. 2011. « Predicting pesticide fate in the hive (part 2): Development of a dynamic hive model ». *Apidologie* 42 (4) : 439-56. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0012-1>.
- Tremolada, P., et M. Vighi. 2014. « Mathematical Models for the Comprehension of Chemical Contamination into the Hive ». Dans *In Silico Bees*. CRC Press.
- Tulloch, A.P. 1980. « Beeswax—Composition and Analysis ». *Bee World* 61 (2) : 47-62. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1980.11097776>.
- Tulloch, A.P. 1973. « Factors affecting analytical values of beeswax and detection of adulteration ». *Journal of the American Oil Chemists Society* 50 (7) : 269-72. <https://doi.org/10.1007/BF02641800>.
- Ullah, R., F.A. Jan, H. Gulab, S. Saleem, N. Ullah, et Wajidullah. 2022. « Metals Contents in Honey, Beeswax and Bees and Human Health Risk Assessment Due to Consumption of Honey: A Case Study from Selected Districts in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan ». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 82 (3) : 341-54. <https://doi.org/10.1007/s00244-021-00910-7>.
- Valdovinos-Flores, C., V.M. Alcantar-Rosales, O. Gaspar-Ramírez, L.M. Saldaña-Loza, et J.A. Dorantes-Ugalde. 2017. « Agricultural pesticide residues in honey and wax combs from Southeastern, Central and Northeastern Mexico ». *Journal of Apicultural Research* 56 (5) : 667-79. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1340798>.
- Valverde, S., A.M. Ares, J.L. Bernal, M.J. Nozal, et J. Bernal. 2018. « Fast determination of neonicotinoid insecticides in beeswax by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry using an enhanced matrix removal-lipid sorbent for clean-up ». *Microchemical Journal* 142 : 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.06.020>.
- VanEngelsdorp, D., J.D. Evans, L. Donovall, C. Mullin, M. Frazier, J. Frazier, D.R. Tarpy, J. Hayes Jr., et J.S. Pettis. 2009. « “Entombed Pollen”: A new condition in honey bee colonies associated with increased risk of colony mortality ». *Journal of Invertebrate Pathology* 101 (2) : 147-49. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.03.008>.
- Végh, R., M. Csóka, Z. Mednyánszky, et L. Sipos. 2023a. « Pesticide residues in bee bread, propolis, beeswax and royal jelly – A review of the literature and dietary risk assessment ». *Food and Chemical Toxicology* 176 (juin) : 113806. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.113806>.
- . 2023b. « Potentially toxic trace elements in bee bread, propolis, beeswax and royal jelly – A review of the literature and dietary risk assessment ». *Chemosphere* 339 (octobre) : 139571. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139571>.
- Vidal-Naquet, N. 2015. *Honeybee Veterinary Medicine: Apis mellifera L.* 5m Publishing.
- Vidau, C., J. Fourrier, S. Moreau, et C. Ferrus. 2023. « La cire d'abeille : Focus sur la contamination des feuilles gaufrées. » présenté à Assemblée générale de l'ADA BFC, février 21.
- Vuillaume, M. 1957. « Contribution a la psychophysiologie de l'élevage des Reines chez les Abeilles (I) ». *Insectes Sociaux* 4 (2) : 113-56. <https://doi.org/10.1007/BF02224148>.
- Wagoner, K.M., et O. Rueppell. 2017. « Effects of steel foundation wire on elemental content and hygienic removal of honey bee (*Apis mellifera*) brood ». *Journal of Apicultural Research* 56 (3) : 270-77. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1294525>.
- Wallner, K. 1999. « Varroacides and their residues in bee products ». *Apidologie* 30 (2-3) : 235-48. <https://doi.org/10.1051/apido:19990212>.
- . 2005. « Foundation causing honeybee brood damage ». Proceedings of ICPBR 9. International Symposium. York, United Kingdom : ICPBR.
- Walsh, E.M., M.A. Janowiecki, K. Zhu, N.H. Ing, E.L. Vargo, et J. Rangel. 2021. « Elevated mating frequency in honey bee (Hymenoptera: Apidae) queens exposed to the miticide amitraz

- during development ». *Annals of the Entomological Society of America* 114 (5) : 620-26. <https://doi.org/10.1093/aesa/saaa041>.
- Walsh, E.M., O. Khan, J. Grunseich, A.M. Helms, N.H. Ing, et J. Rangel. 2021. « Pesticide Exposure During Development Does Not Affect the Larval Pheromones, Feeding Rates, or Morphology of Adult Honey Bee (*Apis mellifera*) Queens ». *Frontiers in Ecology and Evolution* 9. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.681506>.
- Walsh, E.M., S. Sweet, A. Knap, N. Ing, et J. Rangel. 2020. « Queen honey bee (*Apis mellifera*) pheromone and reproductive behavior are affected by pesticide exposure during development ». *Behavioral Ecology and Sociobiology* 74 (3). <https://doi.org/10.1007/s00265-020-2810-9>.
- Waś, E., T. Szczęsna, et H. Rybak-Chmielewska. 2015. « Application of gas chromatography with the mass detector (GC-MS) technique for detection of beeswax adulteration with paraffin ». *Journal of Apicultural Science* 59 (1) : 143-52. <https://doi.org/10.1515/JAS-2015-0015>.
- Wilmart, O., A. Legrève, M.-L. Scippo, W. Reybroeck, B. Urbain, D.C. de Graaf, P. Spanoghe, P. Delahaut, et C. Saegerman. 2021. « Honey bee exposure scenarios to selected residues through contaminated beeswax ». *Science of the Total Environment* 772. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145533>.
- Wilmart, O., A. Legrève, M.-L. Scippo, W. Reybroeck, B. Urbain, D.C. de Graaf, W. Steurbaut, et al. 2016. « Residues in Beeswax: A Health Risk for the Consumer of Honey and Beeswax? » *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64 (44) : 8425-34. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02813>.
- Winston, M.L. 1991. *The biology of the honey bee*. 1. Harvard Univ. Press paperback ed. Cambridge, Mass. : Harvard University Press.
- Wu, J.Y., C.M. Anelli, et W.S. Sheppard. 2011. « Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honey bee (*apis mellifera*) development and longevity ». *PLoS ONE* 6 (2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014720>.
- Wueppenhorst, K., A.T. Alkassab, H. Beims, G. Bischoff, U. Ernst, E. Friedrich, I. Illies, et al. 2024. « Nurse honey bees filter fungicide residues to maintain larval health ». *Current Biology* 34 (23) : 5570-5577.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2024.10.008>.
- Yáñez, K.P., J.L. Bernal, M.J. Nozal, M.T. Martín, et J. Bernal. 2013a. « Determination of seven neonicotinoid insecticides in beeswax by liquid chromatography coupled to electrospray-mass spectrometry using a fused-core column ». *Journal of Chromatography A* 1285 : 110-17. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.02.032>.
- . 2013b. « Fast determination of imidacloprid in beeswax by liquid chromatography coupled to electrospray-mass spectrometry ». *Current Analytical Chemistry* 9 (3) : 495-503. <https://doi.org/10.2174/1573411011309030019>.
- Zafeiraki, E., R. Sabo, K.M. Kasiotis, K. Machera, L. Sabová, et T. Majchrák. 2022. « Adult Honeybees and Beeswax as Indicators of Trace Elements Pollution in a Vulnerable Environment: Distribution among Different Apicultural Compartments ». *Molecules* 27 (19). <https://doi.org/10.3390/molecules27196629>.
- Zavrtnik, S., J. Loborec, S. Kapelj, et I. Grčić. 2024. « Environmental Biomonitoring of Heavy and Toxic Metals Using Honeybees and Their Products—An Overview of Previous Research ». *Sustainability* 16 (19) : 8526. <https://doi.org/10.3390/su16198526>.

11.2 Législation et réglementation

- Arrêté du 15 avril 2019 relatif à la reconnaissance en qualité d'organisation interprofessionnelle d'InterApi - Interprofession des produits de la ruche.
<https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2019/4/15/AGRT1904415A/jo/texte>
- Arrêté du 8 décembre 2011 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés en application du règlement (CE) n° 1069/2009 et du règlement (UE) n° 142/2011.
<https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000025056078>
- Arrêté du 11 août 2006 fixant la liste des espèces, races ou variétés d'animaux domestiques.
https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2006/8/11/DEVN0650509A/jo/article_1
- Comité d'experts apicole rattaché au Conseil national d'orientation de la politique sanitaire animale et végétale (CNOPSAV apicole) <https://agriculture.gouv.fr/le-comite-dexperts-apicole-rattache-au-conseil-national-dorientation-de-la-politique-sanitaire>
- Directive 2006/114/CE du Parlement Européen et du Conseil du 12 décembre 2006 en matière de publicité trompeuse et de publicité comparative. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006L0114&from=ET>
- JORF. 2022. « Code de la consommation - Légifrance- Article L454-1 ». 18 août 2022.
https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000046194274.
- Règlement (CEE) n° 2658/87 du Conseil du 23 juillet 1987 relatif à la nomenclature tarifaire et statistique et au tarif douanier commun. <http://data.europa.eu/eli/reg/1987/2658/oj/fra>
- Règlement (CE) n° 178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires. <http://data.europa.eu/eli/reg/2002/178/oj/fra>
- 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.
<http://data.europa.eu/eli/reg/1987/2658/oj/fra>
- 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. <http://data.europa.eu/eli/reg/2005/396/oj/fra>
- 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). <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2009/169/oj/fra>
- Règlement (CE) n°1107/2009 du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives 79/117/CEE et 91/414/CEE du Conseil.
<http://data.europa.eu/eli/reg/2009/1107/oj/fra>
- Règlement (UE) n°37/2010 de la Commission du 22 décembre 2009 relatif aux substances pharmacologiquement actives et à leur classification en ce qui concerne les limites maximales de résidus dans les aliments d'origine animale.
[http://data.europa.eu/eli/reg/2010/37\(1\)/oj/fra](http://data.europa.eu/eli/reg/2010/37(1)/oj/fra)
- Règlement (UE) n°206/2010 de la Commission du 12 mars 2010 établissant des listes des pays tiers, territoires ou parties de pays tiers ou territoires en provenance desquels l'introduction dans l'Union européenne de certains animaux et viandes fraîches est autorisée, et définissant les exigences applicables en matière de certification vétérinaire.
<http://data.europa.eu/eli/reg/2010/206/oj/fra>

- 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. <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/142/oj/fra>
- 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. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2012/231/oj/fra>
- Règlement (UE) n°283/2013 de la Commission du 1^{er} mars 2013 établissant les exigences en matière de données applicables aux substances actives, conformément au règlement (CE) n° 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques. <http://data.europa.eu/eli/reg/2013/283/oj/fra>
- Règlement (UE) 2016/429 du Parlement Européen et du Conseil du 9 mars 2016 relatif aux maladies animales transmissibles et modifiant et abrogeant certains actes dans le domaine de la santé animale (législation sur la santé animale). <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2016/429/oj/fra>
- Règlement (UE) 2017/625 du Parlement européen et du Conseil du 15 mars 2017 concernant les contrôles officiels et les autres activités officielles servant à assurer le respect de la législation alimentaire et de la législation relative aux aliments pour animaux ainsi que des règles relatives à la santé et au bien-être des animaux, à la santé des végétaux et aux produits phytopharmaceutiques, modifiant les règlements du Parlement européen et du Conseil (CE) n° 999/2001, (CE) n° 396/2005, (CE) n° 1069/2009, (CE) n° 1107/2009, (UE) n° 1151/2012, (UE) n° 652/2014, (UE) 2016/429 et (UE) 2016/2031, les règlements du Conseil (CE) n° 1/2005 et (CE) n° 1099/2009 ainsi que les directives du Conseil 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE et 2008/120/CE, et abrogeant les règlements du Parlement européen et du Conseil (CE) n° 854/2004 et (CE) n° 882/2004, les directives du Conseil 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE et 97/78/CE ainsi que la décision 92/438/CEE du Conseil. <http://data.europa.eu/eli/reg/2017/625/oj/fra>
- Règlement d'exécution (UE) 2018/248 de la Commission du 15 février 2018 concernant l'autorisation de la 2,3-diéthylpyrazine, de la 2,5 ou 6-méthoxy-3-méthylpyrazine, de la 2-acétyl-3-éthylpyrazine, de la 2,3-diéthyl-5-méthylpyrazine, de la 2-(sec-butyl)-3-méthoxypyrazine, de la 2-éthyl-3-méthoxypyrazine, de la 5,6,7,8-tétrahydroquinoxaline, de la 2-éthylpyrazine et de la 5-méthylquinoxaline en tant qu'additifs pour l'alimentation de toutes les espèces animales. <http://data.europa.eu/eli/reg/2018/248/oj/fra>
- Règlement (UE) 2018/1515 de la Commission du 10 octobre 2018 modifiant les annexes III et V du règlement (CE) n° 396/2005 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne les limites maximales applicables aux résidus de diphénylamine et d'oxadixyl présents dans ou sur certains produits. <http://data.europa.eu/eli/reg/2018/1515/oj/fra>
- Règlement d'exécution (UE) 2018/1882 de la Commission du 3 décembre 2018 sur l'application de certaines dispositions en matière de prévention et de lutte contre les maladies à des catégories de maladies répertoriées et établissant une liste des espèces et des groupes d'espèces qui présentent un risque considérable du point de vue de la propagation de ces maladies répertoriées. http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2018/1882/oj/fra
- Règlement (UE) 2019/1021 du Parlement européen et du Conseil du 20 juin 2019 concernant les polluants organiques persistants (refonte). <http://data.europa.eu/eli/reg/2019/1021/oj/fra>
- Règlement d'exécution (UE) 2021/632 de la Commission du 13 avril 2021 portant modalités d'application du règlement (UE) 2017/625 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne les listes indiquant les animaux, les produits d'origine animale, les produits germinaux, les sous-produits animaux et les produits dérivés, les produits composés et le

foin et la paille soumis à des contrôles officiels aux postes de contrôle frontaliers et abrogeant le règlement d'exécution (UE) 2019/2007 de la Commission et la décision 2007/275/CE de la Commission (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE).
<http://data.europa.eu/eli/reg/2021/632/oj/fra>

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



2022-AUTO-0050



Décision N° 2022-032

AUTOSAISINE

Le directeur général de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses),

Vu le code de la santé publique, et notamment son article L. 1313-3 conférant à l'Anses la prérogative de se saisir de toute question en vue de l'accomplissement de ses missions,

Décide :

Article 1^{er} : L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail se saisit afin de réaliser une expertise dont les caractéristiques sont listées ci-dessous.

1.1 Thématiques et objectifs de l'expertise

L'expertise visera à :

- Identifier les substances de contamination et d'adultération¹ des cires d'abeilles en France ;
- Identifier les dangers et les risques associés à ces substances pour la santé des abeilles et de la colonie.

Objectif : Proposer des recommandations visant un meilleur contrôle de la situation en France.

1.2 Contexte de l'autosaisine

L'abeille domestique ou mellifère (*Apis mellifera*) est une espèce animale vivant en colonie. Pour cette espèce, contrairement aux autres espèces animales domestiques, la santé et les maladies s'apprécient essentiellement au niveau de la colonie et non pas pour chaque individu. La colonie peut être assimilée à un super-organisme qui maintient dans une société complexe une structure permettant la survie indéfinie du groupe alors que les individus n'ont qu'une vie éphémère. Une colonie d'abeilles domestiques compte 40 000 à 60 000 individus durant la belle saison et chute à 15 000 voire 5 000 en hiver.

Depuis bientôt trois décennies, on assiste à un déclin de la santé des abeilles, en France et dans le monde anthropisé et ce déclin est multifactoriel (paysage, usage de xénobiotiques, *Varroa destructor*,

¹ Pratique frauduleuse consistant en l'ajout d'un produit de moindre valeur à un autre produit, qui est alors vendu ou donné pour ce qu'il n'est pas (par exemple, ajout d'eau dans le lait, ou ajout d'une huile de mauvaise qualité dans une huile d'olive vendue comme étant de bonne qualité). Source : <https://www.techniques-ingenieur.fr/glossaire/adulteration>.



etc.). La survie des colonies d'abeilles (*Apis mellifera*) est déterminante à plusieurs niveaux : économique (filrière apicole, pollinisation des espèces cultivées), social (espèce emblématique) et écosystémique (espèce clé de voute, pollinisation des espèces végétales sauvages).

La cire d'abeille est une substance de composition essentiellement lipidique dont les caractéristiques physicochimiques permettent la fixation et la diffusion d'un grand nombre de résidus de xénobiotiques. Dans le cadre d'une conduite classique d'élevage apicole, les cires dites « gaufrées » qui vont servir de fondation pour la fabrication des cadres des corps de ruche et des hausses par les abeilles, sont issues d'un recyclage (par refonte puis façonnage en feuilles de cire) de cires d'opercules, de cadres de hausse, voire de cadre de corps. Cette cire est donc susceptible d'être recyclée et réutilisée pendant plusieurs années, pouvant accumuler des résidus divers. Les produits de la ruche, couvain, miel, pain d'abeille, etc. sont en contact direct avec la cire. Ces cires polluées pourraient être un facteur supplémentaire participant au déclin des abeilles mellifères.

Les bonnes pratiques apicoles d'utilisation et de recyclage des cires sont décrites dans le guide de bonnes pratiques apicoles de l'ITSAP (https://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/wp-content/uploads/2018/09/Pages-de-ITSAP-GBPA-MAJ_2018-Fiche_R3-Web.pdf).

La littérature scientifique européenne et internationale fait état de la contamination et de l'accumulation de résidus de différents xénobiotiques (issus de l'agriculture, de l'apiculture, voire également d'autres sources, par exemple : entretien des voiries, usages par les particuliers et tout autre contaminant environnemental) dans la cire d'abeille, le pain d'abeille, le miel, le couvain. Ces études font ressortir des niveaux élevés de contamination de la cire et notamment des cires commerciales recyclées, par des résidus de substances actives entrant dans la composition de médicaments vétérinaires apicoles (autorisés en France ou dans d'autres pays membres de l'UE), de produits phytopharmaceutiques et de biocides.

Par ailleurs, la demande française en cire dépasse la capacité de production nationale, nécessitant le recours à l'importation de cire dont la quantité et la qualité sont aujourd'hui inconnues (possible contamination par des produits chimiques interdits en France, ou adultération de cires). Il est supposé que deux tiers de la cire vendue en France seraient d'origine étrangère mais il n'existe pas de données officielles. De récents rapports font le constat de l'adultération de la cire et de ses conséquences sur la santé des abeilles et de la colonie (cf. AFSCA 2018, EFSA 2020).

L'exposition chronique *via* la cire, du couvain et des abeilles adultes à ces substances de contamination et d'adultération, est susceptible d'avoir un impact sur le développement, la santé et la survie des abeilles à leurs différents stades (larves, nymphes et adultes) et donc sur la santé de la colonie, de par leurs effets individuels, mais aussi (de par) leurs effets cumulatifs et leurs « effets cocktails », voire synergiques.

En France, le risque pour la santé des abeilles et de la colonie en lien avec la contamination des cires ou leur adultération peut être exploré sur la base de données d'analyses de contamination et d'adultération des cires françaises métropolitaines. Ces données sont issues des contrôles :

- réalisés par des ciriers français et correspondant à des autocontrôles sur la base du volontariat ;



- réalisés par la DGAI, enquêtes ciblées par la BNEVP (brigade nationale d'enquêtes vétérinaires et phytosanitaires). Il n'existe pas de dispositif de surveillance dédié géré par la DGAI. Les dispositifs de surveillance OMAA (Observatoire des mortalités et des affaiblissements de l'abeille mellifère), et MMA (réseau de surveillance des mortalités massives aiguës) peuvent conduire à des analyses de cire ;
- ou issues de programme de surveillance ou de recherche sur l'état sanitaire des colonies d'abeilles en France (ITSAP - Institut de l'abeille, ADA- Associations pour le développement de l'apiculture [régionales]).

1.3 Questions sur lesquelles portent les travaux d'expertise à mener

Si la cire en tant que produit alimentaire (miel en rayon, additif alimentaire) est soumise à des Limites Maximales de Résidus (LMR) de pesticides, fixées pour les « produits de la ruche » au sens large (règlement CE n°396/2005), il n'existe pas de réglementation spécifique pour la cire en tant qu'intrant dans la ruche concernant ces teneurs en résidus.

Concernant les substances pharmacologiquement actives, que l'on retrouve dans les médicaments vétérinaires à destination des abeilles, des LMR ne sont établies que pour le miel (règlement UE n°37/2010) et aucune évaluation des résidus n'est requise pour la cire dans le cadre de l'évaluation des médicaments vétérinaires, ce qui ne permet pas de connaître le niveau de contamination des cires après traitement et recyclage d'année en année.

Concernant l'adultération des cires en France, l'absence de données officielles n'a pas permis jusqu'alors de pouvoir caractériser le danger que représente les cires adultérées pour la santé de l'abeille et de la colonie.

L'absence de cadre réglementaire relatif aux résidus de substances chimiques dans les cires conduit l'Agence à se poser des questions d'évaluation de risque spécifique pour les cires d'abeilles recyclées et/ou adultérées.

- Quelles sont les données existantes quant aux résidus de contaminants et d'adultérants dans les cires en France métropolitaine ?
- Compte tenu des données françaises métropolitaines, quel est le risque lié aux contaminations des cires d'abeilles par les produits phytopharmaceutiques, les biocides et les médicaments vétérinaires pour la santé des abeilles et de la colonie ?
- Compte tenu des données disponibles, quels sont les dangers liés à l'adultération des cires d'abeilles pour la santé des abeilles et de la colonie (caractérisation des dangers et le cas échéant, risque associé) ?
- Compte tenu des risques évalués et de l'objectif souhaité, quelles sont les recommandations qui permettraient de mieux contrôler la situation en France ?



1.4 Durée prévisionnelle de l'expertise

La validation de l'avis issu des travaux d'expertise est prévue pour décembre 2023.

Article 2.- Un avis sera émis et publié par l'Agence à l'issue des travaux.

Fait à Maisons-Alfort, le **15 MARS 2022**

Dr Roger GENET
Directeur général

Annexe 2 : Méthode de fonte de la cire

Plusieurs méthodes peuvent être mises en œuvre pour obtenir la fonte de la cire :

- la **chaudière à vapeur** est constituée de deux cuves superposées. La cuve du dessus reçoit les cadres de cire à fondre et/ou les cires. Ces éléments sont déposés au fond de la cuve sur une grille métallique. La cuve du dessous contient de l'eau qui est portée à ébullition. La chaudière étant fermée par un couvercle, la vapeur d'eau permet de fondre la cire qui s'écoule vers l'extérieur par un tuyau pour être ensuite refroidie dans des bacs dédiés pour permettre une première purification par décantation des impuretés. En effet, la différence de densité entre la cire et les impuretés entraîne celles-ci vers le fond. La cire, en se refroidissant, se solidifie et les impuretés se retrouvent sous celle-ci. Elles sont ensuite retirées en grattant la cire après son démoulage et le produit solidifié obtenu constitue le pain de cire ;
- la méthode d'**extraction à l'eau chaude avec immersion forcée** consiste à placer la cire dans un sac de toile de jute fermé. Ce sac est lesté avec des poids et placé dans une marmite remplie d'eau. L'eau est alors portée à ébullition. Une fois la cire fondue, elle passe à travers le sac et remonte à la surface car sa densité est plus faible que celle de l'eau. En refroidissant, la cire se solidifie et est récupérée en pain de cire. Le sac retient les débris initialement présents dans la cire ;
- des méthodes de **pressage et de centrifugation** de la cire, associées à sa fonte dans de l'eau bouillante, peuvent également être employées ;
- la chaleur du soleil peut être utilisée avec un **cérificateur solaire**. Les cadres de cire sont placés dans le cérificateur fermé par une plaque en verre. Celle-ci va permettre le réchauffement de l'air à l'intérieur du cérificateur, en laissant passer les rayons du soleil. À partir de 68 à 70°C, la cire fond et s'écoule vers la partie inférieure de l'appareil.

Annexe 3 : Certificat sanitaire accompagnant les cires à l'import, issu du règlement CE (142/2011)

02011R0142 — FR — 17.04.2022 — 026.001 — 323

▼ **B**

CHAPITRE 13

Certificat sanitaire

pour les sous-produits apicoles à utiliser exclusivement en apiculture, destinés à être expédiés vers l'Union européenne ou à transiter par celle-ci ⁽²⁾

PAYS				Certificat vétérinaire vers l'UE				
Partie I: Renseignements concernant le lot expédié	I.1. Expéditeur Nom Adresse Tél.				I.2. Numéro de référence du certificat		I.2.a.	
					I.3. Autorité centrale compétente			
					I.4. Autorité locale compétente			
	I.5. Destinataire Nom Adresse Code postal Tél.				I.6. Intéressé au chargement au sein de l'UE Nom Adresse Code postal Tél.			
	I.7. Pays d'origine	Code ISO	I.8. Région d'origine	Code	I.9. Pays de destination	Code ISO	I.10. Région de destination	Code
	I.11. Lieu d'origine Nom Adresse Numéro d'agrément Nom Adresse Numéro d'agrément Nom Adresse Numéro d'agrément				I.12. Lieu de destination Nom Adresse Entrepôt douanier ☐ Numéro d'agrément Code postal			
	I.13. Lieu de chargement				I.14. Date du départ			
	I.15. Moyens de transport Avion ☐ Navire ☐ Wagon ☐ Véhicule routier ☐ Autres ☐ Identification Référence documentaire				I.16. PIF d'entrée dans l'UE I.17.			
	I.18. Description des marchandises				I.19. Code marchandise (code SH)			
					I.20. Quantité			
I.21. Température produit Ambiante ☐ Réfrigérée ☐ Congelée ☐				I.22. Nombre de conditionnements				
I.23. Numéro des scellés/des conteneurs				I.24. Type de conditionnement				
I.25. Marchandises certifiées aux fins de: Usage technique ☐								
I.26. Pour transit par l'UE vers un pays tiers ☐ Pays tiers Code ISO				I.27. Pour importation ou admission dans l'UE ☐				
I.28. Identification des marchandises Espèce (nom scientifique) Nature de la marchandise Numéro d'agrément des établissements Poids net Atelier de transformation								

PAYS

Sous-produits apicoles à utiliser exclusivement en apiculture

Partie II: Certification	II.	Information sanitaire	II.a. N° de référence du certificat	II.b.
	Je soussigné, vétérinaire officiel, déclare avoir lu et compris le règlement (CE) n° 1069/2009 du Parlement européen et du Conseil ^(1a), et notamment son article 10, ainsi que le règlement (UE) n° 142/2011 de la Commission ^(1b), et notamment son annexe XIV, chapitre II, et certifie que les sous-produits apicoles décrits ci-dessus: II.1. proviennent d'une région dans laquelle les maladies mentionnées ci-après sont des maladies à déclaration obligatoire et qui ne fait l'objet d'aucune restriction concernant: a) la loque américaine (<i>Paenibacillus larvae larvae</i>), b) l'acariose [<i>Acarapis woodi</i> (Rennie)], c) le petit coléoptère des ruches (<i>Aethina tumida</i>), et d) le coléoptère <i>Tropilaelaps</i> (<i>Tropilaelaps spp</i>); II.2. ont été: (²) [soumis à une température inférieure ou égale à - 12 °C pendant 24 heures au moins.] (²) ou [dans le cas de cire, raffinés ou transformés selon la méthode de transformation 1-2-3-4-5-7 (²) décrite à l'annexe IV, chapitre III, du règlement (UE) n° 142/2011] Notes Partie I: — Case I.6: intéressé au chargement au sein de l'Union européenne: cette case ne doit être remplie que si le certificat accompagne des marchandises en transit; elle peut l'être si le certificat accompagne des marchandises importées. — Cases I.11 et I.12: numéro d'agrément: le numéro d'enregistrement attribué à l'établissement ou à l'usine par l'autorité compétente. — Case I.12: lieu de destination: cette case ne doit être remplie que si le certificat accompagne des marchandises en transit. Les produits en transit ne peuvent être entreposés que dans des zones franches, des entrepôts francs et des entrepôts douaniers. — Case I.15: numéro d'enregistrement ou d'immatriculation (wagon ou conteneur et camion), numéro de vol (avion) ou nom (navire); des informations distinctes doivent être fournies en cas de déchargement et de rechargement. — Case I.19: il convient d'utiliser le code SH approprié (05.11.99) et de préciser de quel produit il s'agit en se fondant sur la liste figurant à la note concernant la case I.28. — Case I.23: en ce qui concerne les conteneurs de vrac, il convient d'indiquer le numéro du conteneur et, le cas échéant, celui du scellé. — Case I.25: usage technique: toute utilisation autre que la consommation animale. — Cases I.26 et I.27: il y a lieu de compléter la case qui convient selon qu'il s'agit d'un certificat accompagnant des marchandises en transit ou des marchandises importées. — Case I.28: nature de la marchandise: miel, cire, gelée royale, propolis ou pollen utilisés dans l'apiculture. Partie II: (^{1a}) JO L 300 du 14.11.2009, p. 1. (^{1b}) JO L 54 du 26.2.2011, p. 1. (²) Supprimer la ou les mentions inutiles. — La signature et le sceau doivent être d'une couleur différente de celle du texte imprimé. — Note à l'intention de l'intéressé au chargement dans l'Union européenne: le présent certificat est destiné exclusivement à des fins vétérinaires et doit accompagner l'envoi jusqu'à son arrivée au poste d'inspection frontalier.			
Vétérinaire officiel ou inspecteur officiel Nom (en lettres capitales): Date: Sceau: Qualification et titre: Signature:				

Annexe 4 : Analyse de la bibliographie

Une recherche bibliographique approfondie a été réalisée selon les recommandations du GT « Méthodologie en évaluation des risques » (GT MER) de l'Anses (Anses 2017) afin de recenser les connaissances scientifiques existantes sur le risque pour la santé des abeilles et de la colonie, lié à la contamination et à l'adultération de la cire d'abeilles.

Cadrage et définition du profil d'analyse bibliographique

Le formulaire « Profil de recherche bibliographique » permet de tracer l'orientation de la recherche bibliographique, en application de la procédure [ANSES/PR1/9/01] « Organisation de la réalisation d'une expertise en réponse à une saisine ou une auto-saisine »

Tableau 63 : Profil de recherche bibliographique

Bases de données (ex : Scopus, PubMed, CAB Abstracts...)	Scopus, Pubmed, Web of science	Périmètre	UE et international
Mots-clés principaux	Beeswax, Honeybee wax, honey bee(s) wax, wax foundation residue, pesticide, insecticide, toxicity, contamination, contaminants, herbicide, fungicide, acaricide, adulteration, stearin, paraffin, pollutants, drugs, HAP, heavy metals, trace elements, matrices mortality, health disorders, intoxication, fate, exposure, brood, larvae, honeycomb Analyses, temperature, LD, LQ, sampling Beekeeping, beekeepers, Wax trade, wax production, wax importation, fraud		
Mots-clés d'exclusion	Candles, human, archeology		
Organismes référents identifiés sur le sujet	INRAE Avignon, ITSAP, CNRS, Université Poitiers, Anses Sophia-Antipolis, Université de Liège,		
Rapports et publications identifiés en amont de la saisine	Rapport AFSCA 2018, EFSA 2020 et autres Congrès UNAF 2016 (Santé de l'abeille) Dossier biblio sur RESANA ECOPHYTO Essai INRAE Magneraud cires adultérées Travaux ADA/ congrès véto : présentation cas cliniques		
Projets de Recherche (PNR EST et CRD Anses, ANR, UE etc.)	Projets de recherche ITSAP		
Logiciel bibliographique utilisé (ex : EndNote, Zotero)	(Vérifier les outils utilisés par les experts) (Avez-vous suivi une formation « EndNote » ces 2 dernières années ?)		
Mise en surveillance de sources d'information (veille)	OUI NON		

Pour le détail de la méthode : EFSA (2010). Application of systematic review methodology to food and feed safety assessments to support decision making. Efsa Journal 8(6):1637 doi:10.2903/j.efsa.2010.1637

Stratégie de recherche bibliographique

Requêtes

Pour la recherche bibliographique, chaque ligne de la case « Mots clés principaux » du tableau de profil de recherche bibliographique a constitué un grand ensemble (ex : ensemble1

« Beeswax, Honeybee wax, honey bee(s) wax, wax foundation » AND ensemble 2 « residue, pesticide, insecticide, toxicity, contamination, contaminants, herbicide, fungicide, acaricide, adulteration, stearin, paraffin, polluants, drugs, HAP, heavy metals, trace elements, matrice »). Toutes les requêtes réalisées dans la base de données SCOPUS, d'une part et PUBMED d'autre part, ont été tracées dans un classeur Excel formant un cahier de recherche bibliographique.

Un filtre a permis de cibler les résultats obtenus, il s'agit du domaine de recherche « Veterinary science ». A la fin des recherches réalisées dans les deux bases de données bibliographiques Scopus et Pubmed, 105 doublons ont été trouvés. Les articles dont les mots clés contenaient « cosmetics », « candle », « consumer product safety », « drug formulation » ont été exclus. Au final, 186 articles ont été sélectionnés lors de cette première requête en juillet 2022.

Une deuxième requête visant à recruter un plus grand nombre d'articles sur le sujet de l'adultération a été conduite en novembre 2023. Le mot clé « adultération » de l'équation de recherche a été remplacé par « adultera* ». Trente-trois nouveaux articles ont ainsi été sélectionnés après élimination des doublons.

Une troisième requête fut initiée au mois de mars 2023, après le constat par plusieurs experts de manques de références incontournables pour cette expertise. L'équation de recherche a été modifiée en ajoutant « wax » aux mots clé du premier ensemble et ajoutant un ensemble dans l'équation constitué du seul mot clé « bee » : beeswax OR "Honeybee wax" OR "honey bee wax" OR "wax foundation" OR "wax") est devenu : beeswax OR "Honeybee wax" OR "honey bee wax" OR "wax foundation" OR "wax") AND (TITLE-ABS-KEY (bee). Cent-douze références ont été ajoutées aux précédentes après élimination des doublons.

Étape1

Après élimination des doublons ainsi que des articles traitant d'autres sujets que celui de la cire d'abeilles, les résumés des 331 articles (voir Figure 75 : Diagramme PRISMA) restant ont été répartis entre cinq binômes formés par les dix experts du groupe de travail pour lecture.

L'ensemble des 331 références ainsi obtenues a été subdivisé en cinq groupes d'une soixantaine de références bibliographiques.

Chaque expert de chaque binôme a disposé de deux mois pour effectuer la lecture des titres et/ou résumés des articles dont il avait la charge. Chaque résumé/article a donc été lu deux fois, par deux experts, de manière indépendante dans le but de confronter les informations ainsi recueillies.

Le résultat de cette lecture a été documenté dans une grille simple d'analyse de la pertinence des articles pour le traitement de la saisine, axée essentiellement sur les questions suivantes : La référence traite-t-elle de : contamination ?, adultération ?, réglementation ?, bonnes pratiques ?, recommandations ?, laboratoire (évaluation/développement méthode analytique) ?. Chaque expert a indiqué si « oui », « non », « peut-être », l'élément clé pour le traitement de la saisine était documenté dans l'article analysé. La confrontation des deux grilles d'un même binôme a été réalisée selon le principe qui accordait toujours à l'article le bénéfice du doute. Si un expert du binôme avait indiqué que l'article sur la base de la lecture du résumé n'intéressait pas le GT pour son expertise mais que l'autre expert du binôme avait jugé que « peut-être » cet article pourrait l'être, celui-ci a été conservé dans la base de références bibliographiques du GT. A cette étape 93 articles ont été exclus et notés « hors-sujet ».

Ainsi, au terme de l'analyse des grilles reçues, 238 références bibliographiques ont été conservées comme corpus bibliographique de base pour les travaux d'expertise portant sur cette saisine.

Parmi ces 238 références, ont été identifiés (certains articles pouvant intéresser une ou plusieurs rubriques détaillées ci-après) :

- 145 articles en rapport avec l'étude de la contamination des cires ;
- 31 en rapport avec l'adultération des cires ;
- 26 en rapport avec la réglementation sur les cires ;
- 76 en rapport avec les méthodes de laboratoires pour l'analyse des cires.

Étape 2

A partir des 238 articles conservés suite à l'étape 1, une seconde grille d'analyse des articles a été constituée (cf. Tableau 64), afin de noter la qualité des publications et leur intérêt pour la saisine. Les experts ont été formés en séances de travail à l'utilisation de la grille, à l'évaluation des biais éventuels et à l'évaluation de la qualité des articles. Lorsque les biais étaient présentés explicitement et discutés par les auteurs, ils n'impactaient pas significativement la note de qualité de la publication. L'évaluation de plusieurs articles a été faite en séance afin d'homogénéiser l'analyse et la notation des articles par chaque expert.

Tableau 64 : Éléments de classement des articles visant leur utilisation pour la rédaction des différentes parties du rapport et évaluation de la qualité des articles

Élément de classement	Choix multiple proposé au lecteur
Typologie de l'étude	Correspond à la typologie (ou au type) d'étude : - Étude épidémiologique descriptive : état des lieux, description d'une situation - Étude épidémiologique analytique : recherche et identifie les causes. Étude longitudinale : lot 1 exposés, lot 2 non exposés, suivis dans le temps. Peut-être prospective ou rétrospective selon que les lots sont formés après ou avant l'étude. Analytique transversale : cas/témoin - Étude mixte : descriptif et analytique - Étude de cas (étude clinique) : description clinique d'un ou de plusieurs cas - Revue : pour tous les types de revues, autrement dit, pas de distinction faite entre les revues narratives et revues systématiques de la littérature
Matrice	Dans quel type d'échantillon les contaminants et/ou adultérants ont-ils été étudiés : - Cire exclusivement : si seulement analyses de cires - Cire et autre matrice : si, en plus des cires, d'autres matrices (miel, pollen...) ont été analysés - NSP --> Ne sait pas (normalement, à la lecture, on devrait identifier --> sur cette colonne, on ne devrait pas en avoir besoin)
Impact	En cas d'étude de l'impact sur les abeilles (NB : toutes les études ne s'intéressent pas à cet impact) : - Abeilles adultes : effet étudié seulement sur les individus adultes - Larves ou couvain : effet étudié seulement sur les stades larvaires - Mixte adultes et couvain (colonie) : effet décrit sur les deux stades précédents et/ou sur la colonie dans son ensemble - Zootechniques / pratiques d'élevage : impact sur les pratiques des apiculteurs... - Transfert entre matrices : lorsque passage vers d'autres matrices est étudié - Autres - Non étudié : l'étude ne décrit pas d'impact sur les abeilles ou la colonie... - NSP, ne sait pas
Effet décrit	- Comportement : observation de tremblements par exemple - Activité (Bâtissage)

Élément de classement	Choix multiple proposé au lecteur
	- Mortalité : la mort de la colonie est constatée, il ne s'agit pas de dépopulation ou diminution de la vitalité de la colonie - Reproduction : fécondité reine ou fertilité faux bourdons - Développement couvain - Autre : ajout d'un champ ouvert. Si dépopulation le préciser clairement dans cette case. - NSP
Sens de l'impact	- Positif : les abeilles ou la colonie vont mieux- effet bénéfique - Négatif : les abeilles ou la colonie vont moins bien - effet délétère - Neutre : attention, la ou les substances doivent avoir été étudiées et il a été démontré par l'étude l'absence d'impact. Ne pas sélectionner s'il n'y a pas eu d'étude de l'impact. - Non précise/NSP
Usage ou activité biologique de la ou des molécules étudiées	- Apicole autorisé en France (pour information, il s'agit de tau-fluvalinate, fluméthrine, amitraze, thymol, acide oxalique, acide formique) - Apicole non autorisé en France - Phytosanitaire - Mixte (par exemple si plusieurs substances, ou bien si une molécule est connue pour avoir deux usages différents) - NSP
Type de contaminant	- Insecticide - Acaricide - Fongicide - Herbicide - Antibiotique - HAP - Métaux lourds - Mélange = dès qu'il y a plus d'une substance (préciser les familles de molécules dans la colonne commentaire finale) - Adultérant - NSP
Origine de la contamination (si adultérant cocher "inconnue ou non précisée")	- Pratiques apicoles - Environnementale (produits phyto...) - Volontaire : par exemple : sur une étude expérimentale, ajout de substances pour évaluer les effets... - Inconnue ou non précisée
Méthodologie générale : mise en œuvre d'un cadre d'étude permettant de répondre aux objectifs et conclusions affichés de l'étude	- 1 - non adaptée - 2 - non décrite - 3 - appropriée
Lien susceptible de présenter un conflit d'intérêt	- 1 - présence d'un lien d'intérêt (on en est à peu près sûr) - 2 - peut-être ou mineur (on a un doute) - 3 - absence de lien identifié
Biais de manière globale tous les éléments pouvant conduire à erreur (si les biais sont	- 1 - très probable - 2 - possible - 3 - peu probable - 4 - très peu probable

Élément de classement	Choix multiple proposé au lecteur
discutés par les auteurs le prendre en compte et améliorer la note)	
Qualité globale	- Inutile de renseigner : addition automatique des trois colonnes qui précèdent, avec pondération de la colonne méthodo (2X) par rapport aux autres (biais et liens) : $2 \times \text{méthodo} + 1 \times \text{lien} + 1 \times \text{biais}$

Les 238 articles à analyser ont été répartis par binôme d'experts pour une lecture de l'article dans son entièreté. Chaque binôme avait pour objectif de se mettre d'accord sur la notation des publications.

Après lecture des 238 articles complets, 185 publications ont été conservées pour être utilisées dans le rapport. Les articles ayant reçu une note de qualité globale mauvaise (1) ont été exclus, ceux ayant reçu une note moyenne (2) ont pu être conservés lorsque le corpus bibliographique était peu important pour le facteur étudié.

En complément de la recherche bibliographique effectuée, 21 autres publications dont des rapports (EFSA, OIE, etc.) et des articles scientifiques ont été ajoutés par les experts, au total 206 références sont listées dans la partie Bibliographie, au chapitre 11 du rapport.

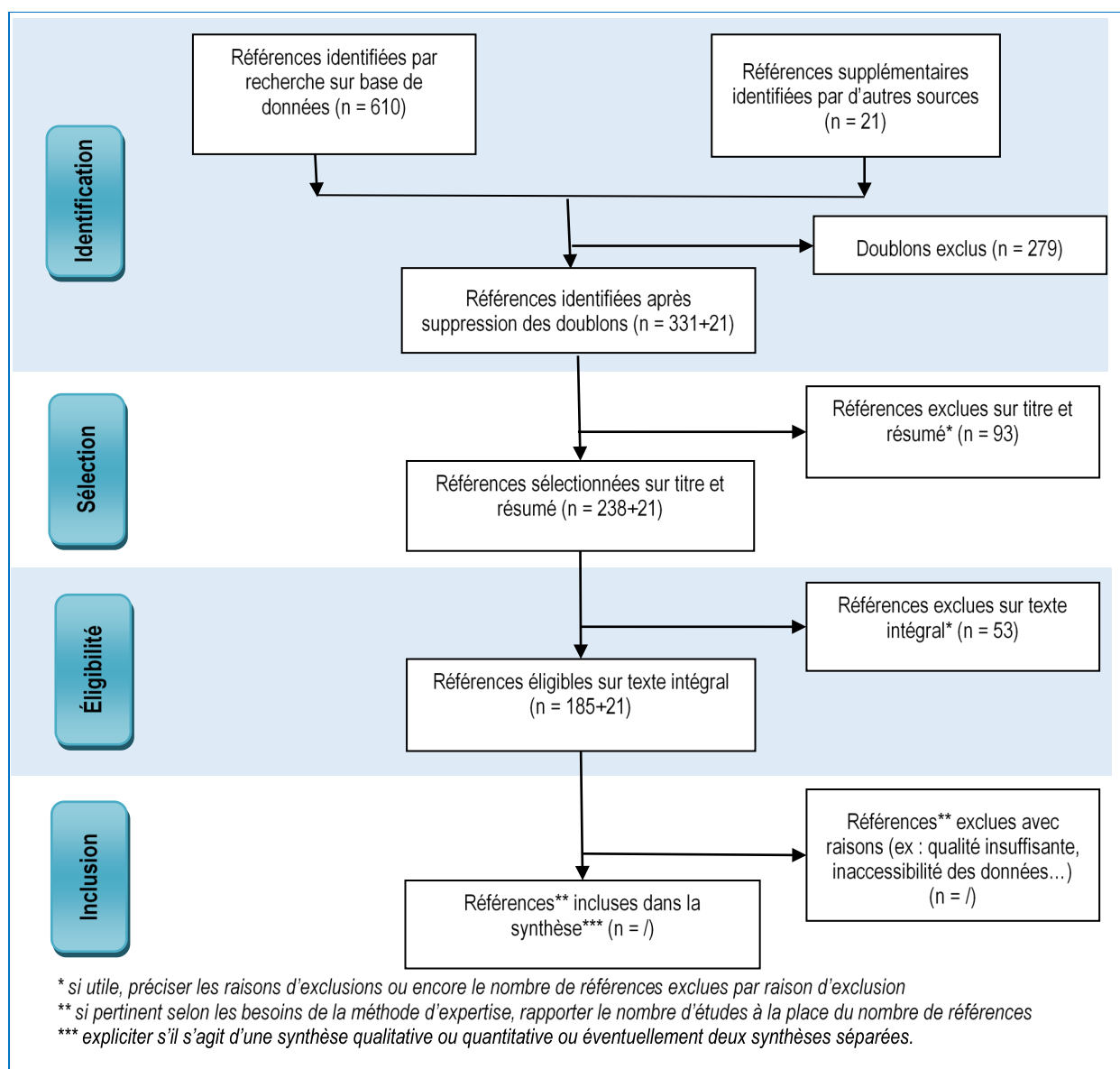


Figure 75 : Diagramme Prisma de la revue de la bibliographie réalisée pour l'évaluation des risques pour les abeilles et la colonie lié à la contamination et à l'adultération de la cire

Recherche bibliographique : état des lieux des contaminations

Un certain nombre de publications scientifiques se sont intéressées à la contamination des cires d'abeilles par des substances chimiques et des ETM. Pour utiliser ces données afin de dresser un état des lieux des contaminations, les membres du GT ont :

- trié les références préalablement identifiées par la recherche bibliographique sur les critères suivants : thème (« contamination ») et type d'étude (« épidémiologie descriptive », « mixte », « autre, doute ou NSP »). En tout, 69 références ont été identifiées.
- extrait les données de contamination des cires de ces 69 études en les répartissant comme suit :
 - études « ciblées » portant essentiellement sur les substances acaricides ;
 - études « ciblées » portant sur des substances utilisées en tant que produits phytopharmaceutiques ;
 - études ayant utilisé des approches de type multirésidus (permettant la détection de plusieurs dizaines voire centaines de substances).

Pour chaque étude, les substances contaminantes retrouvées ont été listées, et des informations ont été compilées dans un tableau Excel. Pour chaque substance (en ligne), les informations suivantes ont été reportées (colonnes) : type d'échantillon (nature et origine de la cire, année de prélèvement, concentrations (exprimées en mg/kg) maximale et moyenne (parfois médiane) retrouvées, nombre d'échantillons analysés, proportion de cires contaminées. Des informations relatives à la publication, année de publication, pays de la publication et d'étude, nombre de substances recherchées, nombre de substances détectées ont aussi été enregistrées,

Ainsi, chaque ligne du tableau correspond aux informations relatives à une substance détectée, dans une publication, pour un type d'échantillon donné. Une substance peut donc être retrouvée plusieurs fois selon les protocoles expérimentaux ou types d'échantillons analysés.

Concernant les études de type multirésidus, la règle d'extraction choisie était basée sur la méthode employée par les auteurs d'une revue récente portant sur la contamination de diverses matrices apicoles, dont les cires (Végh et al. 2023a). Dans la mesure où, pour ces études, le nombre de substances recherchées peut être élevé (jusqu'à un peu plus de 650), seules les informations relatives aux substances retrouvées dans plus de 20 % des échantillons de cires ont été extraites des publications.

Annexe 5 : Familles chimiques d'appartenance des substances relevées dans la revue de la littérature, activités associées par ordre d'occurrence décroissant

Les contaminations de la cire par des substances chimiques phytopharmaceutiques, biocides et médicaments non apicoles concernent 125 substances entrant dans cette catégorie de substances *a priori* « à usage non apicole ». Elles appartiennent à une quarantaine de classes chimiques différentes, dont les dix premières sont listées dans le Tableau 19 et les suivants dans le Tableau 65 ci-dessous, par ordre d'occurrence (nombre de fois où un membre de cette famille a été détecté) décroissant.

Tableau 65 : Classement des substances par fréquence d'occurrence décroissante et mode d'action selon IRAC, FRAC ou HRAC

Famille chimique	Type d'activité	Mode d'action selon classement IRAC (<i>Insecticide Resistance Action Committee</i> -Comité d'Action contre la Résistance aux Insecticides) ou FRAC (<i>Fungicide Resistance Action Committee</i>) ou HRAC (<i>Herbicide Resistance Action Committee</i>)
carboxamides	fongicide	Inhibiteurs de polymérisation de tubulines (Gr B3) Sites d'action : cytosquelette, motricité
pyrazole	insecticide acaricide	Antagonistes du canal chlorure médié par le GABA (Gr 2A) Sites d'action : systèmes nerveux et musculaire
triazines	herbicide	Composés chimiques utilisés principalement comme herbicides pour lutter contre les mauvaises herbes. Cependant, certaines triazines ont également des propriétés insecticides ou acaricides Pour ces propriétés insecticides : Inhibiteurs de la synthèse de la chitine (type 1) - Inhibiteurs de la formation de la cuticule (Gr 17) Sites d'action : croissance et développement
benzamides	fongicide	Inhibiteurs de polymérisation de tubulines (Gr B3) Sites action : cytosquelette, motricité
benzimidazoles	fongicide	Inhibition de l'assemblage de la β -tubuline Site d'action : cytosquelette et protéine motrice
phénols monoterpéniques	acaricide	Les phénols monoterpéniques ne constituent pas un groupe majeur ou largement reconnu dans le classement de l'IRAC Pour le thymol, mode action : perturbation des membranes cellulaires et interférence avec les fonctions enzymatiques chez les insectes et les acariens
carboxamides	fongicide insecticide acaricide	Modulateurs du récepteur de la Ryanodine (Gr 28) Sites d'action : systèmes nerveux et musculaire
chloroacétamides	herbicide	Inhibiteurs de la biosynthèse de chitine, affectant CHS1 (Gr 15) Sites d'action : croissance et développement
chlorophenyls (quintozone)	fongicide	Inhibiteurs de la biosynthèse des phytostérols (Gr 14) Site d'action : synthèse des lipides ou fonction de transport / intégrité membranaire
phtalimides	fongicide	Inhibiteurs de l'enzyme glycérol-3-phosphate déshydrogénase (G3PDH) (Gr 20) Site d'action : parois cellulaires et autres processus cellulaires / croissance et développement
benzoylurées	insecticide	Inhibiteurs de la biosynthèse de chitine, affectant CHS1 (Gr 15) Sites d'action : croissance et développement
benzhydrazides	insecticide fongicide herbicide	Inhibiteurs de la biosynthèse de chitine, affectant CHS1 (Gr 15) Sites d'action : croissance et développement
dicarboximides	fongicide	Inhibiteurs de la division cellulaire en perturbant la fonction mitochondriale (Gr2)

Famille chimique	Type d'activité	Mode d'action selon classement IRAC (<i>Insecticide Resistance Action Committee</i> -Comité d'Action contre la Résistance aux Insecticides) ou FRAC (<i>Fungicide Resistance Action Committee</i>) ou HRAC (<i>Herbicide Resistance Action Committee</i>)
		Sites d'action : système respiratoire mitochondries
acylalanines	fongicide	Inhibiteurs de l'ARN polymérase I chez les champignons (Gr 4) Sites d'action : croissance et reproduction
benzophénones (formaldéhydes)	fongicide	Inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol (Gr 13) Sites d'action : membrane cellulaire / croissance et développement
chloroanisoles	fongicide	Les composés aromatiques chlorés ou des produits chimiques similaires, ils peuvent être classés dans la catégorie des inhibiteurs multisites ou dans d'autres codes FRAC spécifiques en fonction de leur mode d'action.
organotine/azocyclotin	acaricide	Inhibiteurs du complexe I de transport mitochondrial d'électrons (Gr 21) Site d'action : système nerveux et musculaire
pyridinecarboxamides (boscalid)	fongicide	Inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (SDHI) (Gr 7) Site d'action : système respiratoire
phénylurées	herbicide	Des composés de type phénylurée ayant une activité insecticide pourraient potentiellement appartenir à l'un des groupes suivants, selon leur mode d'action : Inhibiteurs de la synthèse de la chitine (IRAC Groupe 15) : certains composés de type urée peuvent interférer avec la formation de la chitine chez les insectes. Inhibiteurs de la respiration mitochondriale (IRAC Groupe 20 ou 21) : certains composés peuvent agir en perturbant la chaîne respiratoire des insectes. Autres modes d'action : si le mode d'action est inconnu ou non spécifique, ils pourraient être classés dans le Groupe UN (Mode d'action inconnu).
ester de benzoate	acaricide	Modulateurs des canaux sodiques voltage-dépendants (IRAC Groupe 3) : certains esters peuvent agir sur le système nerveux des insectes en perturbant les canaux sodiques. Inhibiteurs de la chitine (IRAC Groupe 15) : si le composé interfère avec la formation de la chitine chez les insectes. Autres modes d'action : si le mode d'action est inconnu ou non spécifique, il pourrait être classé dans le Groupe UN (Mode d'action inconnu).
aniline	insecticide fongicide herbicide	Les dérivés de l'aniline (comme les amides, les néonicotinoïdes ou les anilides) peuvent être classés par ces comités s'ils sont utilisés comme herbicides, insecticides ou fongicides. Si insecticides : inhibiteurs de l'ARN polymérase I chez les champignons (Gr 4) Sites d'action : croissance et reproduction
chloroacétamides	herbicide	Groupe K3 (inhibiteurs de la synthèse des acides gras très longs)
spinosynes	insecticide	Modulateurs allostériques du récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR) - site I (Gr 5) Site d'action : système nerveux et musculaire
oxadiazine	insecticide	Inhibiteurs des canaux sodiques voltage-dépendants (Gr 22) Sites d'action : système nerveux et musculaire
phénylamides	fongicide	Inhibiteurs de l'ARN polymérase I chez les champignons. (Gr 4) Sites d'action : croissance et reproduction
thiazoles	fongicide	Inhibiteurs de la bêta-tubuline (Gr 1). Sites d'action : croissance et reproduction, perturbe la division cellulaire
thiophosphates	insecticide	Inhibiteurs de l'acétylcholine-estérase (AChE) (Gr1B) Sites d'action : systèmes nerveux et musculaire

Annexe 6 : Analyses des contaminants chimiques présents dans la cire : protocoles et sources d'erreurs

Tableau 66 : Exemples de protocoles d'analyses des résidus de contaminants chimiques dans la cire

Substance chimique	Protocole d'extraction et technique de dosage utilisée	Référence bibliographique
147 pesticides dont les plus détectés sont : coumaphos, tau-fluvalinate, propargite, bromopropylate, fenpyroximate, N'-(2,4-diméthylphényl)-N-méthylformamidine, pipéronyl butoxyde, tebufenpyrad, hexythiazox, chlorfenvinphos, acrinathrine, chlorpyrifos, carbofuran, pyrimicarbe, propoxur, imidaclopride, malathion, pyridabene, thiachlopride	1. Extraire 5 g de cire avec 30 mL de mélange acétonitrile/eau 2:1 (v/v). 2. Homogénéiser et centrifuger à 1690 g pendant 10 min. 3. Ajouter 5 mL de NaCl (20 %) aux 15 mL de surnageant et transférer sur cartouche diatomée pour purification sur cartouche ChemElut® (20 mL). 4. 15 min après, éluer avec 2 x 50 mL de dichlorométhane. 5. Évaporer à 35°C jusqu'à 2,5 mL puis transférer dans un tube pour évaporer à sec sous flux gazeux (azote). 6. Récupérer l'extrait avec 1 mL d'acétonitrile et stocker l'extrait à -18°C. 7. Filtrer l'extrait froid sur filtre PTFE (0,2 µm). 8. Analyser en LC-MS/MS, GC-MS/MS et GC-MS selon les molécules recherchées. 9. LD comprises entre 0,00005 et 0,005 mg/kg. 10. LQ comprises entre 0,0001 et 0,01 mg/kg. 11. LD et LQ n'ont pas pu être déterminées pour certains pesticides (acrinathrine, chlorpyrifos, coumaphos et pyrimicarbe) du fait de leur présence dans les cires témoins.	Alkassab, A.T. et al. (2022)
amitraze et ses métabolites (DMA, DMF et DMPF)	Méthode adaptée de celle de Mullin C.A. et al. (2010) : 1. 3 g de cire sont extraits avec 27 mL d'un mélange 44 % eau / 55 % acétonitrile / 1 % acide acétique glacial. 2. Dissoudre ensuite l'échantillon à 80°C pendant 20 min dans un bain-marie. 3. Laisser refroidir l'échantillon à température ambiante. 4. Extraire l'échantillon avec 6 g de MgSO₄ et 1,5 g d'acétate de sodium anhydre : agiter vigoureusement pendant 1 min. 5. Centrifuger l'échantillon et transférer 1 mL de surnageant dans un tube de 2 mL contenant 0,05 g de PSA, 0,05 g de C18 et 0,15 g de MgSO₄. 6. Vortexer l'extrait pendant 1 min puis centrifuger. Le surnageant est transféré dans des vials pour analyse en LC-MS/MS et GC-MS. 7. LD = 0,004 mg/kg pour l'amitraze, 0,05 mg/kg pour le DMA et 0,004 mg/kg pour le DMF.	Chaimanee, V. et al. (2022)

11 pesticides (atrazine, chlorothalonil, chlorpyrifos, coumaphos, fluvalinate, bifenthrine, cyhalothrine, perméthrine, cyfluthrine, cyperméthrine, coralox)	Méthode de Li et al. (2015) appliquée en utilisant une purification dSPE avec 500 mg de Z-Sep : 1. Peser 2 g de cire dans un tube à centrifuger de 50 mL. 2. Ajouter 20 mL de mélange d'acétate d'éthyle/hexane 7:3 (v/v) acidifié à 0,2 % d'acide acétique. 3. Vortexer le tube pendant 30 min et centrifuger à 4400 t/min pendant 10 min à 4°C. 4. Transférer le surnageant dans un flacon de 20 mL, centrifuger 2 fois et récupérer les extraits. 5. Purifier 5 mL d'extrait dans un tube de 10 mL contenant 500 mg de phase Z-Sep. 6. Vortexer pendant 5 min et transférer 3 mL de surnageant dans un tube en verre, puis évaporer à sec sous flux gazeux (azote). 7. Récupérer avec 3 x 0,5 mL d'hexane à 0,1 % d'acide acétique. 8. Évaporer l'extrait jusqu'à un volume final de 0,5 mL. 9. Analyser en GC-MS. 10. LD comprises entre 0,00051 et 0,00534 mg/kg (Li et al., 2015).	Fulton, C.A. et al. (2019)
acide oxalique et acide formique	Méthode basée sur le protocole "Quick Polar Pesticide" sur les produits d'origine végétale (QuPPE-PO) : 1. Peser 2 g de cire dans un tube à centrifuger de 50 mL. 2. Ajouter 10 mL d'eau. 3. Vortexer pendant 1 min puis 10 min à l'aide de l'agitateur axial AgytaxO. 4. Centrifuger l'extrait à 4000 t/min pendant 30 min. 5. Transférer 2 mL de l'extrait dans un tube à centrifuger de 15 mL contenant 100 mg de C18 et ajouter 2 mL d'acétonitrile. 6. Vortexer pendant 1 min puis centrifuger à 3700 t/min pendant 5 min. 7. Transférer le surnageant dans un tube à centrifuger de 15 mL. 8. Ajouter de l'eau ultrapure afin d'obtenir un facteur de dilution de 100. 9. Analyser en IC-HRMS (chromatographie ionique couplée à la spectrométrie de masse haute résolution). 10. LD = 0,1 mg/kg pour l'acide formique et 0,001 mg/kg pour l'acide oxalique. 11. LQ = 5 mg/kg pour l'acide formique et 20 mg/kg pour l'acide oxalique.	Gómez, I.B. et al. (2022)
373 pesticides	1. Peser 2 g de cire dans un tube à centrifuger de 50 mL. 2. Ajouter 20 mL de mélange acétonitrile/acétate d'éthyle 1:3 (v/v). 3. Placer le tube au bain-marie à 60°C pendant 20 min. 4. Laisser revenir à température ambiante puis centrifuger à 4500 t/min pendant 10 min. 5. Placer ensuite le tube à -20°C pendant 2 h puis centrifuger à nouveau pendant 10 min à 4500 t/min. 6. Transférer 2 mL de surnageant dans un tube à centrifuger de 1 mL contenant 0,2 g de PSA et 1 g de MgSO₄. 7. Agiter le tube pendant 1 min et centrifuger à 4500 t/min pendant 5 min.	Issa, M.M. et al. (2020)

	8. Récupérer une aliquote dans un vial après filtration sur filtre PTFE (0,45 µm). 9. Analyser en LC-MS/MS et GC-MS/MS selon les molécules recherchées. 10. LQ = 0,02 mg/kg pour la majorité des pesticides étudiés. 11. LQ = 0,05 mg/kg pour le myclobutanil et le chlorpyriphos (en GC-MS/MS). 12. LQ = 0,1 mg/kg pour le carbendazime, le chlorpyriphos (en LC-MS/MS), le diméthoate et la fenpropathrine.	
fluméthrine	Méthode basée sur celle de Bogdanov et al. (1998) : 1. Peser 5 g de cire dans un tube à centrifuger de 50 mL. 2. Ajouter 5 mL d'hexane et dissoudre la cire aux ultrasons pendant 5 min. 3. Placer le tube à -10°C pendant 15 min puis centrifuger à 5000 t/min. 4. Filtrer l'extrait sur filtre PTFE (0,45 µm) et placer le filtrat à -10°C pendant 30 min. 5. Centrifuger à nouveau à 8000 t/min et filtrer l'extrait sur filtre PTFE (0,45 µm). 6. Évaporer sous vide et à sec l'extrait à l'évaporateur rotatif à 35-40°C. 7. Récupérer l'extrait final avec 2 mL d'acétonitrile puis filtrer l'extrait sur filtre PTFE (0,45 µm). 8. Analyser en HPLC/UV. 9. LD = 0,0053 mg/kg.	Jamal, M. et al. (2020)
coumaphos	Méthode QuEChERS basée sur celle de Niell et al. (2014) : 1. Peser 1 g ou 0,1 g de cire dans un tube à centrifuger de 50 mL. 2. Ajouter 10 mL d'acétonitrile et placer le tube dans un bain-marie à 80°C jusqu'à ce que la cire soit fondue. 3. Agiter vigoureusement le tube à la main pendant 15 s et remplacer le tube dans le bain-marie. 4. Répéter cette étape 3 fois puis laisser refroidir le tube à température ambiante. 5. Placer le tube à -18°C toute une nuit pour précipiter la cire. 6. Centrifuger ensuite l'échantillon à 1620 g pendant 5 min à température ambiante. 7. Transférer 2 mL de surnageant dans un tube Eppendorf contenant 50 mg de PSA et 50 mg de C18. 8. Vortexer 2 fois le tube pendant 30 s puis placer le tube toute une nuit à -18°C. 9. Centrifuger ensuite l'échantillon à 1620 g pendant 5 min à température ambiante. 10. Filtrer l'extrait (filtre 0,45 µm). 11. Analyser en GC-MS/MS. 12. LD = 0,08 mg/kg. 13. LQ = 0,1 mg/kg.	Kast, C. et al. (2020)

21 pesticides (acrinathrine, coumaphos, chlorpyrifos, flupyradifurone, thiaclopride, azoxystrobine, bendiocarbe, boscalid, bromopropylate, chlorfenvinphos, N,N-diéthyl-3-méthylbenzamide (DEET), deltaméthrine, DMF, fénitrothion, (E)-fenpyroximate, fluméthrine, tau-fluvalinate, perméthrine, pipéronyl butoxyde, propoxur et zeta-cyperméthrine)	Méthode basée sur celle de Kast et al. (2020) : 1. Peser 0,5 g de cire dans un tube à centrifuger de 50 mL. 2. Ajouter 5 mL d'acétonitrile. 3. Placer le tube dans un bain-marie à 80°C pendant 30 min pour fondre la cire. 4. Agiter le tube vigoureusement à la main pendant 30 s et placer à nouveau le tube dans le bain-marie pendant 10 min. Cette étape est répétée 3 fois, puis le tube est placé à 80°C pendant 10 min. 5. Laisser refroidir l'échantillon à température ambiante. 6. Placer ensuite l'échantillon toute une nuit à -20°C. 7. Puis centrifuger l'échantillon à 10000 g à 4°C pendant 20 min. 8. Transférer 1 mL de surnageant dans un tube Eppendorf contenant 25 mg de PSA et 25 mg de C18. 9. Vortexer 2 fois le tube pendant 30 s. 10. Placer le tube à -20°C toute une nuit. 11. Centrifuger ensuite l'échantillon à 18000 g à 4°C pendant 20 min. 12. Filtrer le surnageant sur filtre polyamide (0,45 µm). 13. Analyser en UHPLC-MS/MS (chromatographie liquide à ultra haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem). 14. LD comprises entre 0,0004 et 0,1 mg/kg. 15. LQ comprises entre 0,0005 et 0,2 mg/kg.	Marti, J.N.G. et al. (2022)
7 acaricides (atrazine, chlorpyrifos, chlorfenvinphos, alpha-endosulfan, bromopropylate, coumaphos, tau-fluvalinate)	1. Broyer la cire avec de la carboglace. 2. Peser 2 g de cire dans un tube à centrifuger de 50 mL. 3. Ajouter 10 mL d'acétonitrile avec 1 % d'acide acétique. 4. Vortexer le tube pendant 3 min et homogénéiser pendant 2,5 min avec un ultra-turrax. 5. Centrifuger l'extrait à 7500 t/min à 5°C pendant 5 min. 6. Transférer 5 mL de surnageant dans un tube dSPE contenant une phase EMR-lipid (Enhanced Matrix Removal-Lipid) préalablement activée avec 5 mL d'eau ultrapure. 7. Vortexer le mélange pendant 1 min et centrifuger à 7500 t/min à 5°C pendant 5 min. 8. Transférer 5 mL de surnageant dans un tube à centrifuger de 15 mL et ajouter du NaCl et du MgSO₄. 9. Vortexer le tube pendant 1 min et centrifuger comme précédemment. 10. Évaporer 2 mL de surnageant sous vide et à sec à l'évaporateur rotatif à 60°C. 11. Récupérer l'extrait avec 1 mL de mélange acétate d'éthyle/cyclohexane 20:80 (v/v) et passer le tube aux ultrasons. 12. Filtrer l'extrait sur filtre nylon (0,45 µm). 13. Analyser en GC-MS. 14. LD = 0,002 mg/kg pour l'atrazine, le chlorpyrifos, le chlorfenvinphos, le coumaphos et le tau-fluvalinate. 15. LD = 0,003 mg/kg pour l'alpha-endosulfan et le bromopropylate. 16. LQ = 0,005 mg/kg pour l'atrazine, le chlorpyrifos, le chlorfenvinphos, le coumaphos et le tau-fluvalinate. 17. LQ = 0,01 mg/kg pour l'alpha-endosulfan et le bromopropylate.	Nozal, M.J. et al. (2021)

pyriproxyfen et ses métabolites	Protocole d'extraction basé sur la méthode QuEChERS : 1. Peser 5 g de cire dans un tube à centrifuger de 50 mL. 2. Ajouter 5 mL d'eau, 3 mL d'hexane et 5 mL d'acétonitrile avec 1 % d'acide formique. 3. Vortexer le tube pendant 10 min. 4. Ajouter dans le tube 2 g de NaCl et 4 g de MgSO₄ anhydre. Agiter vigoureusement pendant 5 min. 5. Centrifuger l'extrait à 2077 g pendant 5 min à 20°C. 6. Placer le surnageant à -20°C pendant toute une nuit. 7. Décongeler puis vortexer le tube pendant 1 min et centrifuger à 2077 g pendant 5 min à 20°C. 8. Transférer 3 mL de surnageant dans un tube à centrifuger de 5 mL contenant 150 mg de MgSO₄ et 50 mg de PSA. 9. Filtrer l'extrait (filtre 0,22 µm). 10. Analyser en UHPLC-MS/MS. 11. LQ = 0,001 mg/kg.	Wu, C. et al. (2021)

Tableau 67 : Exemples de protocoles d'analyses des résidus d'ETM dans la cire

Protocole de minéralisation et technique de dosage utilisée	Référence bibliographique
- Homogénéisation de l'échantillon par fonte de 50 g de cire à 50°C et aux ultrasons. - Transférer 1 g d'échantillon dans un contenant en téflon et procéder à la digestion par micro-ondes après ajout de 5 mL de mélange HNO₃/H₂O₂ 4:1 (v/v). - Après refroidissement, diluer l'échantillon dans 100 mL d'eau ultrapure. - 100 mL de la solution est ajusté à pH = 3 avec HCl pour l'analyse du Fe, Ni, Cu, Zn et Pb et à pH = 12 avec NaOH pour l'analyse du Ca, Cr, Mn, Rb et Sr. - Ajout dans chaque fiole de 2 mL 1% (p/v) d'ammonium-pyrolidinedithiocarbamate (APDC). - Étape de complexation pendant 20 min puis filtrer la suspension. - Analyse par fluorescence X. - Les limites de détection sont de : 10 µg/L pour le Ca, 1 µg/L pour Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn et Pb et de 7 µg/L pour le Rb et le Sr.	Gajger, I et al. (2019)
- 1 g de cire placé dans un tube en verre est minéralisé par digestion avec HNO₃ et 2 mL d'H₂O₂ dans un bain-marie chauffé à 100°C pendant 18 h jusqu'à minéralisation complète. - Après un jour de refroidissement, transférer l'extrait dans une fiole et compléter à 50 mL avec de l'eau ultrapure. - Filtrer l'extrait puis stocker la solution dans un flacon en polypropylène à -4°C jusqu'à l'analyse. - Analyse par spectrométrie d'absorption atomique. - Les limites de détection sont pour les éléments suivants : Fe (0,08 mg/L), Cr (0,08 mg/L), Zn (0,01 mg/L), Cu (0,04 mg/L), Ni (0,08 mg/L), Mn (0,025 mg/L), Pb (0,2 mg/L), Cd (0,012 mg/L), and Co (0,06 mg/L).	Hassona, N. et Abd El-Wahed, A.A. (2023)
- Nettoyage de la cire avec de l'eau ultrapure puis séchage à 105°C pendant 72 h. - Une quantité déterminée d'échantillon est calcinée à sec pendant 12 h à 50°C/h jusqu'à 450°C. - Le résidu obtenu est dissout dans 12 mL de mélange HNO₃/HCl 1:3 (v/v). - La solution est transférée après filtration, dans une fiole de 50 mL et complétée avec de l'eau ultrapure. - Analyse par spectrométrie d'absorption atomique.	Cozmuta, A.M. et al. (2012)
- Transférer 0,5 g d'échantillon dans un contenant en téflon et procéder à la digestion par micro-ondes (à 180°C pendant 40 min) après ajout de 9 mL d'HNO₃ et de 1 mL d'H₂O₂. - Après refroidissement (en-dessous de 40°C), diluer l'échantillon dans 100 mL d'eau ultrapure. - Analyse par ICP-MS.	Zafeiraki, E. et al. (2022)
- Chauffage à 30°C de l'échantillon et homogénéisation. - 3 g d'échantillon sont minéralisés avec 36 mL de mélange HNO₃/H₂O₂ 2:1 (v/v). - Chauffage de la solution à 100°C jusqu'à séchage (6h). - Les résidus obtenus sont solubilisés dans HNO₃ (2,5% v/v). - Analyse par ICP-MS.	Losfeld, G; et al. (2014)

Tableau 68 : Sources d'erreur à envisager dans la préparation de la prise d'essai et dans l'analyse

Étapes	Sources d'erreur
Préparation de l'échantillon	- Conditions de stockage de l'échantillon inappropriées. - Fraction de l'échantillon à analyser non sélectionnée correctement. - Contamination croisée des échantillons. - Hétérogénéité de l'échantillon. - Hétérogénéité de l'analyte dans l'échantillon à analyser. - Texture de la matrice influant sur le processus d'homogénéisation. - Dégradation de l'analyte pendant le traitement de l'échantillon.
Extraction / Purification	- Pureté des réactifs et solvants. - Récupération incomplète de l'analyte : perte de l'analyte par volatilisation, adsorption, absorption. - Instabilité de l'analyte. - Variation dans la composition (par exemple, teneur en pigments, acides gras) du prélèvement. - Procédure analytique non respectée.
Dosage quantitatif	- Imprécision de l'appareil. - Gamme d'étalonnage erronée : erreur de pesée, de pipetage lors de la préparation des solutions étalons. - Effets de matrice. - Interférences dues aux composés co-extraits. - Dérive du détecteur au cours des analyses. - Détermination de substances qui ne proviennent pas de l'échantillon mais d'une contamination de la verrerie par exemple. - Changement des conditions ambiantes du laboratoire pendant l'analyse. - Instabilité des analytes.

Tableau 69 : Technique de dosage préférentiellement appliquée selon la substance chimique étudiée

Substance chimique	GC-MS/MS	LC-MS/MS
néonicotinoïdes (acétamipride, clothianidine, dinotefuran, imidaclopride, thiaclopride, thiaméthoxam)		X
organophosphorés (chlorfenvinphos, chlorpyrifos, coumaphos, diméthoate, fénitrothion, malathion)	X	
organochlorés (endosulfan, lindane)	X	
Pyréthriinoïdes (acrinathrine, cyperméthrine, deltaméthrine, fluméthrine, lambda-cyhalothrine, perméthrine, tau-fluvalinate)	X	
Substance chimique	GC-MS/MS	LC-MS/MS
antibiotiques (chloramphénicol, streptomycine, sulfamides, tétracyclines)		X
amitraze et ses métabolites		X
fongicides (azoxystrobine, bénomyl, boscalid, carbendazime, cyprodinil, diphénylamine, fluopyram, penthiopyrad, tébuconazole, thirame)		X
fongicides (captan, iprodione, pentachloroanisole, pyrimethanil)	X	
glyphosate		X
thymol	X	
abamectine, carbofuran, fénoxycarbe, fenpyroximate, hexythiazox, méthoxyfénoside, nitenpyram, propargite, pyridabene, pyrimicarbe, spinosad, spiroadiclofen		X
bromopropylate, methoxychlore,	X	
N,N-diéthyl-3-méthylbenzamide (DEET)		X
pipéronyl butoxyde	X	

Annexe 7 : Évaluation du protocole de broyage

Objectif : Une étude complémentaire a été réalisée afin d'évaluer si le protocole de broyage des feuilles de cire gaufrée permettait d'obtenir un échantillon homogène et si les analyses de laboratoire étaient répétables.

Méthode : Cette étude a consisté à broyer sept feuilles de cire gaufrée issues d'un même lot selon le protocole décrit dans le rapport de la CRD. Dix aliquotes¹¹⁵ d'environ 25 à 30 g ont été prélevées dans l'échantillon de cire obtenu après broyage et homogénéisation. Les dix aliquotes ont été ensuite analysées en aveugle par le laboratoire du GIRPA (recherche de PPP et biocides) et par le laboratoire du CREA (recherche d'adultérants).

Résultats : Les résultats d'analyses des dix aliquotes du même échantillon homogénéisé sont présentés dans Tableau 70. Les coefficients de variation (CV) des 13 substances retrouvées par le laboratoire du GIRPA varient entre 11,2 % (tau-fluvalinate) et 22,9 % (perméthrine). Les CV des trois substances retrouvées par le laboratoire du CREA varient entre 13 % (acide oléique) et 105,9 % (hydrocarbures de paraffine). La valeur élevée du CV obtenu pour les hydrocarbures de paraffine est due à un résultat transmis par le laboratoire considéré comme aberrant, les autres étant, soit inférieurs à la LQ, soit égaux à la LQ de 0,2 %. L'incertitude de mesure associée à la méthode employée par le CREA n'a pas été communiquée par le laboratoire.

En considérant un seuil de 20 % comme critère pour considérer si les variations observées entre les résultats sont acceptables, il s'avère que ce seuil n'est pas dépassé pour neuf substances et est dépassé pour les sept autres substances. Toutefois, lorsque ce seuil est dépassé, l'écart par rapport au seuil est faible pour six substances. Seul le coefficient de variation des résultats obtenus pour les hydrocarbures de paraffine (105,9 %) dépasse fortement le seuil de 20 %. Le calcul de ce coefficient de variation est bien influencé par une des valeurs (aliquote n°1 = 1,23 %) qui est environ six fois supérieure aux quatre autres valeurs (0,25 %, 0,2 %, 0,22 %, 0,23 %). Le CV calculé sans cette valeur aberrante est inférieur à 20 %. De plus, certaines de ces substances ont été détectées proches de leur seuil de quantification et certaines incertitudes de mesure sont élevées pouvant expliquer l'écart entre les différents résultats.

L'homogénéité des résultats a été vérifiée par l'analyse de la régression linéaire et l'existence d'une pente. Le principe de l'analyse repose sur l'établissement de l'existence d'une relation du type " $ax + b$ " entre l'aliquote et le niveau de la mesure avec " a ", la pente, et " b ", l'ordonnée à l'origine. Si la pente " a " n'existe pas et que " b " existe, alors la relation peut se résumer par un modèle : " $\text{Aliquote} = \text{cte}$ ", ce qui signifie que sur l'ensemble des aliquotes, il n'y a qu'une seule valeur et donc l'échantillon est homogène. Cette analyse statistique a permis de vérifier que pour toutes les substances, les résultats sont homogènes. Pour la fluméthrine et l'acide palmitique, il y a une suspicion de non homogénéité faible, ce qui peut s'expliquer par une incertitude de mesure élevée pour la fluméthrine (49 %), et par un résultat deux fois plus faible que les autres pour l'acide palmitique dans l'aliquote n°1.

Conclusion : Les résultats obtenus à l'issue de cette étude complémentaire permettent de vérifier que les échantillons sont homogènes.

¹¹⁵ Une partie aliquote est une fraction connue d'une quantité totale d'une solution, utilisée pour effectuer une analyse. Académie nationale de pharmacie, « Aliquotage [archive] », sur dictionnaire.acadpharm.org, 9 juin 2017 (consulté le 7 août 2025)

Tableau 70 : Résultats d'analyses du broyat analysé en décaplicat

Substances (Girpa)	Décaplicat 1 (mg/kg)	Décaplicat 2 (mg/kg)	Décaplicat 3 (mg/kg)	Décaplicat 4 (mg/kg)	Décaplicat 5 (mg/kg)	Décaplicat 6 (mg/kg)	Décaplicat 7 (mg/kg)	Décaplicat 8 (mg/kg)	Décaplicat 9 (mg/kg)	Décaplicat 10 (mg/kg)	Moyenne =	Ecart-type =	CV (%) =	Mesures homogènes si CV ≤ 20%	LOQ (mg/kg)	Incertitude composée élargie (U) en %
acetochlore	0,09	0,056	0,085	0,061	0,067	0,099	0,055	0,074	0,063	0,066	0,072	0,015	20,99	Non	0,02	34
chlorpyrifos	0,014	<LOQ	0,014	0,01	0,011	0,016	<LOQ	0,012	0,01	0,011	0,012	0,002	17,86	Oui	0,01	27
coumaphos	0,3	0,23	0,24	0,27	0,23	0,24	0,25	0,24	0,26	0,32	0,258	0,030	11,81	Oui	0,01	34
cypermethrine	0,24	0,15	0,21	0,16	0,18	0,27	0,15	0,21	0,17	0,18	0,192	0,040	20,80	Non	0,1	37
deltamethrine	0,07	0,044	0,062	0,044	0,047	0,07	0,043	0,06	0,047	0,041	0,053	0,011	21,74	Non	0,01	48
fenpyroximate	0,068	0,047	0,049	0,055	0,052	0,051	0,057	0,045	0,048	0,056	0,053	0,007	12,62	Oui	0,01	50
flumethrine	0,043	0,036	0,042	0,059	0,061	0,07	0,069	0,051	0,058	0,06	0,055	0,012	21,01	Non	0,02	49
2-phenylphenol	0,025	<LOQ	0,021	<LOQ	<LOQ	0,027	<LOQ	0,021	<LOQ	<LOQ	0,024	0,003	12,77	Oui	0,02	50
permethrine	0,34	0,19	0,28	0,21	0,22	0,33	0,19	0,25	0,21	0,23	0,245	0,055	22,29	Non	0,1	17
piperonyl butoxyde	0,14	0,083	0,12	0,09	0,1	0,15	0,085	0,11	0,093	0,1	0,107	0,023	21,47	Non	0,05	36
propargite	0,87	0,64	0,73	0,7	0,79	0,96	0,78	0,8	0,76	0,66	0,769	0,096	12,49	Oui	0,01	47
spirodiclofen	0,021	0,016	0,015	0,018	0,016	0,015	0,018	0,015	0,017	0,018	0,017	0,002	11,31	Oui	0,01	38
flualinate	0,33	0,29	0,28	0,36	0,26	0,31	0,31	0,27	0,28	0,35	0,304	0,034	11,20	Oui	0,02	42
Substances (CREA)	Décaplicat 1 (%)	Décaplicat 2 (%)	Décaplicat 3 (%)	Décaplicat 4 (%)	Décaplicat 5 (%)	Décaplicat 6 (%)	Décaplicat 7 (%)	Décaplicat 8 (%)	Décaplicat 9 (%)	Décaplicat 10 (%)	Moyenne =	Ecart-type =	CV (%) =	Mesures homogènes si CV ≤ 20%	LOQ (%)	Incertitude composée élargie (U) en %
hydrocarbure de paraffine	1,23	<LOQ	<LOQ	0,25	0,2	<LOQ	0,22	<LOQ	0,23	<LOQ	0,426	0,450	105,59	Non	0,2	NC
acide palmitique	0,44	0,84	0,82	0,84	0,83	0,86	0,85	0,84	0,87	0,86	0,805	0,129	16,04	Oui	0,2	NC
acide oleique	0,29	0,47	0,46	0,44	0,43	0,49	0,47	0,48	0,48	0,45	0,446	0,058	13,00	Oui	0,2	NC

NC : Non connu

Annexe 8 : Méthodologie d'évaluation des méthodes d'analyse pour la détection de l'adultération de la cire d'abeilles (Svečnjak et al., 2021)

Dans cette publication, la démarche a été la suivante :

- les méthodes analytiques utilisables pour la détection de la paraffine et de la stéarine/acide stéarique dans la cire d'abeilles ont été recensées à partir des textes réglementaires et de la littérature scientifique ;
- elles ont ensuite été hiérarchisées par élicitation d'experts en fonction de leur capacité à détecter des adultérants ciblés (paraffine et stéarine/acide stéarique)¹¹⁶. Les méthodes physico-chimiques et analytiques retenues pour la détection de la paraffine et de la stéarine/acide stéarique dans les cires sont indiquées dans le tableau ci-dessous (cf. Tableau 71).

Tableau 71 : Méthodes d'analyses physico-chimiques et avancées retenues à la suite de l'élicitation pour la détection de la paraffine et de la stéarine/acide stéarique

	Méthodes retenues pour la détection de paraffine	Méthodes retenues pour la détection de stéarine/acide stéarique
Analyses physico-chimiques	point de fusion	point de fusion
	densité (specific gravity)	-
	indice d'acide	indice d'acide
	indice de saponification	indice de saponification
Analyses chromatographiques ou spectrométriques	GC-MS	-
	HTGC-FID (MS)*	HTGC-FID (MS)*
	FTIR-ATR*	FTIR-ATR*

* : HTGC-FID (MS) : *high-temperature gas chromatography coupled flame ionization detection or mass spectroscopy* - chromatographie en phase gazeuse à haute température avec détection par ionisation de flamme/spectrométrie de masse. FTIR-ATR (*Fourier transform infrared spectroscopy coupled with Attenuated Total Reflectance accessory* - spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier - réflectance totale atténuée)

- quatre méthodes d'analyse physico-chimiques fréquemment utilisées pour la détection de la paraffine (point de fusion et indice d'acide, d'ester et de saponification) ont ensuite été validées individuellement sur la base de deux jeux de données ayant été publiés précédemment, et des seuils ont été déterminés (courbes ROC¹¹⁷) pour chacune ;
- la combinaison de ces quatre méthodes physico-chimiques et leur capacité à fournir un résultat précis et probant ont été évaluées par une approche statistique faisant appel à différents scénarios (seuils de détection variable).

Les résultats de cette approche ont mis en évidence qu'une **utilisation exclusive des paramètres physico-chimiques n'est pas suffisante pour garantir l'analyse de la pureté de la cire d'abeilles à usage apicole**.

¹¹⁶ Trois analystes/évaluateurs indépendants internationaux ayant une expérience dans l'analyse de la cire d'abeilles à des fins d'authentification, ont pondéré les différentes méthodes et pour la détection de la falsification de la cire d'abeilles par la paraffine ou l'acide stéarique/stéarine en fonction de leurs connaissances/expériences et des paramètres listés dans une grille d'évaluation. Ce poids relatif a été déterminé selon la technique de Las Vegas (Gore, 1987).

¹¹⁷ La courbe ROC (*Receiver Operating Characteristic*) représente la sensibilité en fonction de 1 – spécificité pour toutes les valeurs seuils possibles du marqueur étudié. La sensibilité est la capacité du test à bien détecter les échantillons adultérés et la spécificité est la capacité du test à bien détecter les échantillons non adultérés.

Par conséquent, pour une détection et une quantification fiable de la paraffine et de la stéarine/acide stéarique ou d'autres adultérants, il a été recommandé d'**associer au moins deux méthodes physico-chimiques complétées par des méthodes analytiques instrumentales avancées** comme la HTGC-FID (MS) et/ou FTIR-ATR.

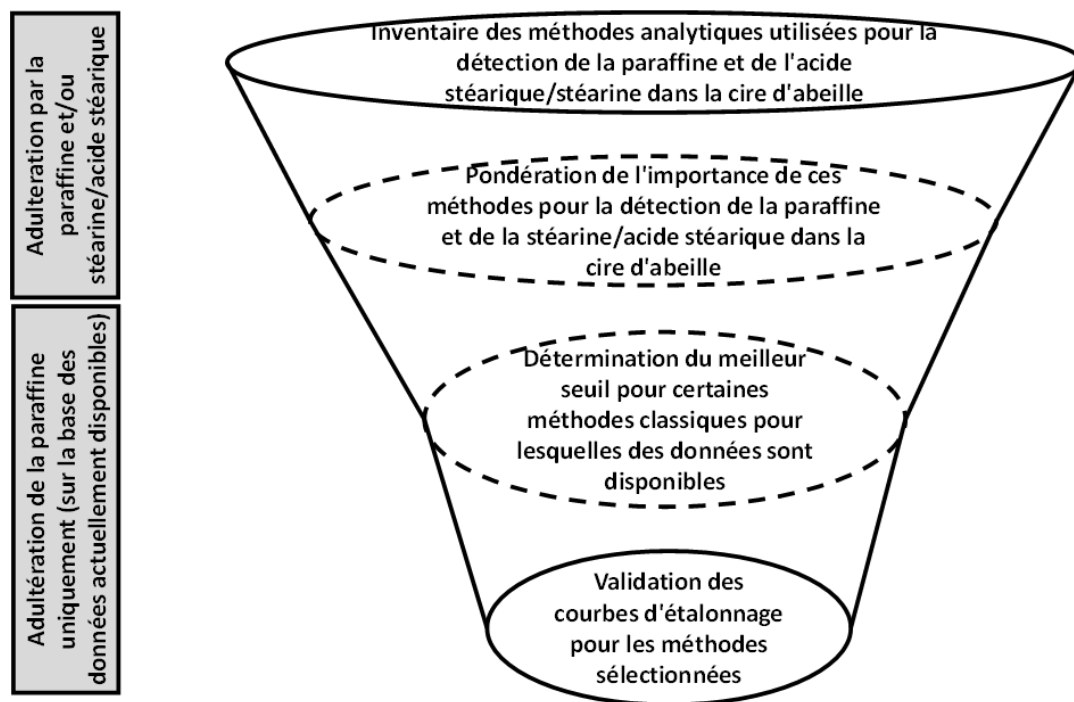


Figure 76 : Présentation de la méthodologie d'évaluation des méthodes d'analyse pour la détection de l'adultération de la cire d'abeilles (Svečnjak et al. 2021)

Les différentes méthodes de détection d'une adultération par la paraffine et la stéarine/acide stéarique qui ont été recensées dans les textes réglementaires ou la littérature scientifique puis ont fait l'objet du procédé d'élucidation par des experts dans le cadre de l'étude de Svečnjak et al. (2021) sont référencées dans les Tableau 72 et Tableau 73 ci-dessous.

Tableau 72 : Inventaire des méthodes analytiques pour la détection de la paraffine dans la cire d'abeilles (utilisées comme données d'entrée pour la grille d'évaluation)

Méthode analytique pour la détection de la falsification de la cire d'abeilles (référence : législation/littérature scientifique)	Critères de pureté	Expression du résultat (unité) définissant la cire d'abeilles pure (absence de paraffine)	Méthode validée - soutenue par la législation (O/N)	Méthode validée - appuyée par la littérature scientifique (O/N)	Valeurs anormales signalées pour la cire d'abeilles pure (authentique) dans la littérature (O/N/NDA)	Pourcentages minimaux de falsification détectés (%) / LD	Avantage(s) - méthode rapide et sans réactif (O/N)	Inconvénient - nécessite des connaissances spécialisées
Détermination de la densité (densité) (EFSA, 2007 ; EC, 2009 ; 2012 ; Ph.Eur., 2020/ Bernal et al., 2005)	Densité spécifique (densité)	0,960 g/cm ³	Oui	Oui	N	10-15	Oui	N
Détermination de l'intervalle de fusion (JECFA, 2005 ; EFSA, 2007 ; EC, 2009 ; 2012 ; Ph.Eur., 2020/Serra Bonvehí, 1990 ; Bernal et al.,	Point de fusion (point de goutte)	61-65 (°C)	Oui	Oui	N	30-50	Oui	N

Méthode analytique pour la détection de la falsification de la cire d'abeilles (référence : législation/littérature scientifique)	Critères de pureté	Expression du résultat (unité) définissant la cire d'abeilles pure (absence de paraffine)	Méthode validée - soutenue par la législation (O/N)	Méthode validée - appuyée par la littérature scientifique (O/N)	Valeurs anormales signalées pour la cire d'abeilles pure (authentique) dans la littérature (O/N/NDA)	Pourcentages minimaux de falsification détectés (%)/LD	Avantage(s) - méthode rapide et sans réactif (O/N)	Inconvénient - nécessite des connaissances spécialisées
2005 ; Serra Bonvehí et Orantes Bermejo, 2012 ; Maia & Nunes, 2013 ; Svečnjak et al., 2015)								
Détermination de l'indice d'acidité (JECFA, 2005 ; EFSA, 2007 ; CE, 2009, 2012 ; Ph.Eur., 2020/Serra Bonvehí, 1990 ; Bernal et al., 2005 ; Maia & Nunes, 2013 ; Svečnjak et al., 2015)	Indice d'acide	17-24 (mg KOH/g)	Oui	Oui	Oui	dix	N	N
Détermination de l'indice de saponification (JECFA, 2005 ; EFSA, 2007 ; CE, 2009 ; 2012 ; Ph.Eur., 2020/Serra Bonvehí, 1990 ; Bernal et al., 2005 ; Serra Bonvehí et Orantes Bermejo, 2012 ; Maia & Nunes, 2013 ; Svečnjak et al., 2015)	Indice de saponification	87-104 (mg KOH/g)	Oui	Oui	Oui	dix	N	N
Détermination de l'indice d'ester (Ph.Eur., 2020/Serra Bonvehí, 1990 ; Bernal et al., 2005 ; Svečnjak et al., 2015 , 2019a)	Valeur ester	70-90 (mg KOH/g)	Oui	Oui	Oui	5	N	N
Détermination du rapport ester/acide (Serra Bonvehí, 1990 ; Bernal et al., 2005 ; Svečnjak et al., 2015 , 2019a)	Rapport ester/acide	3,3–4,3	N	Oui	Oui	dix	N	N
Détermination de l'indice de peroxyde (JECFA, 2005 ; EFSA, 2007 ; CE, 2009, 2012/ Bernal et al., 2005 ; Svečnjak et al., 2019a)	Indice de peroxyde	<5(mM H ₂ O ₂ /kg)	N	Oui	Oui	NDA	N	N
Détermination de l'indice d'iode (Serra Bonvehí, 1990 ; Bernal et al., 2005 ; Svečnjak et al., 2019a)	Indice d'iode	7,6–13,1 (g I/100 g)	N	Oui	N	15	N	N
GC-MS (Svečnjak et al., 2019a ; Waś et al., 2016 , 2015)	Paraffine	absent	N	Oui	N	<3	N	Oui
HTGC-FID/MS (Jiménez et al., 2009 ; Serra Bonvehí &	Paraffine (et autres	absent	N	Oui	N	<4	N	Oui

Méthode analytique pour la détection de la falsification de la cire d'abeilles (référence : législation/littérature scientifique)	Critères de pureté	Expression du résultat (unité) définissant la cire d'abeilles pure (absence de paraffine)	Méthode validée - soutenue par la législation (O/N)	Méthode validée - appuyée par la littérature scientifique (O/N)	Valeurs anormales signalées pour la cire d'abeilles pure (authentique) dans la littérature (O/N/NDA)	Pourcentages minimaux de falsification détectés (%) / LD	Avantage(s) - méthode rapide et sans réactif (O/N)	Inconvénient - nécessité des connaissances spécialisées
Orantes Bermejo, 2012)	substances étrangères)							
FTIR-ATR (Maia et al., 2013 ; Svecnjak et al., 2019a, 2015 ; Tanner & Lichtenberg-Kraag, 2019)	Paraffine (et autres substances étrangères)	absent	N	Oui	N	<3,5	Oui	Oui

Légende : O, Oui ; N, non ; NDA, aucune donnée disponible ; LD, limite de détection ; GC-MS, chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse ; HTGC-FID(MS), chromatographie en phase gazeuse à haute température avec détection par ionisation de flamme/spectrométrie de masse, FTIR-ATR, spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier - réflectance totale atténuée ; JECFA, 2005 ; EFSA, 2007 - Autorité européenne de sécurité des aliments, 2007 ; CE, 2009 ; CE, 2012 ; Ph.Eur., 2020 - Pharmacopée Européenne

Tableau 73 . Inventaire des méthodes analytiques pour la détection de la stéarine/acide stéarique dans la cire d'abeilles (utilisées comme données d'entrée pour la grille d'évaluation)

Méthode analytique pour la détection de la falsification de la cire d'abeilles (référence : législation/littérature scientifique)	Critères de pureté	Expression du résultat (unité) définissant la cire d'abeilles pure (absence de paraffine)	Méthode validée - soutenue par la législation (O/N)	Méthode validée - appuyée par la littérature scientifique (O/N)	Valeurs anormales signalées pour la cire d'abeilles pure (authentique) dans la littérature (O/N/NDA)	Pourcentages minimaux de falsification détectés (%) / LD	Avantage(s) - méthode rapide et sans réactif (O/N)	Inconvénient - nécessité des connaissances spécialisées
Détermination de la densité (densité) (CE, 2009 ; 2012 ; Ph.Eur., 2020/ Bernal et al., 2005)	Densité spécifique (densité)	0,960 g/cm ³	N	Oui	N	inutile	Oui	N
Détermination de l'intervalle de fusion (JECFA, 2005 ; CE, 2009 ; 2012 ; Ph.Eur., 2020/ Bernal et al., 2005)	Point de fusion (point de goutte)	61-65 (°C)	N	Oui	N	30	Oui	N
Détermination de l'indice d'acidité (JECFA, 2005 ; CE, 2009 ; 2012 ; Ph.Eur., 2020/ Bernal et al., 2005)	Indice d'acide	17-24 (mg KOH/g)	N	Oui	Oui	2	N	N
Détermination de l'indice de saponification (JECFA, 2005 ; CE, 2009 ; Ph.Eur., 2020/ Bernal et al., 2005)	Indice de saponification	87-104 (mg KOH/g)	N	Oui	Oui	3	N	N

Méthode analytique pour la détection de la falsification de la cire d'abeilles (référence : législation/littérature scientifique)	Critères de pureté	Expression du résultat (unité) définissant la cire d'abeilles pure (absence de paraffine)	Méthode validée - soutenue par la législation (O/N)	Méthode validée - appuyée par la littérature scientifique (O/N)	Valeurs anormales signalées pour la cire d'abeilles pure (authentique) dans la littérature (O/N/NDA)	Pourcentages minimaux de falsification détectés (%)/LD	Avantage(s) - méthode rapide et sans réactif (O/N)	Inconvénient - nécessité des connaissances spécialisées
Détermination de l'indice d'ester (Ph.Eur., 2020/ Bernal et al., 2005)	Valeur ester	70-90 (mg KOH/g)	N	Oui	Oui	5	N	N
Détermination du rapport ester/acide (Bernal et al., 2005)	Rapport ester/acide	3,3–4,3	N	Oui	Oui	15	N	N
Détermination de l'indice de peroxyde (JECFA, 2005 ; CE, 2009 ; 2012/ Bernal et al., 2005)	Indice de peroxyde	<5(mM H ₂ O ₂ /kg)	N	Oui	Oui	NDA	N	N
Détermination de l'indice d'iode (Bernal et al., 2005)	Indice d'iode	7,6–13,1 (g I/100 g)	N	Oui	N	15	N	N
GC-MS (Svečnjak et al., 2019a ; Waś et al., 2016 , 2015)	Stéarine/acide stéarique	absent	N	N	NDA	inutile	N	Oui
HTGC-FID/MS (Jiménez et al., 2009 ; Serra Bonvehí & Orantes Bermejo, 2012)	Stéarine/acide stéarique (et autres substances étrangères)	absent	N	Oui	N	<1	N	Oui
FTIR-ATR (Maia et al., 2013 ; Svečnjak et al., 2019a , 2015 ; Tanner & Lichtenberg-Kraag, 2019)	Stéarine/acide stéarique (et autres substances étrangères)	absent	N	Oui	N	<1,2	Oui	Oui

Légende : O, Oui ; N, non ; NDA, aucune donnée disponible ; LD, limite de détection ; GC-MS, chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse ; HTGC-FID(MS), chromatographie en phase gazeuse à haute température avec détection par ionisation de flamme/spectrométrie de masse, FTIR-ATR, spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier - réflectance totale atténuée ; JECFA, 2005 ; EFSA, 2007 - Autorité européenne de sécurité des aliments, 2007 ; CE, 2009 ; CE, 2012 ; Ph.Eur., 2020 - Pharmacopée Européenne

Annexe 9 : Analyses complémentaires réalisées pour l'analyse des adultérants par autocontrôles

➤ Indice de saponification

Au total, 173 données concernant l'indice de saponification d'échantillons de cire d'abeilles étaient disponibles (cf. Figure 77). L'indice de saponification trouvé dans les échantillons d'autocontrôles se situait pour l'essentiel dans la fourchette de valeurs définie comme normale par (Svečnjak et al. 2021), soit entre 87 et 104 mg KOH/g. Des valeurs inférieures à cette fourchette ont été observées pour 3 échantillons (1,7 %).

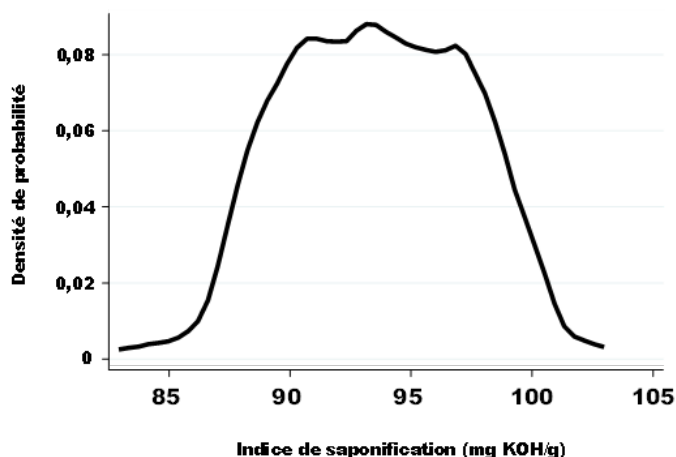


Figure 77 : Densité de probabilité estimée en fonction de l'indice de saponification de la cire d'abeilles (source : données d'autocontrôles réalisés par certains ciriers en France)

➤ Indice d'acidité

Au total, 173 données concernant l'indice d'acidité de la cire d'abeilles étaient disponibles (cf. Figure 78). L'indice d'acidité trouvé dans les échantillons d'autocontrôles se situait pour l'essentiel dans la fourchette de valeurs définie comme normale par Svečnjak et al. (2021), soit entre 17 et 24 mg KOH/g. Des valeurs inférieures à cette fourchette de normalité ont été observés pour 4 échantillons (2,3 %).

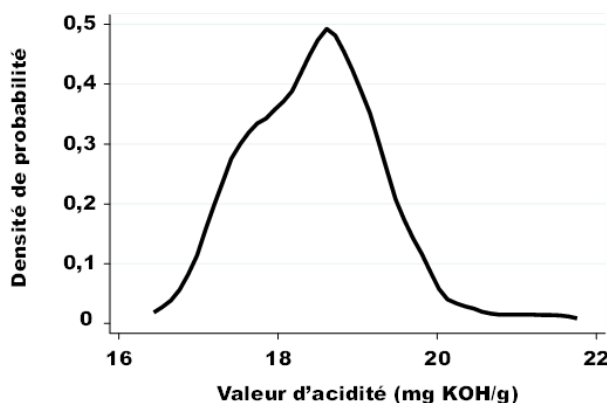


Figure 78 : Densité de probabilité estimée en fonction de l'indice d'acidité de la cire d'abeilles (source : données d'autocontrôles réalisés par certains ciriers en France)

➤ Indice d'ester

Au total, 173 données concernant l'indice d'ester de la cire d'abeilles étaient disponibles (cf. Figure 79). L'indice d'ester trouvé dans les échantillons d'autocontrôles se situait pour l'essentiel dans la fourchette de valeurs définie comme normale par Svečnjak et al. (2021), soit entre 70 et 90 mg KOH/g. Des valeurs inférieures à cette fourchette de normalité ont été observés pour cinq échantillons (2,9 %).

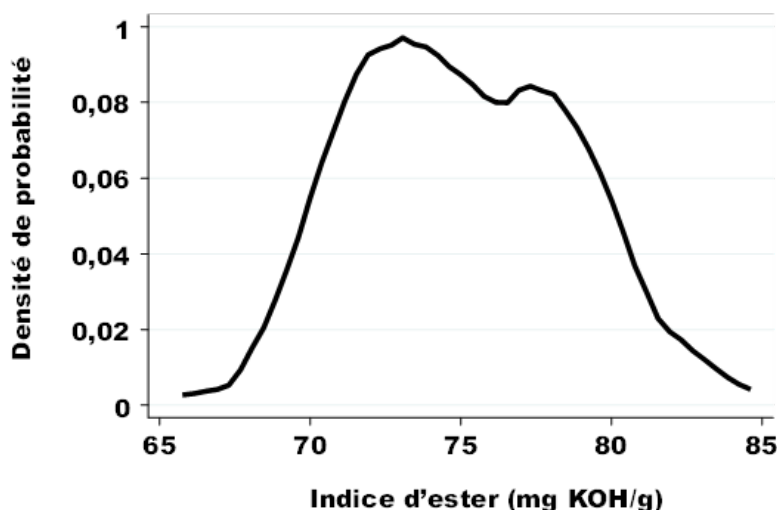


Figure 79 : Densité de probabilité estimée en fonction de l'indice d'ester de la cire d'abeilles (source : données d'autocontrôles réalisés par les ciriers en France)

➤ Rapport ester/acide

Au total, 141 données concernant le rapport ester/acide retrouvé dans la cire d'abeilles étaient disponibles (cf. Figure 80). Le rapport ester/acide de 117 échantillons d'autocontrôle se situait dans la fourchette de valeurs définie comme normale par Svečnjak et al. (2021), soit entre 3,3-4,3. Respectivement un et 23 des échantillons présentaient un résultat, respectivement, inférieur ou supérieur (17 %).

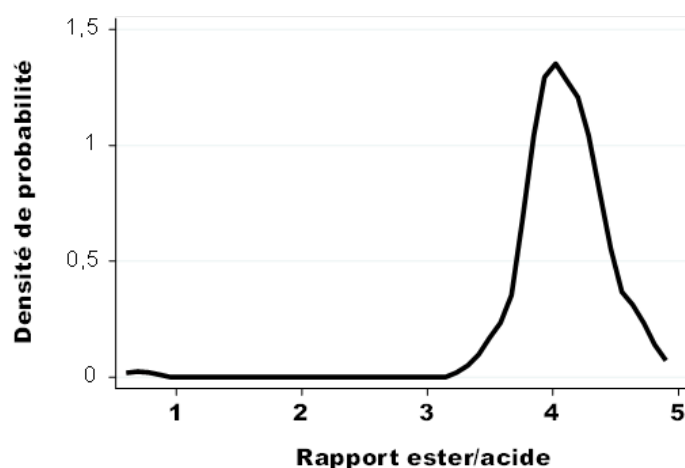


Figure 80 : Densité de probabilité estimée en fonction du rapport ester/acide de la cire d'abeilles (source : données d'autocontrôles réalisés par certains ciriers en France)

Annexe 10 : Arbres de régression réalisés pour l'établissement de groupes de fréquence d'occurrence et de concentration moyenne substances détectées par les analyses des données des autocontrôles et des études Cimeqa et CRD

La méthode des arbres de régression (cf. Figure 81 ; Figure 82 ; Figure 83) a permis de déterminer les groupes de substances statistiquement différents identifiés par des couleurs : groupe 1 en rouge, 2 en orange ; 3 en jaune ; 4 en vert pour les Tableau 30 ; Tableau 31 ; Tableau 32 de classement des substances détectées (données respectives des autocontrôles des ciriers, étude Cimeqa et CRD) selon leur fréquence d'occurrence d'une part et leur concentration moyenne d'autre part.

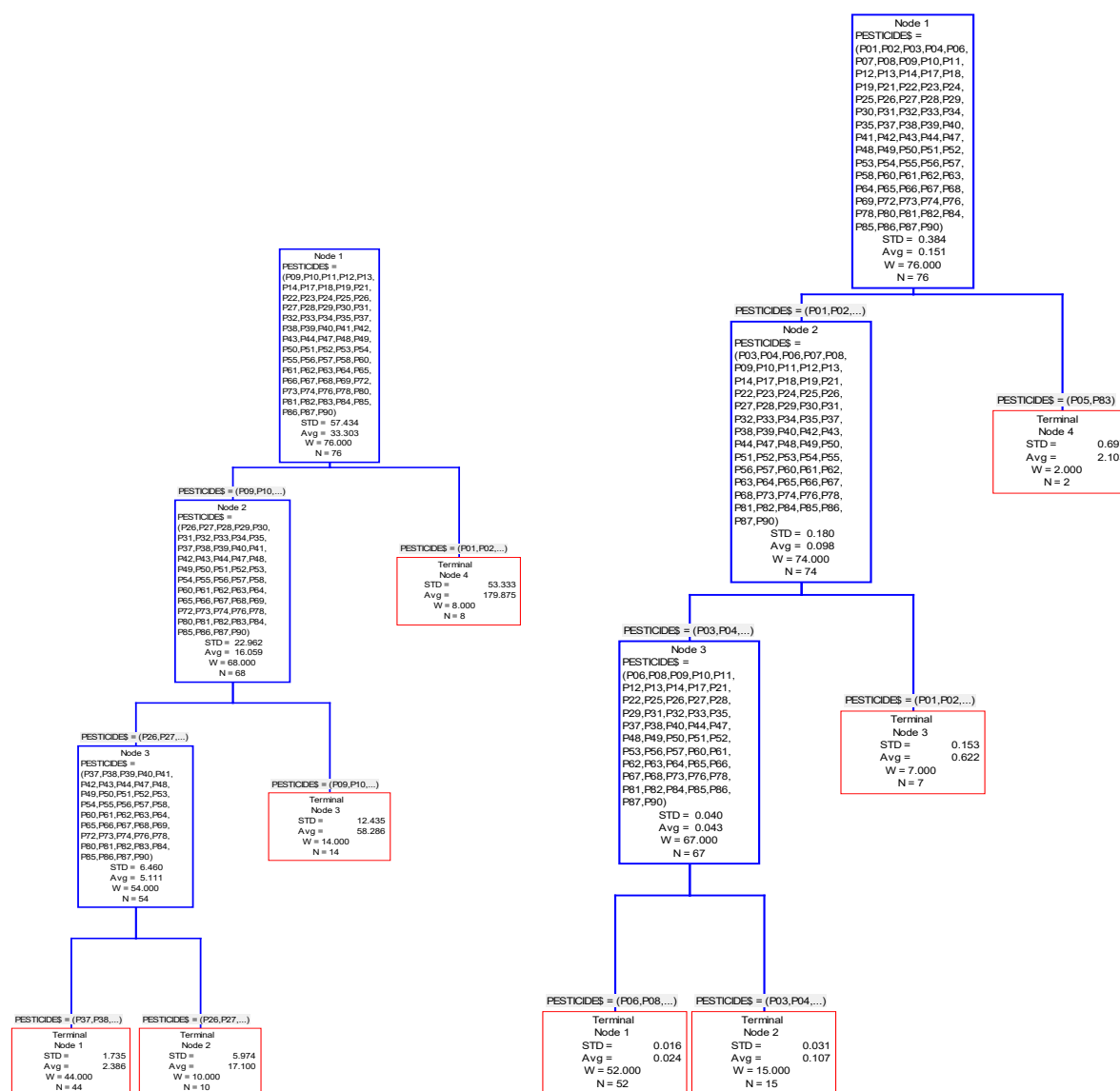
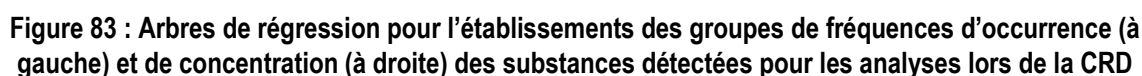


Figure 81 : Arbres de régression pour l'établissements des groupes de fréquences d'occurrence (à gauche) et de concentration (à droite) des substances détectées pour les analyses des autocontrôles de certains ciriers en France





Annexe 11 : Méthode de sélection des dix recommandations les plus importantes pour une amélioration rapide de la qualité des cires en France

Parmi les 132 recommandations émises par le GT, il a été demandé aux dix experts de sélectionner dix recommandations les plus importantes et pouvant avoir un impact rapide par ordre décroissant d'importance (1= le plus important, jusqu'à 10 = le moins important) et qui selon chacun permettraient d'améliorer la qualité de la cire rapidement.

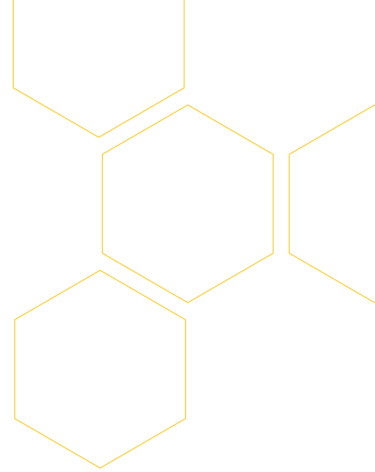
Un fichier Excel a été envoyé aux experts du GT, comportant une ligne par recommandation et chacun devait indiquer dans une colonne dédiée son choix de dix recommandations allant de 1 pour la plus importante à 10 pour la moins importante. L'exercice était individuel et chaque expert devait renvoyer sa réponse à la coordination seule. Les dix réponses ont ensuite été concaténées et anonymisées puis envoyées à un expert statisticien du GT.

A chaque ligne du fichier correspondait une recommandation. Les notations de chaque expert figuraient en colonnes. Deux colonnes finales consistaient respectivement à (i) prendre en compte le nombre de fois où une recommandation a été citée par les experts quel que soit son rang d'importance (ii) faire la somme des rangs d'importance attribués correspondants, assignés par chaque expert qui a pris cette recommandation en compte. Plus le chiffre du nombre de citation est élevé (hypothèse : plus une recommandation est plébiscitée, plus elle est importante) et plus le chiffre de la somme des rangs est faible (hypothèse : plus la somme est faible, plus la recommandation est importante), plus la recommandation sera importante. L'aspect qualitatif du nombre de fois où un expert a décidé de mettre une recommandation parmi les dix plus importantes a prévalu sur le rang qui lui était attribué (partie plus « quantitative » de l'exercice). C'est un choix du GT. Lorsque le nombre de citations d'une recommandation donnait lieu des *ex-aequos*, la somme des rangs permettait de discriminer l'une de l'autre.

Le tri a ainsi été réalisé en tenant compte en priorité du nombre de citations puis de la somme des rangs. Les dix premières recommandations issues de ce tri ont été prises en compte et approuvées par l'ensemble des membres du GT en séance de travail.

Puis, les recommandations ont été triées par ordre décroissant du nombre de fois où elles ont été plébiscitées et par ordre croissant de la somme des rangs.

Puis, les dix premières recommandations ont été extraites du classement ainsi obtenu.



Rapport final

Convention Recherche et Développement

2023-CRD-05

Projet « Développement de connaissances sur les
circuits de vente et de distribution et la qualité de la
cire gaufrée en France »

Date : 01/09/2024

Prestataire : ITSAP – Institut de l'abeille

Rédacteurs : Sarah Moreau et Cyril Vidau

• Tél. +33 (0)4 32 72 26 71 •
itsap@itsap.asso.fr
• www.itsap.asso.fr

• ASSOCIATION LOI 1901
N° SIRET 439 160 458 00030
CODE APE : 9499Z
N° TVA : FR 32 439 160 458

• **Siège social :**
149, rue de Bercy
F-75595 PARIS CEDEX 12

• **Siège scientifique, technique et administratif :**
INRAE - UR 406 A&E - Domaine Saint Paul - Site Agroparc
228 route de l'Aérodrome CS 40509 - 84914 AVIGNON CEDEX 9

Remerciements

A l'issue de ce travail nous tenons à remercier les membres de l'Anses et en particulier Julie Chiron, Caroline Boudergue et Isabelle Bourdeaux pour la confiance qu'elles nous ont accordée en nous confiant ce projet ainsi que pour l'aide qu'elles nous ont apportée tout au long de son exécution.

Nous remercions aussi chaleureusement Anne-Claire Martel et les membres du laboratoire de Sophia Antipolis pour la qualité de leur accueil et leurs conseils techniques lors de la préparation des échantillons.

Nos remerciements s'adressent également aux experts du groupe de travail « cire ». Vos conseils et vos remarques bienveillantes ont été d'une grande aide pour l'accomplissement de ce travail. Nous remercions plus particulièrement le professeur Claude Saegerman pour nous avoir accueilli dans son laboratoire de l'Université de Liège et son accompagnement méthodologique pour l'analyse des résultats.

Enfin, nous exprimons toute notre gratitude à tous ceux et celles qui nous ont fournis, souvent à titre gracieux, les échantillons de cire analysés dans ce projet. Cette étude n'aurait pas eu lieu sans votre aimable contribution.

Sommaire

Remerciements.....	2
I. Préambule.....	5
II. Méthodes.....	5
1) Recensement des distributeurs de feuilles de cire gaufrée.....	5
2) Plan d'échantillonnage	6
3) Démarche pour la collecte des échantillons	8
a. Les ciriers	8
b. Les groupements.....	8
c. Les enseignes spécialisées et générales	8
4) Archivage et traçabilité des échantillons collectés	9
5) Broyage des échantillons	9
6) Analyses chimiques et physico-chimiques.....	10
7) Accessibilité des données	10
a. Centralisation des données	10
b. Un retour personnalisé fourni à chaque participant volontaire.....	11
8) Interprétation des résultats d'analyse et exploitations statistiques	11
a. Contamination par des substances chimiques.....	11
b. Adultération	12
c. Métaux lourds et éléments traces métalliques.....	12
d. Les statistiques descriptives et analyses univariées	12
III. Résultats de la campagne d'échantillonnage.....	13
1) Contaminations	14
a) Description générale	14
b) Description des molécules retrouvées	16
c) Co-exposition : les couples de molécules fréquents	21
2) Adultérations.....	22
3) Éléments traces métalliques (ETM).....	23
4) Point de fusion et critères qualitatifs.....	24
a) Mesure quantitative : le point de fusion (°C)	24
b) Mesures qualitatives : la couleur et l'odeur	24
IV. Résultats	26
1) La qualité de la cire varie-t-elle selon sa provenance géographique ?.....	26

2) La qualité de la cire varie-t-elle selon la source d’approvisionnement ?	32
3) La qualité de la cire varie-t-elle selon sa nature ?	38
4) La qualité de la cire varie-t-elle selon le mode de production ?	44
V. Discussion	50
VI. Conclusion générale	52
VII. Bibliographie	52
ANNEXE I. Liste des molécules quantifiées au moins une fois dans les 152 échantillons de cire gaufrée analysés	54
ANNEXES II. Caractéristiques des échantillons de cires détaillées par origines géographiques	59
ANNEXES III : Caractéristiques des échantillons de cires produites en circuit conventionnel détaillées en fonction de leur nature.....	64

I. Préambule

Le Groupe de Travail (GT) réuni par l'Anses pour répondre à l'autosaisine sur la qualité des cires d'abeilles employées par les apiculteurs français et son impact sur la santé des abeilles et de la colonie s'appuie en particulier sur les résultats du projet Cimeqa. Ce projet, porté par l'ITSAP-institut de l'abeille en partenariat avec les Associations régionales de Développement Apicole (ADA) s'est principalement intéressé à la contamination et l'adultération des cires employées par les apiculteurs professionnels. Ceux-ci sont pour la plupart autosuffisants en cire, c'est à dire qu'ils recyclent la cire issue de leur cheptel pour faire confectionner par des ciriers les feuilles de cires qu'ils utilisent dans leurs exploitations. Par conséquent, le projet Cimeqa est peu informatif quant à la qualité des cires employées par les apiculteurs de loisirs (détenteur de moins de 50 colonies) alors qu'ils étaient en 2023 au nombre de 63 415 et possédaient 28,3 % du cheptel apiaire français. Compte tenu de la taille modeste de leur cheptel, ces derniers ne produisent pas assez de cire pour faire confectionner à façon (en utilisant leur propre cire) des feuilles de cire gaufrée et s'approvisionnent la plupart du temps dans le commerce ou auprès de groupements apicoles. Pour combler ce manque et apporter des informations indispensables au GT sur la contamination et l'adultération des cires employées en France, une Convention Recherche Développement (2023-CRD-05) a été établie entre l'Anses et l'ITSAP.

L'objectif de la CRD était de collecter auprès de quatre types de distributeurs français (ciriers, groupements apicoles, enseignes spécialisées et enseignes générales) des lots de feuilles de cire gaufrée et de les analyser afin de consolider le jeu de données généré par le projet Cimeqa. La méthodologie d'échantillonnage ainsi que les résultats des analyses réalisées sur la contamination (produits phytopharmaceutiques et biocides, médicaments vétérinaires et éléments traces métalliques) et l'adultération des cires ainsi collectées sont présentés dans ce rapport.

II. Méthodes

1) Recensement des distributeurs de feuilles de cire gaufrée

Afin d'établir un plan d'échantillonnage de feuilles de cire gaufrée, la première action a consisté à lister l'ensemble des distributeurs de cire (ciriers, enseignes spécialisées, enseignes générales et groupements apicoles) présents sur le territoire français hexagonal. Ce recensement a été effectué dans un premier temps par l'intermédiaire des vétérinaires référents du secteur apiculture des Groupements Techniques Vétérinaires (GTV). Ce recensement a permis d'identifier 196 distributeurs. Un travail de recherche a ensuite été entrepris par l'ITSAP afin de compléter la liste de ces distributeurs. Ce travail a consisté à une première prospection sur internet à l'aide des mots-clés « cire gaufrée ». À la suite de cette prospection, une deuxième recherche a été réalisée sur les sites web des ciriers et enseignes spécialisées, afin d'identifier d'éventuels magasins distributeurs non encore répertoriés. Pendant cette prospection, pour chaque structure identifiée, les coordonnées de contact

(adresse et localisation géographique, numéros de téléphone, site web et adresse mail, si disponibles) ont été enregistrées dans un tableur Excel. Lorsque les informations étaient accessibles, les références de cire concernant le format (Dadant, Voirnot, Warré...), la nature de la cire (opercules, mélanges) ou encore la qualité (« standard », « premium », AB) ont également été consignées. Par ailleurs, chaque groupement de défense sanitaire apicole départemental a été contacté et fait l'objet de demandes similaires. Enfin, les informations relatives aux possibilités de collecte et d'achat de la cire ont été répertoriées (prix, quantité minimale vendue, frais d'expédition, moyens de paiement...). Un total de 435 distributeurs (16 ciriers, 113 enseignes spécialisées, 249 enseignes générales et 57 groupements) a ainsi été répertorié.

2) Plan d'échantillonnage

Un plan d'échantillonnage a été élaboré afin d'obtenir environ 200 échantillons de feuilles de cire gaufrée. Le GT a fixé pour objectif de collecter 45 échantillons auprès des ciriers, 55 échantillons auprès d'enseignes spécialisées, 30 échantillons auprès d'enseignes générales et 70 échantillons auprès de groupements. Pour les enseignes spécialisées et les enseignes générales, une sélection des structures à collecter a été établie en fonction d'un critère géographique (régions administratives) et du nombre de colonies déclarées par les apiculteurs de loisir (détenteurs d'un nombre de colonies inférieur ou égal à 73) dans chacune de ces zones. Ensuite, ces zones géographiques ont été regroupées entre elles afin d'obtenir cinq lots équivalents en termes de nombre de colonies (Figure 1).

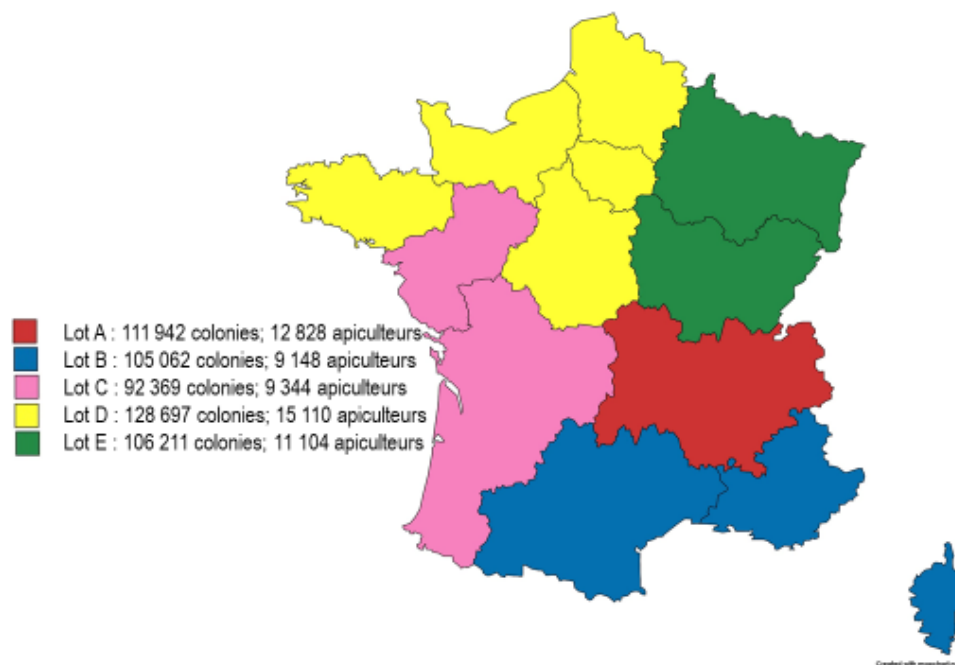


Figure 1. Répartition des lots géographiques sur le territoire métropolitain

Pour échantillonner les cires gaufrées auprès de ces distributeurs de sorte à être représentatif de la situation française, une sélection aléatoire a été effectuée, par le biais d'une randomisation. Afin de pallier l'absence de réponse de la part de certains distributeurs, près de 50 % de marge a été prise en compte afin de constituer une « réserve » d'enseignes à

échantillonner. Finalement, 80 enseignes spécialisées et 45 enseignes générales ont été sélectionnées aléatoirement selon le critère “lot régional”. Le nombre d’échantillons de cire à collecter dans chaque lot géographique est représenté dans les tableaux 1 et 2.

Tableau 1 : Description du plan d’échantillonnage et du nombre attendu d’échantillons par catégorie de distributeurs, en intégrant la dimension de lot géographique

Catégorie/Type de distributeurs (N=effectifs)	Description	Nombre d’échantillons à prélever	Remarque sur les échantillons à prélever	Méthode de sélection
Ciriers (N=16)	Ciriers avec une activité de gaufrage à façon	45	3 qualités de cire par cirier (ou à défaut 3 lots différents) avec sélection systématique des cires AB	Exhaustive
Groupements (N=70)	Groupements type GDSa qui font réaliser du gaufrage de lots personnalisés pour leurs adhérents	70	Gaufrage à façon groupé	Exhaustive
	Apiculteurs de loisir qui font gaufrer leur propre cire ou la gaufre individuellement par mise à disposition d’un gaufrier		Gaufrage à façon individuel	
Enseignes spécialisées (N=113)	Enseignes qui vendent exclusivement du matériel apicole (dont coopératives)	55	19 échantillons recherchés par lot géographique (Sélection systématique des cires AB)	Aléatoire, randomisation
Enseignes générales (N=249)	Enseignes qui ne vendent pas exclusivement du matériel apicole	30	2 magasins de bricolage au moins par lot régional et un autre établissement	Aléatoire, randomisation

Tableau 2. Répartition par lot géographique du nombre de structures à échantillonner pour les enseignes spécialisées et générales

	Enseignes spécialisées		Enseignes générales	
	Avec réserve	Sans réserve	Avec réserve	Sans réserve
A	10	7	6	4
B	17	11	9	6
C	13	9	7	5
D	26	18	15	10
E	14	10	8	5
TOTAL	80	55	45	30

3) Démarche pour la collecte des échantillons

La collecte des échantillons de cires a été effectuée par l'ITSAP auprès des quatre catégories de distributeurs. Les distributeurs sollicités étaient tenus de fournir les informations suivantes pour chaque échantillon envoyé : le numéro de lot, l'identité du fournisseur, l'année de production, l'origine géographique, la nature de la cire ("Opércules exclusivement" ou "Mélanges") et le mode de production ("AB" ou "Conventionnel").

a. Les ciriers

Chaque cirier a été sollicité par entretien téléphonique. L'objectif et le cadre de cette sollicitation leur ont été exposés par souci de transparence. Pour chaque cirier, une demande concernant l'envoi de trois échantillons a été formulée (Tableau 1). Certains d'entre eux peuvent, en effet, proposer différentes qualités/catégories de cire. La priorité était donnée à de la cire gaufrée issue de l'AB, lorsqu'elle était disponible. Le second choix portait sur des cires qui se distinguaient par leur nature (Opércules vs. Mélanges) ou à défaut, des cires issues de lots différents. Au sein d'un lot de cire, trois feuilles étaient demandées : celle du dessus, celle du dessous et une feuille au située au milieu du lot.

b. Les groupements

Les apiculteurs qui se regroupent entre eux pour faire gaufrer à façon leurs cires étaient également visés dans cette étude (principalement des GDSA). Afin d'identifier parmi les groupements de défense sanitaire généraux et/ou apicoles, ceux qui organisent une collecte de cire pour du gaufrage à façon, l'animatrice du GT cire a préalablement contacté tous les GDSA. Les GDSA identifiés ont ensuite été recontactés par téléphone et/ou mail pour recevoir les modalités de collecte et d'envoi des échantillons.

c. Les enseignes spécialisées et générales

Ces catégories de distributeurs ont été sollicitées par téléphone et/ou par mail. Les objectifs de l'étude ne leur ont pas été précisés, sauf en cas de demande particulière. Lorsque différents

types de cire étaient référencés, il leur a été demandé d'envoyer au moins un échantillon représentatif de chacun d'eux. Les échantillons provenant de ces enseignes ont été collectés la plupart du temps via un achat en ligne.

4) Archivage et traçabilité des échantillons collectés

A l'issue de la collecte, 152 échantillons de cire ont été réceptionnés et stockés sur le site de l'ITSAP à Avignon. En fonction du distributeur, les échantillons de cire envoyés étaient constitués de trois à dix feuilles de cires. Lorsque ceux-ci sont arrivés par lot de plusieurs feuilles, trois feuilles ont été prélevées : la première feuille, une au milieu et la dernière feuille du lot. Chaque lot a été identifié par un code unique. Le colis, les feuilles qu'il contenait ainsi que l'échantillon une fois mis en sachet congélation hermétique ont été photographiés. Une base de données a été créée afin d'enregistrer pour chaque échantillon : sa date d'arrivée, le nom de l'expéditeur, le type de distributeurs et les informations relatives à la nature de l'échantillon. L'odeur et la couleur de chaque échantillon de cire ont aussi été caractérisées et enregistrées. La couleur des échantillons a été caractérisée à l'aide d'un nuancier PANTONE® de référence GG6104A.

5) Broyage des échantillons

Le broyage des échantillons a été réalisé dans le laboratoire de l'Anses de Sophia-Antipolis. Afin d'obtenir des échantillons homogènes, les feuilles de cire gaufrée ont été broyées de la manière suivante :

- Les sachets contenant les échantillons (3 feuilles de cire) sont placés à -80°C pendant environ une nuit,
- Le sachet est ensuite malaxé manuellement pour fragmenter les feuilles,
- Une partie du sachet (environ trois quarts du contenu) est versé dans le broyeur de la marque Fritsch (modèle Pulverisette 11) avec environ 10 g de carboglace,
- Un premier broyage est réalisé à 4 000 rpm pendant 15 secondes,
- La seconde partie du sachet est ajoutée avec 5 g de carboglace,
- Un deuxième broyage est réalisé à 8 000 rpm pendant 15 secondes,
- 5 g de carboglace sont ajoutés au mélange ainsi obtenu
- Un dernier broyage est effectué d'abord à 2 000 rpm pendant 10 secondes, puis 4 000 rpm pendant 5 secondes.
- Le broyat ainsi obtenu est ensuite replacé dans son sachet d'origine et stocké à température ambiante jusqu'au moment de la préparation des aliquots,
- Pour chaque échantillon, trois aliquots préalablement identifiés sont préparés. Chaque aliquot contient environ 25-30 g de cire sous forme poudreuse.
- Entre chaque échantillon, les vases servant au broyage ont été nettoyés à l'eau savonneuse, rincés une première fois à l'eau du réseau domestique et une seconde fois à l'eau distillée et enfin, ils ont été séchés.

Un tutoriel vidéo a été réalisé afin de standardiser la méthode de broyage et de réalisation des échantillons en cas de compléments nécessaires à l'enquête conduite.

6) Analyses chimiques et physico-chimiques

Pour chaque broyat de cire, trois sous-échantillons d'environ 30 g chacun ont été prélevés et placés dans des pots en plastique, la traçabilité étant assurée par un étiquetage. Puis chaque prélèvement a ensuite été envoyé aux trois laboratoires. Ces laboratoires ont été sélectionnés à la suite d'une offre de marché ouverte par l'Anses au printemps 2023.

La recherche des résidus de produits phytopharmaceutiques et/ou biocides ou médicaments vétérinaires et de médicaments vétérinaires a été réalisée par le laboratoire du Girpa (Beaucouzé, France). Chaque échantillon a été analysé à l'aide d'une méthode multi-résidus (méthode M30) qui permet de rechercher 501 résidus de produits phytopharmaceutiques et/ou biocides ou de médicaments vétérinaires. Une demande spécifique a été formulée pour que le thymol soit ajouté aux substances recherchées.

La recherche d'adultérants a été réalisée par le laboratoire du Crea (Bologne, Italie). La pureté des échantillons a été caractérisée à l'aide d'une méthode chromatographique (MDP85) permettant de quantifier les hydrocarbures de paraffines ainsi que certains acides gras (mirisitique, palmitique, oléique, stéarique et cétilique) et autres alcools gras.

La recherche de métaux lourds et traces d'éléments métalliques a été réalisée par le laboratoire Meurice (Anderlecht, Belgique). Chaque échantillon a été analysé à l'aide d'une méthode permettant de quantifier des métaux lourds et autres éléments traces métalliques (Al, As, Cd, Co, Cr, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb SE, V, Zn).

En parallèle de ces analyses, la mesure des points de fusion de chaque échantillon a été réalisée en interne à l'ITSAP, à l'aide d'un banc Kofler.

7) Accessibilité des données

a. Centralisation des données

Les éléments relatifs à la traçabilité des échantillons les informations communiquées par les distributeurs et les résultats des analyses ont été saisis dans un fichier Excel. Celui-ci comporte plusieurs onglets : une base de données brutes dans laquelle figure les résultats d'analyses des 177 échantillons (y compris les répliques) envoyés au laboratoire ; une base de données "épuration" dans laquelle ne figurent que les résultats des 152 échantillons collectés auprès des distributeurs. Concernant les échantillons qui ont été analysés en duplicat les valeurs retenues correspondent à la moyenne arithmétique des 2 résultats communiqués par les laboratoires.

Ce fichier contient également des informations relatives aux molécules retrouvées (propriétés physico-chimiques, activités, usages et valeurs toxicologiques de référence). Les doses létales 50 (DL₅₀) ont été obtenues à partir des informations de la base de données openfoodtox de l'EFSA. Lorsque des valeurs manquaient, la Pesticide Properties DataBase¹ (PPDB) a été utilisée par défaut. Enfin, une publication de Atkins datant de 1983 a été prise en compte afin d'obtenir les DL₅₀ non recensées dans l'openfoodtox ou la PPDB. En plus des DL₅₀ topiques et orales, des données sur le type d'activité des molécules (insecticide, fongicide, acaricide,

¹ <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>

biocide...) ainsi que sur leurs usages (phytopharmaceutique, vétérinaire, vétérinaire apicole) ont également été répertoriées. Pour finir, d'autres caractéristiques (métabolite, masse molaire, log de P...) ont aussi été enregistrées à partir des données issues de la Pesticide Properties DataBase (PPDB). Une vérification des données a été réalisée par les membres du GT cire.

b. Un retour personnalisé fourni à chaque participant volontaire

Lorsque l'ensemble des résultats ont été réceptionnés, soit le 2 avril 2024, les participants souhaitant obtenir un retour sur les analyses des échantillons qu'ils avaient fourni ont reçu un fichier Excel résumant les résultats d'analyses.

8) Interprétation des résultats d'analyse et exploitations statistiques

a. Contamination par des substances chimiques

Pour chaque substance retrouvée, la fréquence de détection ainsi que les teneurs moyennes, médianes et maximums ont été calculées.

Pour interpréter les résultats des analyses, ceux-ci ont été transformés en différents indicateurs choisis par les experts du GT cire.

Le **nombre de substances par échantillon** est l'indicateur utilisé pour décrire la contamination de chaque échantillon.

Pour traduire les niveaux de contamination en risque toxicologique pour les abeilles, deux indicateurs ont été calculés : l'**ETR (Exposure Toxicity Ratio)** et le **QR** (quotient de risque). Ils sont tous deux calculés en prenant en compte la teneur et la toxicité (DL₅₀) de chaque substance.

L'ETR est calculé en faisant la somme des rapports des quantités de chaque substance contenue(s) dans une alvéole de cire divisé par leur DL₅₀ orale selon la formule suivante :

$$ETR_{\text{cire}} = \sum \left(\frac{\text{Quantité substance active } i \text{ (}\mu\text{g/alvéole)}}{DL_{50} \text{ abeille contact (}\mu\text{g/abeille)}} \right).$$

La quantité d'une substance par alvéole est obtenue en divisant sa teneur en mg/kg de cire par 10 (pour ramener au poids d'une feuille de 100 g) puis par 8 000 (correspondant au nombre d'alvéoles par feuille de cire au format d'une ruche Dadant).

Si la valeur de DL₅₀ orale n'était pas disponible, la DL₅₀ contact a été utilisée par défaut.

Lorsque l'ETR prend la valeur 1, cela signifie que la quantité de substance contenue dans la cire formant l'alvéole correspond à un équivalent de la DL₅₀. L'ETR peut parfois être sous-estimé en raison de l'absence de certaines DL₅₀.

Le QR calculé selon le BeeToxWax correspond à un équivalent du nombre de DL₅₀ par kg de cire. Il diffère aussi de l'ETR par le fait qu'il prend en compte la DL₅₀ contact et à défaut la DL₅₀ orale. En absence de valeurs disponibles, une DL₅₀ de 200 µg par abeille était considérée, ce fut le cas pour cinq molécules : l'azaconazole (fongicide), la diphenylamine (insecticide, fongicide), l'Esprocarb (herbicide), le fenchlorphos (insecticide) et le s-421 (synergiste). De plus, des valeurs seuils existent déjà pour interpréter les valeurs de QR. Ainsi, lorsqu'il est supérieur à 250, le QR indique un risque toxicologique non négligeable (Calatayud-Vernich et

al., 2019). Le QR indique un risque très élevé lorsque celui-ci dépasse 5 000 (Traynor et al., 2016).

Pour aller encore plus loin dans l'interprétation du risque toxicologique, des ECA (Estimated Teneurs Acceptable) ou TAP (teneurs acceptables provisoires), limites d'action définies selon Wilmart en 2021 ont été calculées en fonction des trois scénarios d'exposition décrits dans cette publication. L'utilisation de ces scénarios nécessite d'estimer le taux de transfert des substances entre la cire et les individus. Le log P est utilisé pour faire cette estimation selon la formule suivante :

$$\text{Taux de transfert} = [\log P - \text{Min}(\log \log P)] / \left[\frac{\text{Max}(\log \log P) - \text{Min}(\log \log P)}{100} \right].$$

La TAP la plus faible obtenue après calcul des trois scénarios est retenue pour être comparée aux concentrations médianes des molécules retrouvées dans les échantillons (N=152).

b. Adultération

Pour décrire l'adultération des échantillons analysés, le nombre de différentes substances adultérantes quantifiées ainsi que leurs fréquences de quantification ont été collectées par les analyses de laboratoire puis leurs teneurs moyennes, médianes et maximales ont été calculées.

Les acides palmitique (C16) et stéarique (C18) pouvant être naturellement présents dans la cire, des valeurs seuils, au-delà desquelles leur quantité n'est pas compatible avec de la cire d'abeille naturelle, ont été calculées à partir des données publiées par Tulloch (1980). Sachant que la cire contient au maximum 15 % d'acides gras (AG) libres, d'une part et d'autre part que l'acide palmitique (C16) représente 5,8 % des AG libres et les acides stéarique et oléique (C18) 3,3 % des AG libres, la teneur naturelle maximale d'acide palmitique dans la cire est d'environ 0,87 %, et celles des acides stéarique et oléique d'environ 0,495 %. Dans cette étude la présence de ces AG est considérée comme liée à une adultération si la teneur retrouvée dépasse ces teneurs naturelles.

Les hydrocarbures de paraffine étant nécessairement d'origine exogène, leur présence dans la cire est systématiquement considérée comme liée à une adultération.

c. Métaux lourds et éléments traces métalliques

Le nombre de métaux lourds ou d'éléments traces métalliques (ETM) détectés et/ou quantifiés par échantillon ainsi que leurs fréquences de quantification, teneurs moyennes, médianes et maximales ont été calculées. Dans les cas où la substance recherchée était détectée à une teneur inférieure à la limite de quantification, la moyenne entre la valeur de la LQ et la LD a été prise en compte pour le calcul des teneurs moyennes et médianes.

d. Les statistiques descriptives et analyses univariées

La qualité des cires a été étudiée en fonction de leur typologie (origine géographique, nature de la cire -opercules exclusivement ou mélanges- et mode de production -AB ou conventionnel-) au moyen des indicateurs énoncés précédemment.

Pour comparer les typologies de cire, des analyses univariées ont été réalisées à l'aide de tests d'hypothèses au seuil de significativité alpha de 0,05. Lorsque les conditions d'application de

tests paramétriques étaient vérifiées (normalité des données et homoscedasticité² des variances), un test d'Anova (complété par un test de Tuckey) ou un test de Student a été utilisé selon le nombre d'échantillons à comparer. A défaut, un test de Kruskal-Wallis (complété par un test de Dunn) ou un test de Wilcoxon-Mann-Whitney était réalisé (équivalents non-paramétriques des tests précédemment cités). La significativité des différences observées a été représentée sur les boxplots selon la codification universelle soit : “*” pour une valeur de p inférieure à 0,05 ; “**” pour une valeur de p inférieure à 0,01 ou encore “****” pour une valeur de p inférieure à 0,001.

III. Résultats de la campagne d'échantillonnage

A l'issue de la campagne d'échantillonnage, 152 échantillons de cires ont été collectés (Tableau 3). Plus précisément, 37 ont été obtenus auprès des ciriers, (82 % de l'objectif), 33 auprès de groupements apicoles (47 % de l'objectif), 48 auprès d'enseignes spécialisées (87 % de l'objectif) et 34 auprès des enseignes générales (113 % de l'objectif).

Tableau 3 : Description des échantillons réceptionnés par rapport aux attendus théoriques

Nombre d'échantillons réceptionné/ lot régional et / type de distributeurs	Type de distributeur						Total général
	Ciriers	Groupements	Enseignes spécialisées	Enseignes spécialisées (nombre attendu)	Enseignes générales	Enseignes générales (nombre attendu)	
Lot régional							
A	6	10	8	7	3	4	27
B	12	7	7	11	5	6	31
C	6	4	4	9	5	5	19
D	9	7	18	18	14	10	48
E	4	4	12	10	7	5	27
Total général	37	32	49	55	34	30	152
Nombre d'échantillons attendus en fonction du type de distributeur	45	70	55		30		200

² La variance des erreurs est constante à tous les niveaux de la ou des variables indépendantes.

IV. Résultats

1) Contaminations

a) Description générale

Les 152 cires analysées ont été obtenues auprès d'une centaine de distributeurs toutes catégories confondues. Ainsi, 24,3 % des échantillons ont été fournis par des ciriers, 22,4 % proviennent d'enseignes générales, 32,2 % d'enseignes spécialisées et 21,1 % proviennent des groupements (Tableau 4). Chaque catégorie de distributeurs est représentée de manière relativement homogène par rapport aux autres. En termes d'origines géographiques, 68,4 % des échantillons de cire analysés proviendraient aux dires des distributeurs exclusivement de France, 16,45 % correspondent à des mélanges de cires provenant à la fois de pays membres et extérieurs à l'UE, près de 4 % proviennent exclusivement de pays extérieurs à l'Union européenne (UE) et 6,6 % qui proviennent exclusivement de pays membres de l'UE hors France. Enfin, 4 % des échantillons n'ont pu être associés à une origine géographique par défaut de traçabilité du lot échantillonné.

Concernant le mode de production, 6,6 % des échantillons de cires portaient le label AB et 90 % étaient destinés à un usage apicole conventionnel. Le mode de production n'a pu être retracé pour 3,3 % des échantillons (Tableau 4).

Enfin, 61 % des échantillons proviennent de la transformation de mélanges de cire de brèches et d'opercules et 35 % sont issus exclusivement de cires d'opercules. Il faut noter que, certains distributeurs ont préféré l'appellation "mélanges" à celui "d'opercules" lorsqu'ils avaient un doute. La nature de la cire n'a pas pu être définie pour 4 % des échantillons.

Tableau 4. Caractéristiques des 152 cires analysées

Mode de production	AB (N=10)		Conventionnel (N=137)			Inconnu (N=5)	Total général (N=152)
Nature de la cire échantillonnée	Mélanges	Opercules exclusivement	Inconnue	Mélanges	Opercules exclusivement		
Origine géographique de la cire en fonction de la catégorie de distributeurs							
Ciriers		3		22	12		37
France		3		18	12		33
Inconnue				1			1
UE/hors UE				3			3
Enseignes générales				27	4	3	34
France				6	2		8

Hors UE				3			3
Inconnue						3	3
UE				1	2		3
UE/hors UE				17			17
Enseignes spécialisées	1	2	1	31	12	2	49
France		1		19	11		31
Hors UE	1			1	1		3
Inconnue			1			2	3
UE		1		6			7
UE/hors UE				5			5
Groupements	1	3		11	17		32
France	1	3		11	17		32
Total général	2	8	1	91	45	5	152

Sur les 152 échantillons analysés, tous contiennent au moins un résidu de produits phytopharmaceutiques et/ou biocides ou de médicaments vétérinaires. Le nombre de résidus est en moyenne de 9,97 par échantillon et les cires les plus contaminées contenaient jusqu'à 20 résidus de substances chimiques contaminantes différentes. Les indicateurs de risque ETR et QR ont respectivement les valeurs moyennes de 0,03 et 7 104 et des valeurs maximales de 2,14 et 98 342 (Tableau 5).

Tableau 5 : Description des paramètres de position de l'ensemble des indicateurs de contamination

Indicateur	Moyenne	Médiane	Maximum	Minimum	90e Centile
Nombre de substances	9,97	10	20	1	15,9
ETR cire	0,03	0,01	2,14	0	0,05
QR BeeToxWax	7 103,99	4 025,50	98 342	0,27	13 469,70

La comparaison des valeurs de QR aux seuils de risque disponibles dans la littérature indique que 27,6 % des échantillons analysés sont sous un seuil de risque acceptable (<250) contre 41,5 % qui dépassent le seuil de risque de 5 000 considéré par Traynor et al. (2016) comme inacceptable (Tableau 6).

Tableau 6 : Comparaison des QR calculés en fonction des seuils de la littérature scientifique

Seuils de la littérature scientifique	Nombre d'échantillons	Catégorie
<250	42	Acceptable
250-4999 (Traynor et al., 2016 ; Calatayud-Vernich et al., 2019)	47	Préoccupant
5000-9999 (Traynor et al., 2016 ; Calatayud-Vernich et al., 2019)	42	Inacceptable
>10000	21	Haut risque

b) Description des molécules retrouvées

Les résultats d'analyse font apparaître une grande diversité de contaminants avec 70 résidus différents retrouvés (Tableau 7). Plus de la moitié de ceux-ci ont une seule activité répertoriée mais 44 % d'entre eux ont des activités multiples. Parmi ces substances 60 % ont une activité insecticide et/ou acaricide.

Tableau 7 : Bilan des analyses de contaminations chimiques : type d'activités des molécules retrouvées

Nombre d'échantillons analysés		152
Pourcentage d'échantillons contaminés (%), soit pour lesquels au moins une substance est quantifiée		100
Nombre total de substances différentes quantifiées		70
Activité unique (et métabolites)	Acaricide	2
	Fongicide	14
	Herbicide	5
	Insecticide	16
	Synergiste	2
	TOTAL	39
Double activité(s) (et métabolites)	Fongicide ; Nématicide	1
	Fongicide ; Regul. Croissance Plante	2
	Herbicide ; Regul. Croissance Plante	1

	Insecticide ; Acaricide	22
	Insecticide ; Nématicide	1
	TOTAL	27
> 2 activités (et métabolites)	Insecticide ; Acaricide ; Nématicide	1
	Insecticide ; Fongicide ; Acaricide	1
	Insecticide ; Fongicide ; Regul. Croissance Plante	1
	Insecticide ; Regul. Croissance Plante	1
	TOTAL	4

Concernant les usages, une grande majorité des substances retrouvées (70 %) ont un usage phytopharmaceutique (Tableau 8). Plus de 61 % des substances ont un seul usage connu et près de 23 % sont employées pour plusieurs usages. Enfin, 58,6 % des 70 substances présentent au moins un usage qui n'est pas ou plus autorisé en UE et parmi elles, sept présentent un usage non autorisé mais également non répertorié dans les traitements phytopharmaceutiques, biocides ou vétérinaires.

Tableau 8 : Bilan des analyses de contaminations chimiques : usages des molécules retrouvées

Nombre Total De Substances Différentes Quantifiées	70
Biocide	2
Biocide ; Phytopharmaceutique	5
Biocide ; Phytopharmaceutique ; Vétérinaire	2
Biocide ; Phytopharmaceutique ; Vétérinaire Non Autorisé	1
Biocide ; Phytopharmaceutique Non Autorisé	5
Biocide ; Vétérinaire ; Vétérinaire Apicole Non Autorisé	1
Biocide Non Autorisé	2
Non Autorisé	7
Phytopharmaceutique	13

Phytopharmaceutique ; Vétérinaire Non Autorisé	1
Phytopharmaceutique Non Autorisé	21
Phytopharmaceutique ; Vétérinaire Apicole	1
Vétérinaire Apicole	2
Vétérinaire Apicole Non Autorisé	1
Vétérinaire Non Autorisé	2

Les trois substances contaminant le plus fréquemment la cire (Tableau 9) sont le tau-fluvalinate, le coumaphos et le thymol. Ces substances ont une activité acaricide et rentrent dans la composition de médicaments vétérinaires actuellement autorisés en UE (tau-fluvalinate et thymol) ou qui l'étaient par le passé (coumaphos)

Le thymol enregistre la teneur maximale la plus élevée dans cette étude (36 mg/kg). Quantifiés dans respectivement 47 % et 31 % des échantillons, la fluméthrine et le DMF (métabolite de l'amitraze) sont des acaricides à usage apicole qui sont également présents parmi les dix substances les plus souvent quantifiées.

Le synergiste pipéronyl butoxyde (PBO) et l'insecticide/acaricide propargite sont retrouvés dans plus de 75 % des cires analysées. Le propargite n'est plus autorisé en France en tant que produit phytopharmaceutique et n'a jamais été autorisé comme acaricide apicole. Sa présence très fréquente ainsi que les fortes teneurs quantifiées (2,21 mg/kg en moyenne) interrogent sur son origine. Sa présence reste donc énigmatique et préoccupante d'autant que très peu de références toxicologiques existent quant à ses potentiels effets délétères sur la santé des abeilles adultes et du couvain.

La perméthrine, connue pour sa toxicité pour les abeilles, ou l'hexythiazox sont quantifiés dans respectivement 47 % et 29 % des échantillons analysés.

Le chlorpyrifos est retrouvé dans près de 30 % des échantillons. Il n'est plus autorisé en France.

Parmi les 12 substances les plus souvent quantifiées dans les 152 échantillons analysés, apparaissent également le fenpyroximate et le spiroadiclofen.

Les 58 autres substances restantes (dont 39 sont retrouvées dans moins de 5 % des échantillons), sont présentes à des teneurs moyennes inférieures à 0,5 mg/kg. Seul le HCH alpha, métabolite du HCH (insecticide/acaricide qui n'est plus autorisé mais quantifié dans 13 % des échantillons), est retrouvé avec un maximum de 0,95 mg/kg (Annexe I).

Tableau 9 : Douze premières substances quantifiées dans les 152 échantillons de cire gaufrée collectés, classées par ordre décroissant de fréquence de quantification (tableau complet en Annexe I)

Substance	LQ (mg/kg)	Fréquence de quantification (>LQ)	Teneur moyenne (mg/kg)	Teneur médiane (mg/kg)	Teneur maximale (mg/kg)	Acticités	Usages	Autorisation en UE de la substance active	TAP ou limite d'action (mg/kg)
Tau-fluvalinate	0,02	92,11%	0,52	0,33	3,3	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique ; vétérinaire ; vétérinaire apicole	oui, expiration : 31/08/2024	32,90
Coumaphos	0,01	86,84%	0,86	0,43	4,2	insecticide ; acaricide	vétérinaire	non	
Thymol	0,05	81,58%	1,67	0,44	36	acaricide	vétérinaire apicole	oui, expiration : 30/04/2026	586,42
Piperonyl butoxyde	0,01	77,63%	0,15	0,10	0,88	synergiste	biocide ; phytopharmaceutique ; vétérinaire	pas encore évalué pour l'ue	
Propargite	0,01	76,32%	2,21	0,23	13	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	non	261,10
Fluméthrine	0,02	47,37%	0,10	0,08	0,38	insecticide ; acaricide	vétérinaire ; vétérinaire apicole		0,46
Perméthrine	0,05	47,37%	0,09	0,07	0,52	insecticide	biocide ; vétérinaire	non	0,34
Fenpyroximate	0,01	43,42%	0,11	0,10	0,42	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	oui, expiration : 15/06/2026	309,40
DMF	0,02	30,92%	0,07	0,04	0,58	acaricide	vétérinaire apicole	non	38,72
Spirodiclofen	0,01	29,61%	0,07	0,07	0,17	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	non, expiration : 31/07/2020	511,75
Chlorpyrifos	0,01	28,95%	0,04	0,02	0,4	insecticide	phytopharmaceutique	non	0,65
Hexythiazox	0,01	28,95%	0,03	0,02	0,088	insecticide ; acaricide	biocide ; phytopharmaceutique	oui, expiration : 31/08/2024	292,95

Alors que ces molécules font partie des plus quantifiées (Tableau 9), les TAP (teneurs acceptables provisoires) du coumaphos et du PBO n'ont pas pu être calculées par manque de données toxicologiques (DL₅₀ orale et/ou contact indisponibles). Cela est également le cas pour 20 substances parmi les 70 identifiées. Les TAP les plus faibles ont été trouvées pour les isomères du HCH (dont le lindane HCH gamma) alpha, beta et delta (0,3 mg/kg), la perméthrine (0,34 mg/kg) et pour la fluméthrine (0,46 mg/kg) (Tableau 10). A l'inverse, le thymol possède l'une des TAP les plus élevée (Annexe I et Tableau 10).

Plus globalement, les TAP auxquelles sont comparées les teneurs observées, sont majoritairement plus restrictives dans le cas du scénario d'exposition des abeilles adultes par malaxage de la cire (scénario 3, Wilmart et al., 2021), ce qui représente 90 % des molécules dont le calcul des TAP était possible. En effet, seules cinq molécules ont obtenu une TAP plus restrictive dans le cas d'un scénario d'exposition des larves par contact avec la cire (scénario 1, Wilmart et al., 2021)

Près de 10 % des 152 échantillons analysés dépassent pour au moins une substance la TAP de référence. Les molécules qui dépassent, bien que rarement, cette limite d'action sont également parmi les plus toxiques pour l'abeille, à savoir la perméthrine, l'acrinathrine ou encore le lindane et ses métabolites. En effet, la perméthrine dépasse la valeur de 0,339 mg/kg pour deux des 72 échantillons de cires où elle est présente. Sept échantillons sur 24 dépassent la TAP pour l'acrinathrine. Pour le cas du lindane, six échantillons sur 20 contiennent à des teneurs supérieures à la TAP et l'un de ces échantillons dépasse également les TAP des métabolites du HCH, dont le lindane (HCH gamma).

Tableau 10 : Bilan des molécules qui dépassent leur limite d'action ou TAP

Substance	Fréquence de quantification (%)	Teneur moyenne (mg/kg)	Teneur médiane (mg/kg)	Teneur max (mg/kg)	TAP (mg/kg)	Nombre dépassement TAP
Perméthrine	47,37	0,094	0,066	0,520	0,339	2
Lindane (HCH gamma)	13,16	0,043	0,016	0,360	0,029	6
Acrinathrine	15,79	0,181	0,068	0,740	0,201	7
HCH delta	2,63	0,113	0,014	0,410	0,029	1
HCH alpha	1,32	0,484	0,484	0,950	0,029	1
HCH beta	0,66	0,280	0,280	0,280	0,029	1

c) Co-exposition : les couples de molécules fréquents

Une analyse spécifique a été réalisée pour déterminer quelles étaient les substances les plus fréquemment associées (>20 %) au sein des 152 échantillons analysés. Le couple le plus fréquemment quantifié (85,5 %) dans les 152 échantillons analysés est une association des acaricides coumaphos et tau-fluvalinate. Ces deux molécules sont fréquemment quantifiées en association avec la propargite (75,7 % pour l'association tau-fluvalinate/propargite et 75 % pour l'association coumaphos/propargite) et le pipéronyl butoxyde ou PBO (76,3 % pour le tau-fluvalinate/PBO et 74,3 % pour le coumaphos/PBO). Le PBO et la propargite sont également fréquemment quantifiées ensemble dans 66,5% des 152 échantillons analysés. Parmi les couples de molécules fréquemment retrouvés la fluméthrine apparaît dix fois dans les 28 couples identifiés (Tableau 11). Puis, le fenpyroximate dans 7 des 28 couples. Le PBO et la propargite apparaissent dans six couples. Viennent ensuite le coumaphos, le tau-fluvalinate ou encore la perméthrine qui sont chacun présent dans cinq couples différents. L'hexythiazox est présent dans quatre couples, le pyridaben et le spiroadiclofen dans trois couples et enfin, le chlorpyrifos dans deux couples.

Tableau 11 : Bilan des couples de molécules fréquemment quantifiées ensembles et ordonnés par ordre décroissant de fréquence d'apparition

Couples de molécules	Occurrence	Fréquence d'apparition (% des échantillons analysés)
fluvalinate;coumaphos	130	85,53
PBO;fluvalinate	116	76,32
propargite;fluvalinate	115	75,66
propargite;coumaphos	114	75
PBO;coumaphos	113	74,34
propargite;PBO	101	66,45
Perméthrinee;fluvalinate	72	47,37
fluvalinate;Fluméthrine	71	46,71
PBO;Fluméthrine	71	46,71
Fluméthrine;coumaphos	70	46,05
Perméthrinee;coumaphos	70	46,05
PBO;Perméthrinee	70	46,05
PBO;fenpyroximate	66	43,42
propargite;Fluméthrine	66	43,42
propargite;Perméthrinee	65	42,76
propargite;fenpyroximate	64	42,11
Fluméthrine;fenpyroximate	56	36,84
Perméthrinee;Fluméthrine	50	32,89
spiroadiclofen;fenpyroximate	45	29,61
spiroadiclofen;Fluméthrine	44	28,95
hexythiazox;fenpyroximate	42	27,63
hexythiazox;Fluméthrine	42	27,63
Fluméthrine;chlorpyrifos	40	26,32
pyridaben;fenpyroximate	38	25

fenpyroximate;chlorpyriphos	37	24,34
pyridaben;Fluméthrine	37	24,34
spirodiclofen;hexythiazox	37	24,34
pyridaben;hexythiazox	34	22,37

2) Adultérations

Les résultats d'adultération rendus par le laboratoire CREA révèlent que les acides palmitique, oléique et stéarique sont les seuls acides gras retrouvés. Ces acides peuvent être naturellement présents dans la cire. D'après la littérature (Tulloch, 1980), les teneurs naturelles de ces acides sont respectivement de 0,87 %, 0,49 % et 0,49 %. Ainsi, près de 10 % des échantillons analysés contiennent plus de 0,87 g d'acide palmitique pour 100 g de cire et 8,55 % et 3,95 % des échantillons analysés contiennent plus de 0,495 % d'acides oléique et stéarique (Tableau 12).

Ces analyses montrent aussi que 84,21 % des échantillons contiennent des hydrocarbures de paraffine. La teneur moyenne est inférieure à 1 g pour 100 g de cire. Cependant, certains échantillons peuvent contenir jusqu'à 7,86 g d'hydrocarbures de paraffine pour 100 g de cire (Tableau 12).

Ainsi, les cires vierges de tout adultérant sont rares et ne représentent que 3,3 % des échantillons.

Tableau 12 : Bilan des analyses d'adultération et comparaison aux teneurs naturelles estimées selon la publication de Tulloch (1980)

Molécules	Origine	LQ	Fréquence de quantification (%)	Teneur moyenne (g/100g de cire)	Teneur maximum (g/100g de cire)	Teneur naturelle max (g/100 g de cire)	Fréquence de quantification (%) pour les échantillons qui dépassent la teneur max
Acide palmitique	Potentielle ment naturelle	0,2%	93,42%	0,551	2,44	0,87	9,87%
Hydrocarbures de paraffine	Exogène	0,2%	84,21%	0,957	7,86	Pas concerné car d'origine exogène	
Acide oléique	Potentielle ment naturelle	0,2%	60,53%	0,339	0,88	0,495	8,55%
Acide stéarique	Potentielle ment naturelle	0,2%	7,24%	0,613	1,08	0,495	3,95%

3) Éléments traces métalliques (ETM)

Les résultats d'analyse pour la recherche de ETM révèlent que 78,2 % des 152 échantillons analysés contiennent au moins un des 15 éléments recherchés par le laboratoire Meurice (Tableau 13). Le zinc est détecté et/ou quantifié dans plus de la moitié des échantillons (52 %), l'aluminium dans 30 %, le chrome dans 24 %, le manganèse dans 20 % et le cuivre dans 17 %. Le plomb a également été retrouvé dans 6,6 % des échantillons. Les teneurs les plus élevées ont été identifiées pour le zinc (8,8 mg/kg) et l'aluminium (6,6 mg/kg). Enfin, aucun échantillon ne dépasse la limite de détection en arsenic, cadmium, mercure ainsi qu'en cobalt, palladium, antimoine et vanadium. Ces résultats témoignent une nouvelle fois de la diversité des substances pouvant être accumulées dans les cires.

Tableau 13 : Bilan des analyses des ETM, classés par ordre décroissant de fréquence de quantification

Symbole des ETM recherchés	Fréquence de quantification (>LQ)	Fréquence de détection (>LD)	Moyenne de teneur (mg/kg)	Médiane de teneur (mg/kg)	Maximum de teneur (mg/kg)
Zn	7,89%	54,97%	1,62	1,25	8,88
Cr	5,92%	23,68%	0,80	0,50	3,44
Cu	4,61%	17,11%	1,05	0,65	4,55
Al	1,97%	30,26%	2,66	2,50	6,62
Mn	1,97%	19,73%	0,24	0,20	1,11
Pb	0,66%	6,58%	1,36	1,25	2,38
Ni	0,66%	0,66%	1,02	1,02	1,02
Se	0,00%	0,66%	3	3	3
As	0,00%	0,00%	0	0	0
Cd	0,00%	0,00%	0	0	0
Co	0,00%	0,00%	0	0	0
Hg	0,00%	0,00%	0	0	0
Pd	0,00%	0,00%	0	0	0
Sb	0,00%	0,00%	0	0	0
V	0,00%	0,00%	0	0	0

4) Point de fusion et critères qualitatifs

a) **Mesure quantitative : le point de fusion (°C)**

L'ensemble des échantillons a été testé sur le banc Kofler afin de mesurer leur point de fusion. Les résultats montrent que tous les échantillons sont dans la gamme des valeurs de référence (61°C à 66°C) de la pharmacopée européenne (FAO/OMS). La majorité des échantillons (97 %) ont une valeur inférieure à 65°C (Tableau 14).

Tableau 14 : Bilan des mesures de point de fusion

Classes de points de fusion (°C)	Nombre d'échantillons
62,9 à 63,9	59
64 à 64,9	89
65 à 65,3	4

b) **Mesures qualitatives : la couleur et l'odeur**

Les échantillons ont tous été comparés à un nuancier dans l'objectif de caractériser leur couleur (Figure 2). Afin de simplifier la description des échantillons, sept catégories de couleur ont été définies (Tableau 15). Trois grandes catégories de cires regroupent la majorité des échantillons (miel/cire, claire et sombre). Ces catégories correspondent à des couleurs attendues pour de la cire.

Les catégories miel/cire et claire sont les plus fréquentes et regroupent 46 % et 30 % des échantillons. La catégorie sombre regroupe 12,5 % des échantillons. Les cires appartenant à cette catégorie peuvent être assimilées à des cires qui ont été recyclées de nombreuses fois ou pour lesquelles les méthodes de récolte ou de fonte conduisent à une coloration de la cire. Enfin, 9,2 % des échantillons appartiennent à la catégorie carton. Cette catégorie regroupe des cires dont la couleur est atypique.

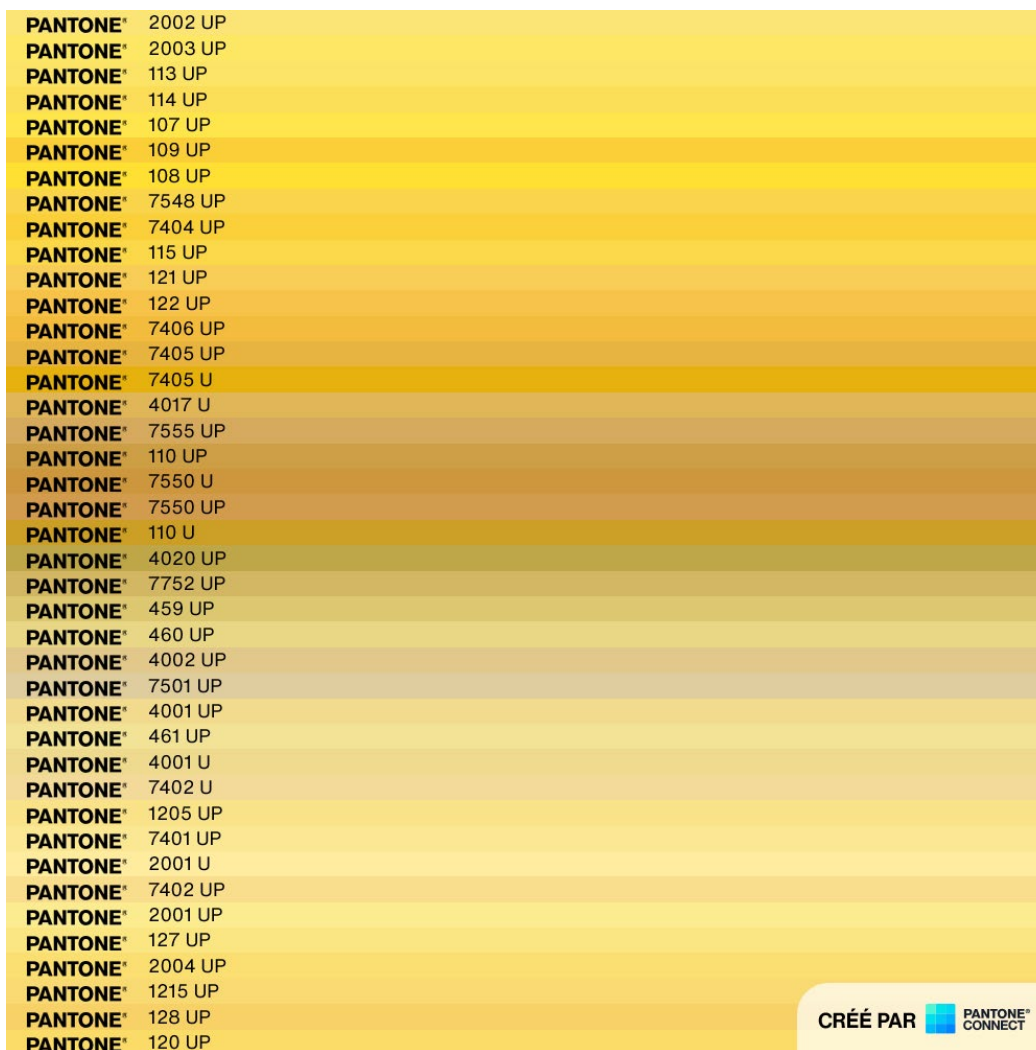


Figure 2. Palette de couleurs des 152 échantillons de cire analysés

Tableau 15 : Bilan des mesures de couleur

Couleur	Nombre d'échantillons
Carton	14
Carton/Biphase	1
Claire	46
Miel/Cire	70
Sombre	19
Sombre/Biphase	1
Sombre/Carton	1

Les échantillons ont également été humés au moment de leur réception à l'ITSAP. Cinq catégories d'odeur ont pu être créées, elles peuvent être péjoratives ou positives (Tableau 16). En effet, les catégories floral et miel/cire désignent des odeurs propres à la cire qui peuvent même indiquer de la cire récemment produite (surtout pour la catégorie floral). Ces catégories regroupent plus de 72 % des échantillons. A l'inverse des odeurs plutôt désagréables, représentées par les catégories autre, fumée, Plastique ont été associées à 28 % des échantillons. Ce critère qualitatif n'a pas été pris en compte dans les analyses statistiques.

Tableau 16 : Bilan des mesures d'odeur

Odeur (appréciation)	Nombre d'échantillons
Autre (-)	14
Floral (+)	8
Fumée (-)	20
Miel/Cire (+)	102
Plastique (-)	8

IV. Résultats

1) La qualité de la cire varie-t-elle selon sa provenance géographique ?

A l'issue de la campagne d'échantillonnage il s'avère que près de 77 % des échantillons proviennent d'une seule origine géographique. Parmi ces échantillons l'origine France est la plus représentée et correspond à 68 % des échantillons analysés (Tableau 17). Les cires d'origine exclusivement étrangère à la France représentent 10,5 % des échantillons analysés. Les autres échantillons correspondent à des « recettes », appellation employée par les ciriers pour définir des mélanges entre des cires de différentes origines géographiques. Ces mélanges peuvent être composés de cires de deux origines différentes (10 %), trois origines différentes (5 %) ou quatre origines différentes (4 %). La majorité de ces « recettes » contient de la cire provenant de France et/ou de Chine (Tableau 17). Pour faciliter les analyses statistiques les 25 origines de cires identifiées ont été regroupées en deux catégories : une catégorie France (104 échantillons) et une catégorie regroupant les cires provenant d'UE (dix échantillons), hors UE (huit échantillons) et UE/hors UE (23 échantillons). Les échantillons d'origine inconnue (sept échantillons) n'ont pas été inclus dans les analyses. Les résultats des analyses détaillés par origines géographiques (France, UE-hors France, Hors UE et UE/hors UE) sont présentés dans les annexes II.

Tableau 17 : Description des catégories d'origine géographique

Nombre d'échantillons	Origine géographique déclarée par le fournisseur	Regroupement des origines géographiques
1	Allemagne	UE
1	Belgique/France	UE
3	Bulgarie	UE
1	Cameroun/Ethiopie	Hors UE
3	Chine	Hors UE
1	Chine/Espagne/France	UE/hors UE
5	Chine/France	UE/hors UE
1	Chine/France/Espagne/Madagascar	UE/hors UE
2	Chine/Madagascar	UE/hors UE
1	Chine/Madagascar/Espagne/France	UE/hors UE
1	Chine/Madagascar/France	UE/hors UE
1	Chine/Madagascar/Ukraine/France	UE/hors UE
1	Chine/Ukraine/France	UE/hors UE
3	Espagne	UE
104	France	France
3	France/Chine/Espagne	UE/hors UE
1	France/Chine/Ukraine	UE/hors UE
3	France/Chine/Ukraine/Madagascar	UE/hors UE
1	France/Espagne	UE
7	Inconnue	Inconnue
1	Madagascar	Hors UE
1	Pays de l'Est	Hors UE
1	République Tchèque	UE
5	UE/hors UE	UE/hors UE

Les analyses réalisées sur les échantillons de cires françaises ont permis d'identifier 64 substances différentes parmi lesquelles une majorité présente une activité acaricide ou insecticide (Tableau 18). Ces analyses montrent aussi que plus de la moitié des substances retrouvées dans les cires françaises n'ont pas ou plus d'usage autorisé en UE (Tableau 18).

Les analyses réalisées sur les échantillons de cires d'origine étrangère à la France ou issues de mélanges de cires de différentes provenances témoignent également de cette diversité (Tableau 18).

La comparaison des profils de contamination indique que les cires d'origine française sont globalement de meilleure qualité que les cires issues d'autres origines géographiques. En effet le nombre médian de substances contaminantes dans les cires d'origine française est de huit substances alors qu'il est de 12 dans les cires provenant d'autres origines toutes confondues, soit 1,5 fois plus (Figures 3A et 3B, Tableau 19 et Annexes II). Les valeurs médianes des indicateurs de risque ETR et QR sont également en faveur des cires d'origine française (Figures 3C et 4A, Tableau 19). Ces indicateurs sont respectivement 3,4 et 4,2 fois plus élevés pour les cires ne provenant pas de France. La catégorisation des cires en fonction des seuils de risque toxicologique associés au QR laisse apparaître que 40 % des cires issues de France présentent un risque toxicologique acceptable, 32 % un risque préoccupant et 28 % dépassent le seuil de risque inacceptable. La même catégorisation réalisée sur les cires issues d'autres origines montre que 27 % des échantillons présentent un risque préoccupant et que 73 % dépassent le seuil de risque inacceptable (Figure 4B).

Les fréquences d'occurrence et les teneurs des substances contaminantes communément détectées dans les cires françaises et les cires issues d'autres provenances ont aussi été comparées (Tableau 18). Parmi les dix premières substances communément détectées dans les cires françaises et les cires d'autres provenances géographiques figurent : le tau-fluvalinate, le thymol, le coumaphos, le PBO, le propargite, la perméthrine, la fluméthrine, le fenpyroximate, le DEET, et l'acrinathrine. Hormis le thymol, ces substances sont toutes plus fréquemment retrouvées dans les cires issues d'autres provenances géographiques. Il apparaît également que toutes ces substances présentent des teneurs médianes toujours supérieures dans les cires issues d'autres provenances que française.

Concernant l'adultération des cires, il s'avère que 80,7 % des échantillons de cires françaises contiennent de la paraffine alors que cette proportion atteint 90,2 % pour les cires issues d'autres provenances. La valeur médiane des teneurs en paraffine dans les cires françaises est de 0,31 %, elle est de 0,8 % pour les cires d'autres origines c'est-à-dire 2,6 fois plus élevée. La teneur maximale de paraffine retrouvée dans cette étude est de 7,86 % il s'agissait d'une cire réputée française. Si ces comparaisons place en tête les cires d'origine française, il n'en demeure pas moins que ces dernières sont très fréquemment contaminées par des résidus de substances chimiques contaminantes et qu'elles contiennent régulièrement de faibles teneurs en hydrocarbures de paraffine.

Tableau 18 : Molécules communément retrouvées entre les différentes catégories géographiques de cires

Molécules	Activités	Usages	France (N=104)				UE (N=10)				UE/hors UE (N=23)				Hors UE (N=8)			
			Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)	Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)	Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)	Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)
Tau-fluvalinate	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique vétérinaire apicole	88,46%	0,41	0,24	3,30	100,0%	0,44	0,51	0,71	100,0%	0,87	0,56	2,80	100,0%	0,81	0,40	2,30
Thymol	acaricide	vétérinaire apicole	88,46%	1,76	0,60	36,0	80,0%	3,11	1,90	12,00	60,87%	0,78	0,13	5,40	37,50%	0,11	0,11	0,15
Coumaphos	insecticide ; acaricide	vétérinaire non autorise	81,73%	0,51	0,11	3,60	100,0%	1,50	1,63	2,90	100,0%	1,48	1,30	3,30	87,50%	1,29	0,47	3,00
PBO	synergiste	biocide ; phytopharmaceutique ; vétérinaire non autorise	69,23%	0,14	0,06	0,88	100,0%	0,11	0,09	0,40	100,0%	0,21	0,20	0,50	75,0%	0,26	0,22	0,45
Propargite	acaricide	phytopharmaceutique non autorise	69,23%	1,18	0,07	12,0	80,0%	1,96	0,26	7,30	100,0%	5,10	3,90	13,0	87,50%	4,33	2,30	9,70
Perméthrine	insecticide	biocide ; vétérinaire non autorise	36,54%	0,08	0,06	0,46	70,0%	0,06	0,05	0,10	73,91%	0,11	0,09	0,26	75,0%	0,18	0,10	0,52
Fluméthrine	insecticide ; acaricide	vétérinaire apicole	30,77%	0,08	0,06	0,38	60,0%	0,12	0,11	0,20	95,65%	0,11	0,09	0,26	75,0%	0,12	0,12	0,23
Fenpyroximate	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	23,08%	0,10	0,05	0,42	80,0%	0,08	0,05	0,23	100,0%	0,14	0,13	0,31	75,0%	0,14	0,17	0,21
DEET	insecticide	biocide	16,35%	0,03	0,02	0,17	50,0%	0,02	0,02	0,05	21,74%	0,05	0,06	0,09	12,50%	0,01	0,01	0,01
Acrinathrine	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique non autorise	10,58%	0,21	0,14	0,53	60,0%	0,20	0,09	0,74	21,74%	0,07	0,07	0,08	0,00%	0,00	0,00	0,00

Tableau 19. Bilan des analyses statistiques descriptives par indicateur différenciées selon la provenance

Origine géographique		France	UE/hors UE	TOTAL	Figure(s) associée(s)	Test(s) statistique(s) réalisé(s)	Valeur de test et p- value	Significativités * : p-value < 0,05 ** : p-value < 0,01 *** : p-value < 0,001
Nombre échantillons analysés		104	41	152				
Nombre de substances	MOY	8,71	12,63	9,97	Figure 3A	Student (avec hypothèse alternative selon laquelle Indicateur UE/hors UE> Indicateur France)	T = -5,96 et p-value = 2,67E-08	***
	MED	8,00	12,00	10,00				
	MIN	1,00	3,00	1,00				
	MAX	19,00	20,00	20,00				
	90e	14,00	17,00	15,90				
ETR Cire	MOY	3,55E-02	2,72E-02	3,31E-02	Figure 3B	Wilcoxon, Mann- Withney ou U, test de rangs (avec hypothèse alternative selon laquelle Indicateur UE/hors UE> Indicateur France)	W = 1042 et p-value = 8,62E-07	***
	MED	5,87E-03	1,99E-02	1,34E-02				
	MIN	3,74E-06	4,81E-03	3,74E-06				
	MAX	2,14	1,19E-01	2,14				
	90e	4,65E-02	4,38E-02	4,68E-02				
QR BEETOXWAX	MOY	3,59E+03	1,61E+04	7,10E+03	Figures 4A et 4B	Wilcoxon, Mann- Withney ou U, test de rangs (avec hypothèse alternative selon laquelle Indicateur UE/hors UE> Indicateur France)	W = 748 et p-value = 6,23E-10	***
	MED	1,56E+03	6,61E+03	4,03E+03				
	MIN	2,67E-01	1,80E+03	2,67E-01				
	MAX	4,16E+04	9,83E+04	9,83E+04				
	90e	8,86E+03	4,11E+04	1,35E+04				
Hydrocarbures de paraffine (%)	MOY	0,71	0,94	0,81	Figure 3C	Wilcoxon, Mann- Withney ou U, test de rangs (avec hypothèse alternative selon laquelle Indicateur UE/hors UE> Indicateur France)	W = 1248,5 et p-value = 5,09E-05	***
	MED	0,31	0,80	0,44				
	MIN	0,00	0,00	0,00				
	MAX	7,86	4,62	7,86				
	90e	1,96	1,61	1,85				

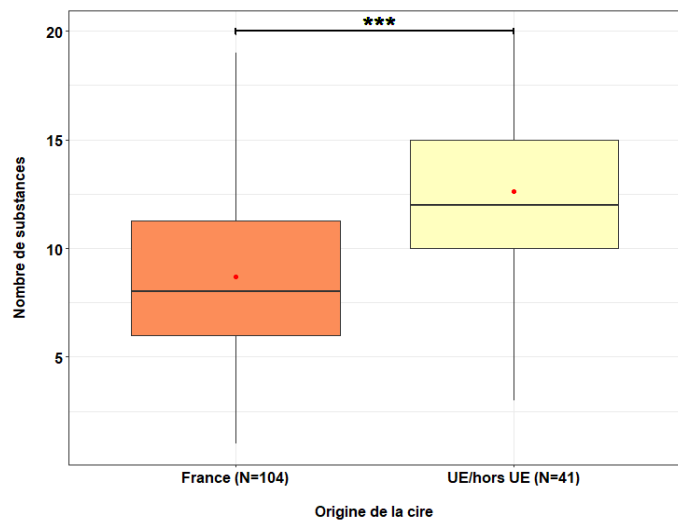


Figure 3A. Distribution du nombre de substances en fonction de l'origine géographique

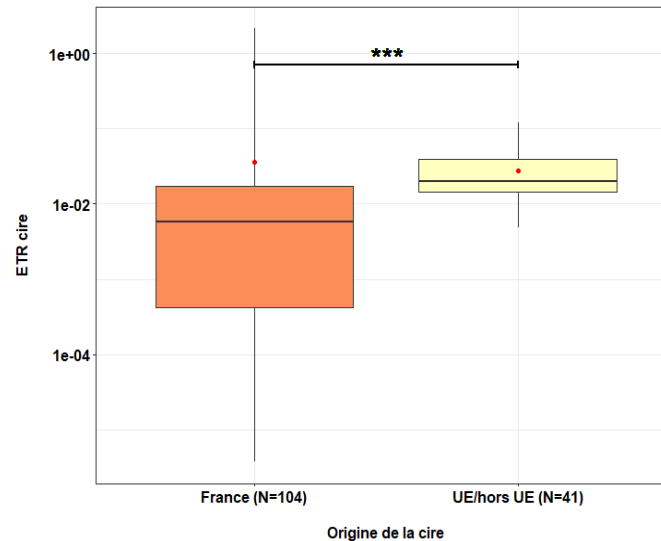


Figure 3B. Distribution de l'ETR en fonction de l'origine géographique

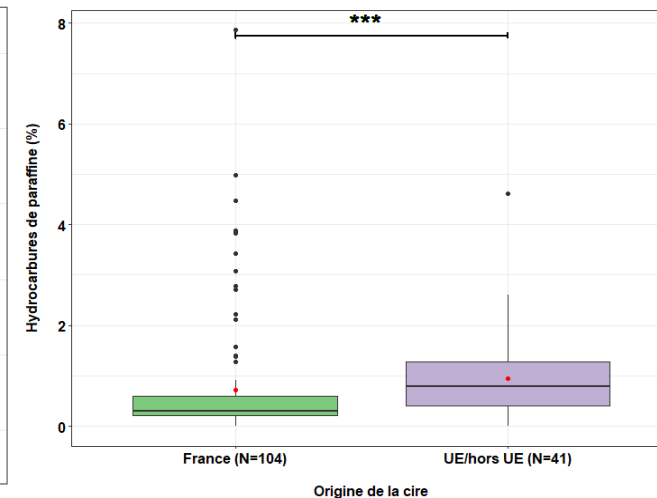


Figure 3C. Distribution des teneurs en HPA (%) en fonction de l'origine géographique

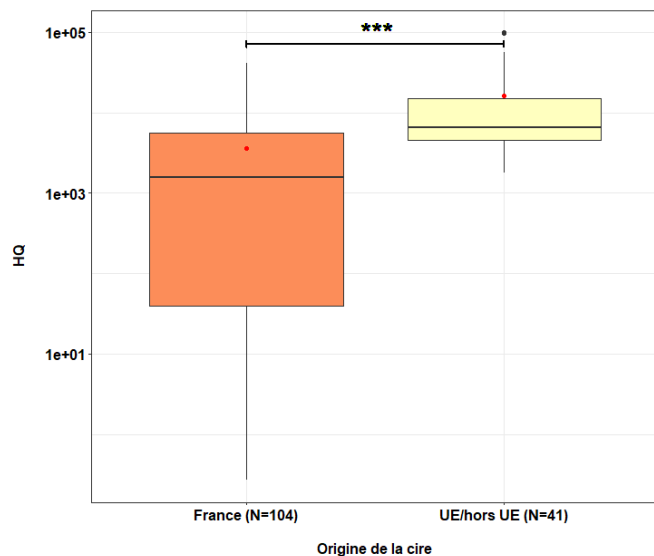


Figure 4A. Distribution du QR de BeeToxWax selon l'origine géographique de la cire

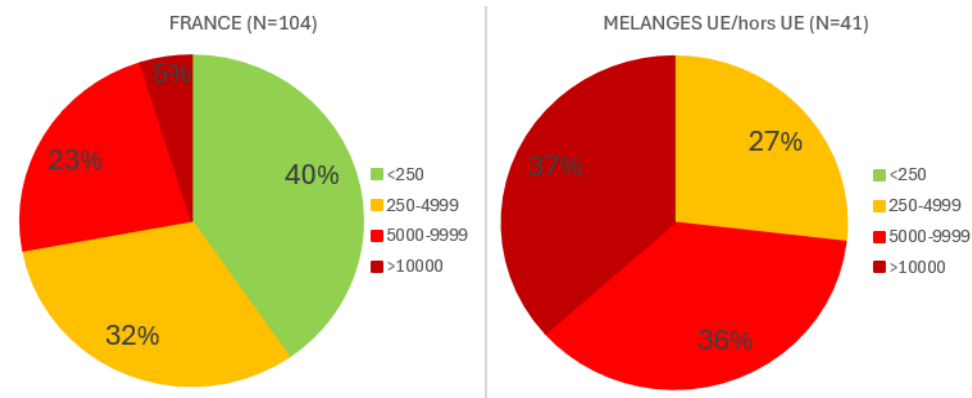


Figure 4B. Proportions d'échantillons représentés par seuil de risque de QR et en fonction de l'origine géographique

2) La qualité de la cire varie-t-elle selon la source d'approvisionnement ?

La qualité des cires échantillonnées durant cette campagne a été étudiée en fonction de chacun des quatre types de distributeurs. La répartition des échantillons dans les différentes catégories montre que 24 % d'entre eux ont été obtenus directement auprès de ciriers, 21 % proviennent de groupements apicoles, 22 % d'enseignes générales et 32 % d'enseignes spécialisées (Tableau 20). Quelle que soit la catégorie de distributeurs, les résultats des analyses montrent que les cires qu'ils fournissent sont contaminées par une diversité importante de substances (Tableau 21).

A l'issue des analyses comparatives, il s'avère que les cires provenant de ciriers et de groupements apicoles ne présentent pas de différence significative quel que soit l'indicateur considéré : nombre de substances, ETR et QR (Tableau 20). Le nombre médian de substances retrouvées dans les échantillons en provenance des ciriers est de 8 et il est de 7 pour les cires provenant des groupements apicoles. En revanche, les cires issues de ces deux catégories de distributeurs sont de meilleure qualité que celles obtenues auprès d'enseignes générales ou spécialisées. Les nombres médians de substances retrouvées dans les cires des d'enseignes spécialisées (10) et générale (12) sont en effet statistiquement plus élevés (Figure 5A). De plus, les cires provenant des enseignes spécialisées et générales ont un ETR médian respectivement 3 fois et 3,9 fois supérieurs à celui calculé pour les cires obtenues chez les ciriers (Figure 5B). Les différences observées pour l'indicateur QR sont sensiblement inférieures (Figure 6A). Elles indiquent que les cires issues des enseignes spécialisées et générales présentent un risque toxicologique respectivement 2,1 fois et 3,3 fois plus élevé que celui déterminé pour les cires distribuées par les ciriers. Les comparaisons réalisées entre les deux types d'enseignes montrent que les cires provenant des enseignes générales sont statistiquement de moins bonne qualité que celles distribuées par les enseignes spécialisées. La catégorisation des cires en fonction des seuils de risque toxicologique rend aussi compte de ces différences (Figure 6B). En effet, 41 % des cires provenant des ciriers et 53 % des cires provenant des groupements apicoles présentent un risque toxicologique considéré comme acceptable alors que cette proportion n'est que de 20 % pour les cires issues des enseignes spécialisées et de 0 % pour les cires provenant des enseignes générales. En dépit de ces différences favorables aux ciriers et aux groupement apicoles, respectivement 32 % et 16 % des cires qu'ils distribuent dépassent toutefois le seuil de risque inacceptable.

Les fréquences d'occurrence et les teneurs des substances communément retrouvées dans les cires provenant des enseignes générales et les cires issues des autres catégories de distributeurs ont aussi été comparées (Tableau 22). Parmi les dix premières substances communément retrouvées dans les cires provenant des enseignes générales et les cires collectées chez les autres distributeurs figurent : le PBO, le tau-fluvalinate, le coumaphos, la propargite, le fenpyroximate, la fluméthrine, la perméthrine, le spiroadiclofen, le chlorpyrifos, et l'hexythiazox. Le PBO, le tau-fluvalinate, le coumaphos, le propargite sont retrouvés dans plus de la moitié des échantillons collectés chez chacun des distributeurs. En revanche, le fenpyroximate, la fluméthrine, la perméthrine, le spiroadiclofen, le chlorpyrifos, et l'hexythiazox détectés dans plus de 50 % des cires provenant des enseignes générales sont

beaucoup moins fréquemment retrouvés dans les cires collectées chez les autres distributeurs. La médiane des teneurs du PBO, du tau-fluvalinate, du coumaphos, du propargite, du fenpyroximate et de la fluméthrine sont systématiquement plus élevées dans les cires provenant des enseignes générales.

L'adultération des cires provenant de chaque catégorie de distributeurs a aussi été comparée. Il apparaît que 94,1 % des cires collectées dans les enseignes générales contiennent des hydrocarbures de paraffine contre 91,8 % pour les cires collectées dans les enseignes spécialisées, 81,1 % chez les ciriers et 65,6 % dans les groupements apicoles. Les valeurs médianes des teneurs en hydrocarbures de paraffine dans les cires collectées chez les ciriers (0,31 %) et celles collectées dans les groupements apicole (0,23 %) ne sont pas statistiquement différentes (Tableau 20 et Figure 5C). Il existe en revanche une différence significative entre les cires collectées chez ces deux types de distributeurs et celles collectées dans les enseignes spécialisées (0,56 %) et dans les enseignes générales (0,74 %). La cire présentant la plus forte teneur en hydrocarbures de paraffine (7,9 %) provenait toutefois d'un groupement apicole (Tableau 20).

Tableau 20. Bilan des analyses statistiques descriptives par indicateur différenciées selon la catégorie de distributeurs

Provenance/Catégorie de distributeurs		Ciriers	Groupement s	Enseignes spécialisée s	Enseigne s générales	TOTAL	Figure(s) associée (s)	Test(s) statistique (s) réalisé(s)	Valeur de test et p-value	Significativités * : p-value < 0,05 ** : p-value < 0,01 *** : p-value < 0,001
Nombre échantillons analysés		37	32	49	34	152				
Nombre de substances	MOY	8,68	8,16	10,20	12,76	9,97	Figure 5A	Anova (Tuckey)	F = 9,43 et p-value = 9,66E-06	Enseignes générales vs. Ciriers (***) ; Groupements (***) et Enseignes spécialisées (*)
	MED	8,00	7,00	10,00	12,00	10,00				
	MIN	1,00	2,00	2,00	5,00	1,00				
	MAX	17,00	18,00	20,00	19,00	20,00				
	90e	13,00	12,90	17,00	16,70	15,90				
ETR Cire	MOY	9,11E-03	8,32E-02	2,41E-02	2,53E-02	3,31E-02	Figure 5B	Kruskal-Wallis (Dunn)	K = 21,19 et p-value = 9,61E-05	Enseignes générales vs. Groupements (***) et Ciriers (***) Enseignes spécialisées vs. Ciriers (*)
	MED	4,93E-03	3,35E-03	1,46E-02	1,94E-02	1,34E-02				
	MIN	5,51E-05	4,31E-06	3,74E-06	3,33E-03	3,74E-06				
	MAX	4,69E-02	2,14	1,19E-01	6,95E-02	2,14				
	90e	2,45E-02	7,04E-02	6,85E-02	4,49E-02	4,68E-02				
QR BEETOXWAX	MOY	4,51E+03	3,11E+03	7,27E+03	1,35E+04	7,10E+03	Figures 6A et 6B		K = 32,93 et p-value = 3,33E-07	Enseignes générales vs. Ciriers (***) ; Groupements (***) et Enseignes spécialisées (**) Enseignes spécialisées vs. Groupements (*)
	MED	2,04E+03	1,39E+02	4,28E+03	6,80E+03	4,03E+03				
	MIN	5,25E+00	4,91E-01	2,67E-01	1,51E+03	2,67E-01				
	MAX	4,03E+04	41598,00	9,63E+04	9,83E+04	9,83E+04				
	90e	9,67E+03	8,22E+03	9,24E+03	2,67E+04	1,35E+04				
Hydrocarbures de paraffine (%)	MOY	0,50	0,75	1,01	0,91	0,81	Figure 5C		K = 20,50 et p-value = 1,34E-04	Enseignes générales vs. Ciriers (*) et Groupements (**) Enseignes spécialisées vs. Groupements (**)
	MED	0,31	0,23	0,56	0,74	0,44				
	MIN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				
	MAX	3,83	7,86	4,99	2,72	7,86				
	90e	0,88	1,56	2,79	1,65	1,85				

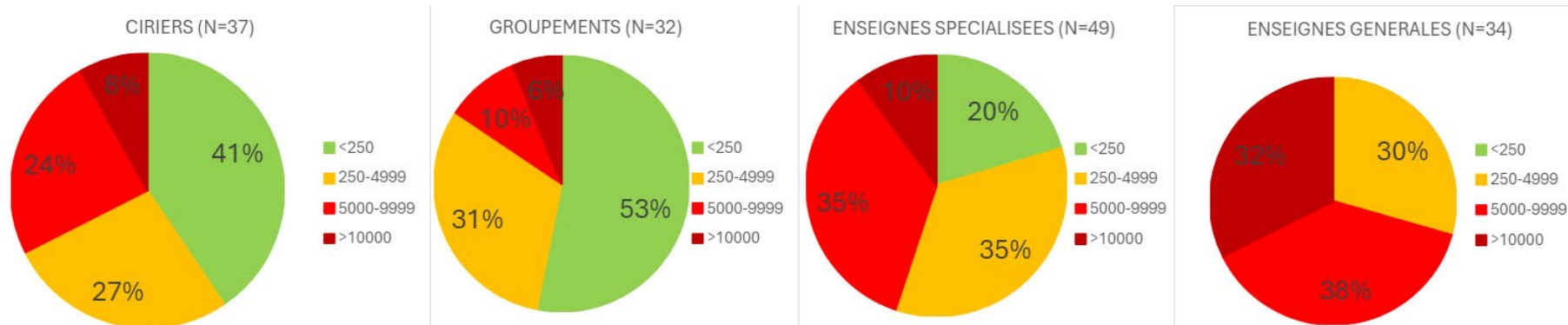
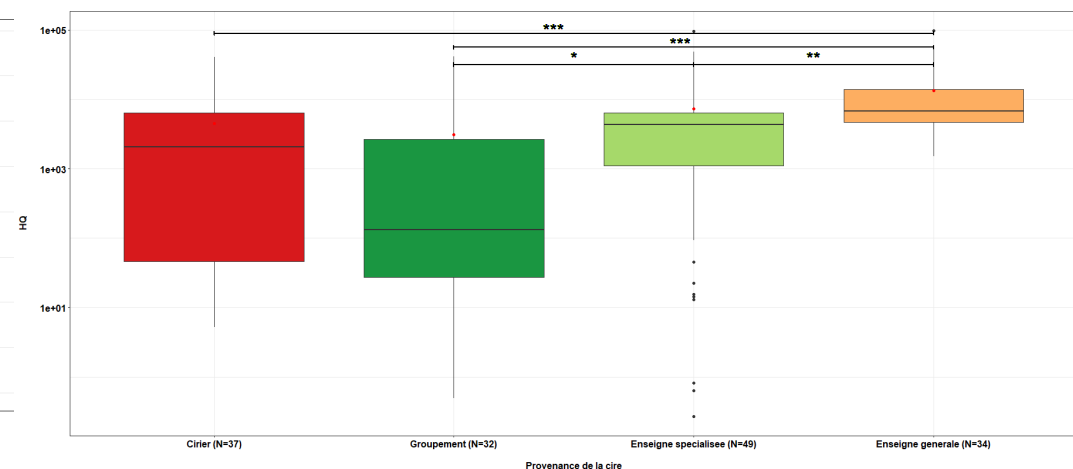
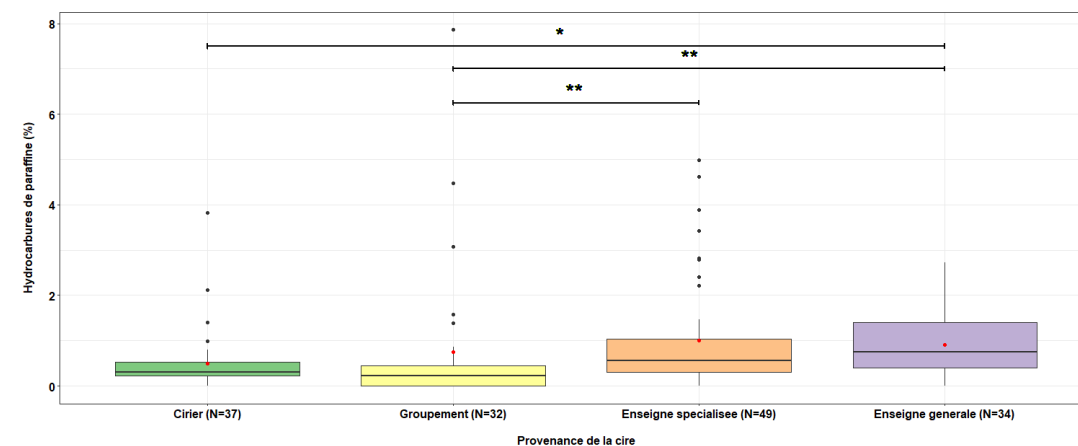
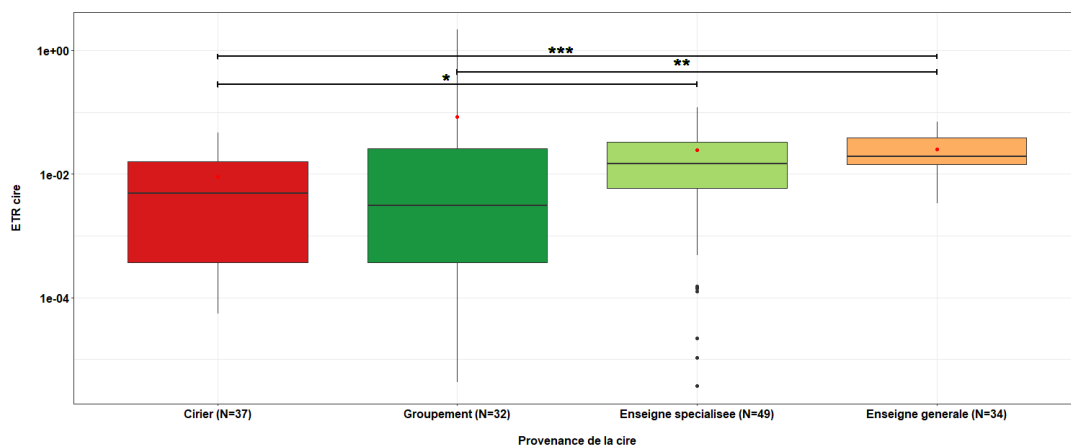
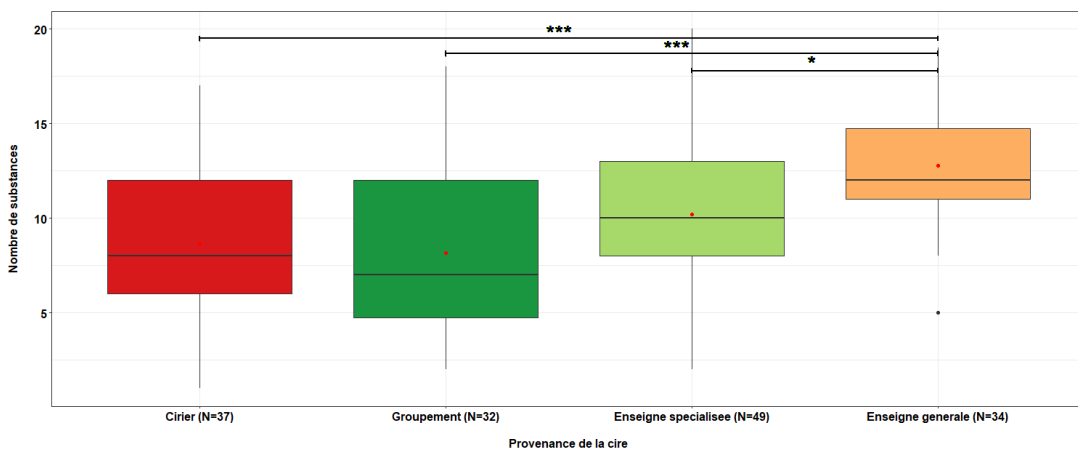


Tableau 21 : Diversité des molécules retrouvées selon leurs usages

Nombre moyen de substances quantifiées	8,68	8,16	10,20	12,76
Nombre total de substances différentes quantifiées	43	51	49	38
Usage Biocide	6	6	8	7
Usage Phytopharmaceutique	8	7	10	5
Usage apicole	3	3	3	3
Usage pas ou plus autorisé	25	31	25	21

Tableau 22 : Molécules communément retrouvées entre les différentes catégories de distributeurs

Molécules	Activités	Usages	Enseignes générales (N=34)				Ciriers (N=37)				Groupement (N=32)				Enseignes spécialisées (N=49)			
			Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)	Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)	Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)	Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)
PBO	synergiste	biocide ; phytopharmaceutique ; vétérinaire non autorise	100,00%	0,17	0,15	0,50	62,16%	0,18	0,08	0,37	65,63%	0,10	0,02	0,54	81,63%	0,15	0,10	0,42
Tau- fluvalinate	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique ; vétérinaire apicole	100,00%	0,77	0,49	3,30	94,59%	0,37	0,31	3,30	81,25%	0,30	0,18	1,40	91,84%	0,58	0,37	3,00
Coumaphos	insecticide ; acaricide	vétérinaire non autorise	97,06%	1,26	1,10	3,00	83,78%	0,40	0,32	3,30	78,13%	0,32	0,06	2,20	87,76%	1,19	0,75	4,20
Propargite	acaricide	phytopharmaceutique non autorise	97,06%	3,80	2,80	9,70	72,97%	1,11	0,13	13,00	65,63%	0,55	0,05	7,00	71,43%	2,57	0,28	13,00
Fenpyroximate	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	88,24%	0,13	0,11	0,42	24,32%	0,13	0,10	0,42	18,75%	0,07	0,02	0,18	42,86%	0,10	0,06	0,23
Fluméthrine	insecticide ; acaricide	vétérinaire apicole	85,29%	0,13	0,11	0,38	27,03%	0,07	0,07	0,38	18,75%	0,07	0,05	0,18	55,10%	0,08	0,08	0,20
Perméthrine	insecticide	biocide ; vétérinaire non autorise	76,47%	0,11	0,05	0,52	37,84%	0,08	0,10	0,26	25,00%	0,12	0,07	0,46	48,98%	0,08	0,08	0,21
Spirodiclofen	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique non autorise	70,59%	0,07	0,07	0,17	16,22%	0,07	0,05	0,17	6,25%	0,06	0,06	0,09	26,53%	0,07	0,07	0,14
Chlorpyriphos	insecticide	phytopharmaceutique non autorise	64,71%	0,05	0,02	0,40	16,22%	0,04	0,02	0,06	9,38%	0,06	0,06	0,09	26,53%	0,02	0,02	0,03
Hexythiazox	insecticide ; acaricide	biocide ; phytopharmaceutique	64,71%	0,02	0,02	0,04	21,62%	0,03	0,02	0,04	6,25%	0,02	0,02	0,02	24,49%	0,03	0,02	0,06

3) La qualité de la cire varie-t-elle selon sa nature ?

Les échantillons de feuille de cire gaufrée ont été répartis en deux catégories : les feuilles confectionnées exclusivement à partir de cire d'opercules et les feuilles produites à partir de mélanges de cire d'opercules et de cire de brèches. Sur les 152 échantillons analysés, 35 % appartiennent à la catégorie « opercules » et 61 % à la catégorie « mélanges » (Tableau 23). Quatre pourcents des échantillons n'ont pas pu être attribués à l'une de ces catégories pour faute de traçabilité de la part de certains distributeurs et n'ont pas été pris en compte dans les analyses descriptives.

Les analyses montrent que les cires issues de mélanges sont de moins bonne qualité que les cires produites à partir d'opercules (Tableau 23). Le nombre médian de substances retrouvées dans les mélanges de cire est de 11 alors qu'il est de 8 pour les cires issues exclusivement d'opercules (Figure 7A). Quarante-neuf substances différentes ont été retrouvées parmi les 53 échantillons de cire d'opercules et 59 substances différentes parmi les 93 échantillons de cires de mélanges (Tableau 24). Environ 57 % des substances retrouvées dans ces deux catégories de cires n'avaient pas ou plus d'usage autorisé dans l'UE (Tableau 24). Ces analyses montrent aussi que les valeurs médianes des indicateurs toxicologiques ETR et QR sont respectivement quatre et 20 fois plus élevés dans les cires de mélanges (Figures 7B et 8A). La catégorisation des cires issues d'opercules ou de mélanges en fonction des seuils de QR révèle que 49 % des cires d'opercules présentent un risque toxicologique acceptable alors que seulement 17 % des cires issues de mélanges correspondent à cette catégorie et que 57 % dépassent le seuil de risque inacceptable (Figure 8B).

Cette analyse a été reproduite en ne prenant en compte que les échantillons de cires conventionnelles (N= 137). Les résultats obtenus suivent les mêmes tendances (Annexes III). La comparaison des profils de contamination des cires conventionnelles est toujours à l'avantage des cires d'opercules. Celles-ci présentent un nombre médian de substances par échantillon de huit alors qu'il est de 11 pour les cires conventionnelles issues de mélanges (Annexes III : Tableau 1 et Figure 1A). Les indicateurs de risque toxicologique ETR et QR sont aussi respectivement trois fois et dix fois moins importants pour les cires conventionnelles d'opercules que ceux des cires conventionnelles de mélanges (Annexes III : Tableau 1 et Figures 1B et 2A). Cela se traduit aussi par la plus faible proportion de cires conventionnelles d'opercules qui dépassent le seuil de risque inacceptable. Cette proportion est de 13 % pour ces dernières alors qu'elle est de 57 % pour les cires conventionnelles issues de mélanges (Annexes III : Figure 2B).

Les fréquences d'apparition et les teneurs des substances communément retrouvées dans les cires issues d'opercules ou de mélanges ont aussi été comparées (Tableau 25). Parmi les dix premières substances retrouvées dans les cires issues de mélanges et que l'on retrouve aussi dans les cires d'opercules apparaissent : le tau-fluvalinate, le coumaphos, le PBO, le propargite, le thymol, la fluméthrine, la perméthrine, le fenpyroximate, le spiroadiclofen, et le chlorpyrifos. Le tau-fluvalinate, le coumaphos, le PBO, le propargite et le thymol sont retrouvés dans plus de la moitié des échantillons de chacune des deux catégories. En revanche, la fluméthrine, la perméthrine, le fenpyroximate, le spiroadiclofen, et le chlorpyrifos contaminent beaucoup plus fréquemment les cires de mélanges que les cires

d'opercules. On constate également que les valeurs médianes des teneurs de ces dix substances sont globalement plus élevées dans les cires de mélanges que dans les cires d'opercules.

L'adultération des feuilles de cires produites à partir d'opercules ou à partir de mélanges a été comparée. Il apparaît que 73,6 % des cires d'opercules contiennent des hydrocarbures de paraffine. Cette proportion est plus élevée dans les cires de mélanges (89,2 %). La valeur médiane des teneurs en hydrocarbures de paraffine des cires d'opercules (0,23 %) est statistiquement moins élevée que celle des cires issues de mélanges (0,53 %) (Tableau 23 et Figure 7C). La plus forte teneur en hydrocarbures de paraffine (7,9 %) a toutefois été retrouvée dans un échantillon de feuilles de cire gaufrée produites à partir d'opercules.

Tableau 23. Bilan des analyses statistiques descriptives par indicateur selon la nature de la cire

Nature de la cire		Opercules	Mélanges	Inconnues	TOTAL	Figure(s) associée(s)	Test(s) statistique(s) réalisé(s)	Valeur de test et p- value	Significativités * : p-value < 0,05 ** : p-value < 0,01 *** : p-value < 0,001
Nombre échantillons analysés		53	93	6	152				
Nombre de substances	MOY	7,68	11,08	13,17	9,97	Figure 7A	Student (avec hypothèse alternative selon laquelle Indicateur Mélanges> Indicateur Opercules)	T = 5,17 et p- value = 4,91E-07	***
	MED	8,00	11,00	13,00	10,00				
	MIN	1,00	2,00	8,00	1,00				
	MAX	18,00	20,00	19,00	20,00				
	90e	12,00	17,00	17,50	15,90				
ETR Cire	MOY	5,43E-02	2,08E-02	3,72E-02	3,31E-02	Figure 7B	Wilcoxon, Mann- Withney ou U, test de rangs (avec hypothèse alternative selon laquelle Indicateur Mélanges> Indicateur Opercules)	W = 3361,5 et p-value = 1,32E-04	***
	MED	3,75E-03	1,56E-02	3,08E-02	1,34E-02				
	MIN	4,31E-06	3,74E-06	1,40E-02	3,74E-06				
	MAX	2,14E+00	0,12	6,84E-02	2,14				
	90e	5,98E-02	4,49E-02	6,49E-02	4,68E-02				
QR BEETOXWAX	MOY	2,38E+03	9,89E+03	5,69E+03	7,10E+03	Figures 8A et 8B	Wilcoxon, Mann- Withney ou U, test de rangs (avec hypothèse alternative selon laquelle Indicateur Mélanges> Indicateur Opercules)	W = 3757 et p-value = 7,28E-08	***
	MED	2,79E+02	5,59E+03	5,50E+03	4,03E+03				
	MIN	4,91E-01	2,67E-01	4,28E+03	2,67E-01				
	MAX	2,84E+04	98342,00	7,91E+03	9,83E+04				
	90e	6,50E+03	1,92E+04	7,13E+03	1,35E+04				
Hydrocarbures de paraffine (%)	MOY	0,51	0,93	1,54	0,81	Figure 7C	Wilcoxon, Mann- Withney ou U, test de rangs (avec hypothèse alternative selon laquelle Indicateur Mélanges> Indicateur Opercules)	W = 3640,5 et p-value = 8,12E-07	***
	MED	0,23	0,53	1,40	0,44				
	MIN	0,00	0,00	0,56	0,00				
	MAX	7,86	4,99	2,82	7,86				
	90e	0,82	2,20	2,35	1,85				

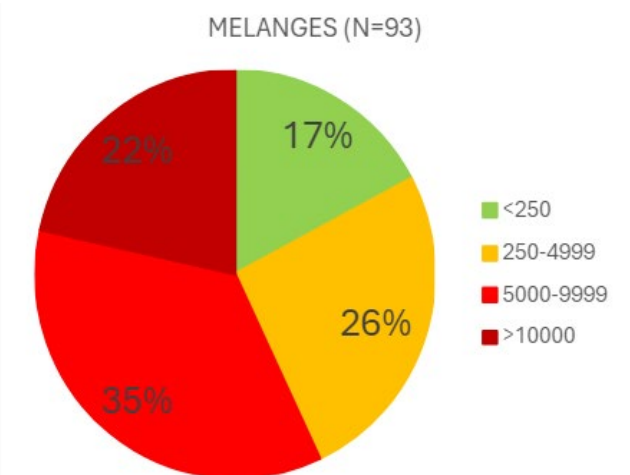
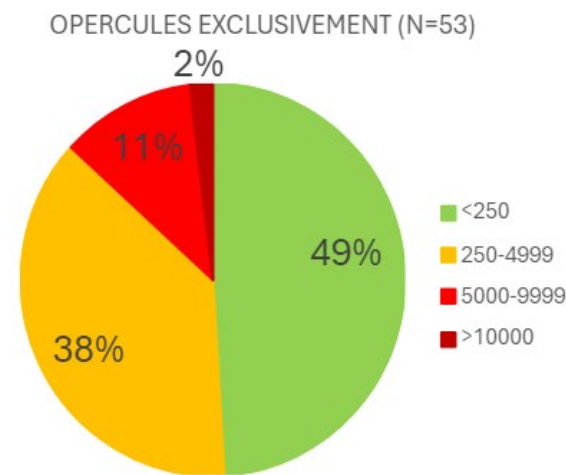
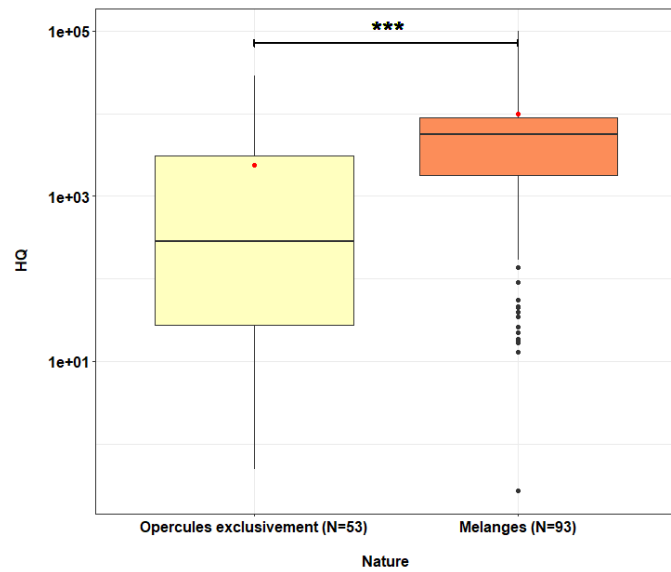
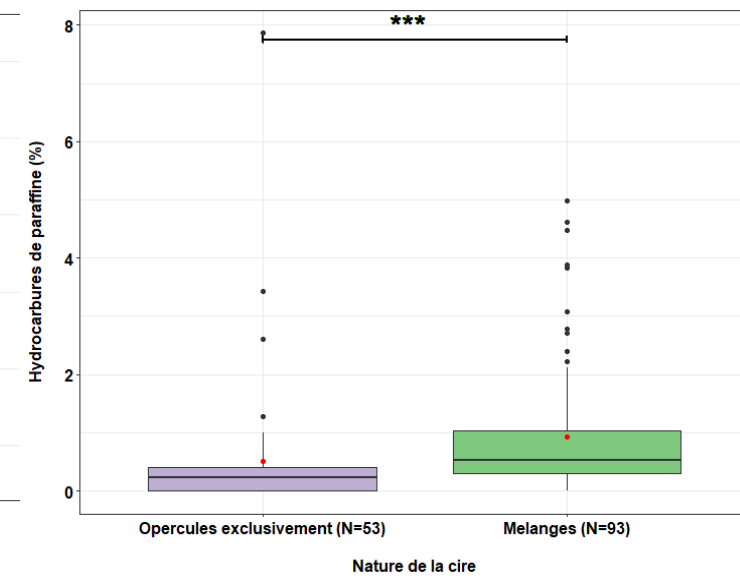
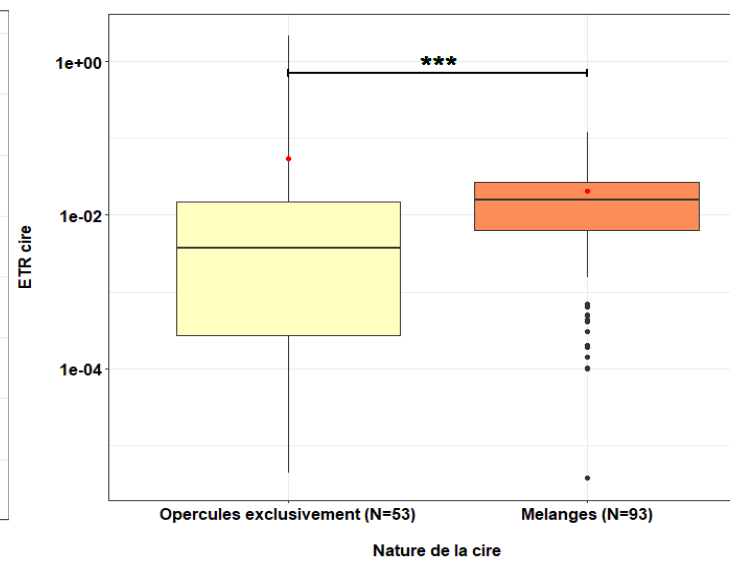
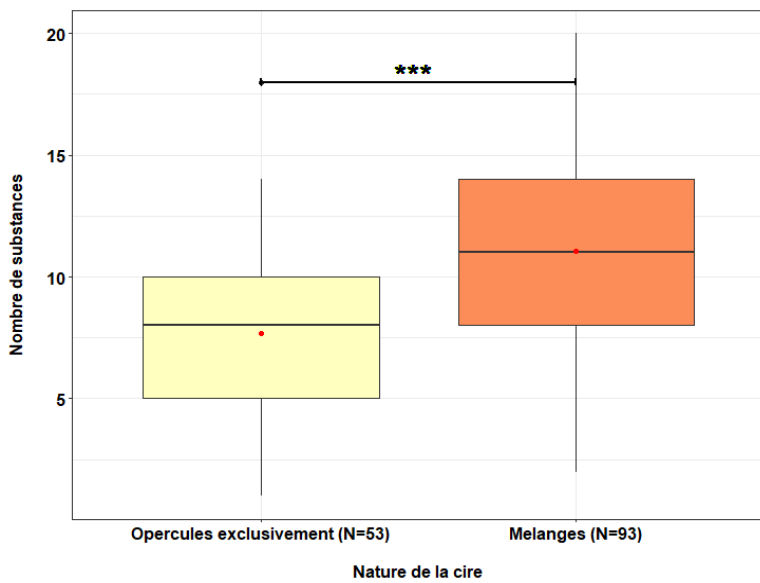


Figure 8B. Proportions d'échantillons représentés par seuil de risque de QR (cf. Tableau 7) et en fonction de la nature de la cire échantillonnée

Tableau 24 : Diversité des molécules retrouvées selon leurs usages

Nature de l'échantillon	Opercules	Mélanges
Nombre d'analyses réalisées (Nombre d'échantillons)	53	93
Nombre moyen de substances quantifiées	7,68	11,08
Nombre total de substances différentes quantifiées	49	59
Usage Biocide	6	8
Usage Phytopharmaceutique	8	11
Usage apicole	3	3
Usage pas ou plus autorisé	28	34

Tableau 25 : Molécules communément retrouvées entre les différentes natures de cires classées par ordre décroissant de fréquence de quantification pour les cires de mélanges

Molécules	Activités	Usage	Opercules (N=53)				Mélanges (N=93)			
			Fréquence d'apparition	Moyenne par molécule (mg/kg)	Médiane par molécule (mg/kg)	Maximum par molécule (mg/kg)	Fréquence d'apparition	Moyenne par molécule (mg/kg)	Médiane par molécule (mg/kg)	Maximum par molécule (mg/kg)
Tau-fluvalinate	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique ; vétérinaire apicole	83,02%	0,35	0,18	3,00	96,77%	0,60	0,37	3,30
Coumaphos	insecticide ; acaricide	vétérinaire non autorisé	73,58%	0,28	0,05	1,90	93,55%	1,05	0,73	3,60
PBO	synergiste	biocide ; phytopharmaceutique ; vétérinaire non autorisé	60,38%	0,09	0,03	0,54	86,02%	0,18	0,13	0,88
Propargite	acaricide	phytopharmaceutique non autorise	58,49%	0,50	0,07	7,30	86,02%	2,92	0,99	13,00
Thymol	acaricide	vétérinaire apicole	84,91%	1,42	0,39	12,00	78,49%	1,87	0,65	36,00
Fluméthrine	insecticide ; acaricide	vétérinaire apicole	13,21%	0,06	0,04	0,11	64,52%	0,10	0,08	0,38
Perméthrine	insecticide	biocide ; vétérinaire non autorisé	24,53%	0,05	0,05	0,08	60,22%	0,10	0,07	0,52
Fenpyroximate	insecticide ; acaricide	Phytopharmaceutique	15,09%	0,07	0,02	0,19	58,06%	0,12	0,11	0,42
Spirodiclofen	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique non autorisé	5,66%	0,09	0,07	0,16	43,01%	0,07	0,07	0,17
Chlorpyrifos	insecticide	phytopharmaceutique non autorisé	1,89%	0,08	0,08	0,08	40,86%	0,04	0,02	0,40

4) La qualité de la cire varie-t-elle selon le mode de production ?

Durant la campagne d'échantillonnage, peu de distributeurs proposaient à la vente des lots de cires gaufrées labélisés « Agriculture Biologique ». Ainsi, sur les 152 échantillons collectés dix échantillons (6,6 %) seulement correspondaient à de la cire AB (Tableau 26). Les cires conventionnelles représentent, quant à elles, plus de 90 % de l'ensemble des échantillons collectés et cinq échantillons n'ont pas pu être catégorisés faute de traçabilité et ne sont donc pas pris en compte dans les analyses descriptives.

Les résultats d'analyses chimiques témoignent, comme attendu, d'une différence importante entre les cires AB et les cires conventionnelles. Les cires AB contiennent environ trois fois moins de substances que les cires conventionnelles (Tableau 26 et Figure 9A). Cette différence se note aussi au niveau du nombre maximal de substances retrouvées dans ces deux catégories de cire. L'échantillon de cire gaufrée AB le plus contaminé contenait huit substances alors que celui de cire conventionnelle en contenait 20 (Tableau 26). Les valeurs des indicateurs toxicologiques ETR et QR parlent encore davantage, puisque leurs valeurs médianes sont respectivement 36 et 133 fois plus élevées pour les cires conventionnelles que pour les cires AB (Figures 9B et 10A). Toutefois, bien que ces indicateurs soient favorables aux cires AB, 20 % d'entre elles dépassent le seuil de risque inacceptable. La proportion de cires conventionnelles entrant dans cette catégorie est de 42 % (Figure 10B).

Les résultats d'analyses révèlent aussi que sur les 137 échantillons de cire conventionnelles analysés 69 substances différentes ont été retrouvées (Tableau 27). Cette diversité existe aussi pour les cires AB où 14 substances différentes ont été retrouvées dans les dix échantillons analysés (Tableau 27). Il s'agit du thymol qui est retrouvé dans 100 % des échantillons, du tau-fluvalinate, du coumaphos, du fluopyram, du boscalid, de la deltaméthrine, de l'esprocarb, de l'orthophenylphenol, de la perméthrine, du PBO, du propargite, du chlorphinvenphos, de la cyperméthrine et de l'iprodione (Tableau 28). Ces substances sont toutes aussi retrouvées dans les échantillons de cire conventionnelle. Toutefois, certaines d'entre elles (tau-fluvalinate, coumaphos, perméthrine, PBO, et propargite) sont beaucoup plus fréquemment retrouvées dans ces dernières que dans les cires AB. Les valeurs de leurs teneurs médianes sont aussi globalement plus élevées exception faite du thymol.

Les cires labélisées AB contiennent aussi moins fréquemment des hydrocarbures de paraffine. En effet, seulement 40 % de celles-ci contenaient des hydrocarbures de paraffine alors que cette proportion était de 84,9 % pour les cires conventionnelles. Les teneurs de cet adultérant dans les cires AB étaient aussi statistiquement inférieures à celles mesurées dans les cires conventionnelles (Tableau 26 et Figure 9C).

Tableau 26. Bilan des analyses statistiques descriptives par indicateur différenciées selon le mode de production

Mode de production		AB	Conventionnel	Inconnus	TOTAL	Figure(s) associée(s)	Test(s) statistique(s) réalisé(s)	Valeur de test et p-value	Significativités * : p-value < 0,05 ** : p-value < 0,01 *** : p-value < 0,001
Nombre échantillons analysés		10	137	5	152				
Nombre de substances	MOY	3,80	10,31	13,00	9,97	Figure 9A	Wilcoxon, Mann- Withney ou U, test de rangs (avec hypothèse alternative selon laquelle Indicateur Conventionnel > Indicateur AB)	W = 115,5 et p- value = 5,67E- 06	***
	MED	3,00	10,00	12,00	10,00				
	MIN	1,00	2,00	8,00	1,00				
	MAX	8,00	20,00	19,00	20,00				
	90e	8,00	15,40	17,80	15,90				
ETR Cire	MOY	5,27E-03	3,50E-02	3,81E-02	3,31E-02	Figure 9B		W = 282,5 et p- value = 9,92E- 04	***
	MED	3,83E-04	1,38E-02	2,92E-02	1,34E-02				
	MIN	4,31E-06	3,74E-06	1,40E-02	3,74E-06				
	MAX	3,81E-02	2,14	6,84E-02	2,14				
	90e	1,38E-02	4,62E-02	6,56E-02	4,68E-02				
QR BEETOXWAX	MOY	1,25E+04	6,76E+03	5,84E+03	7,10E+03	Figures 10A et 10B		W = 367 et p- value = 7,29E- 03	**
	MED	3,06E+01	4,08E+03	6,05E+03	4,03E+03				
	MIN	4,91E-01	2,67E-01	4,28E+03	2,67E-01				
	MAX	9,63E+04	98342,00	7,91E+03	9,83E+04				
	90e	3,52E+04	1,32E+04	7,29E+03	1,35E+04				
Hydrocarbures de paraffine (%)	MOY	0,17	0,83	1,28	0,81	Figure 9C		W = 289,5 et p- value = 1,16E- 03	**
	MED	0,00	0,44	1,36	0,44				
	MIN	0,00	0,00	0,56	0,00				
	MAX	0,69	7,86	1,88	7,86				
	90e	0,55	2,16	1,70	1,85				

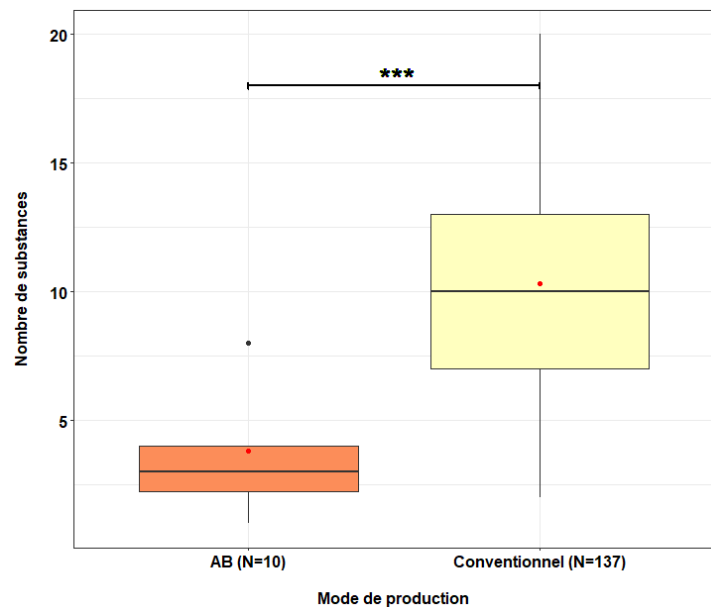


Figure 9A. Distribution du nombre de substances en fonction du mode de production

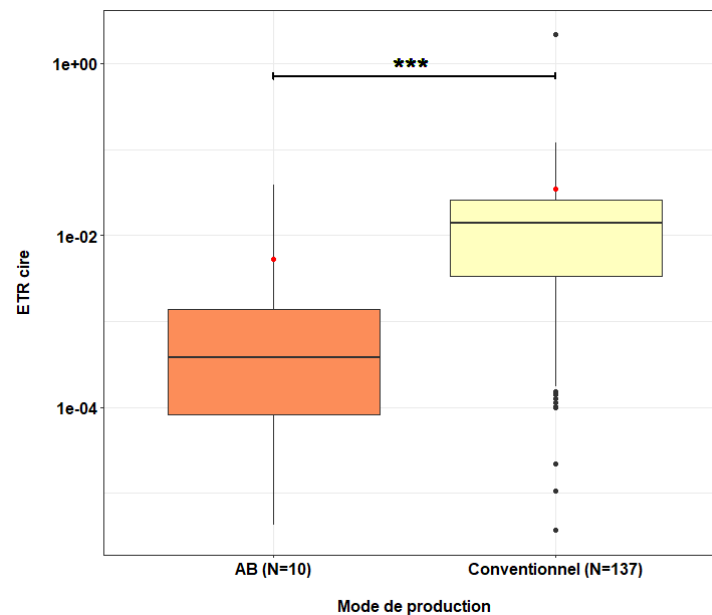


Figure 9B. Distribution de l'ETR en fonction du mode de production

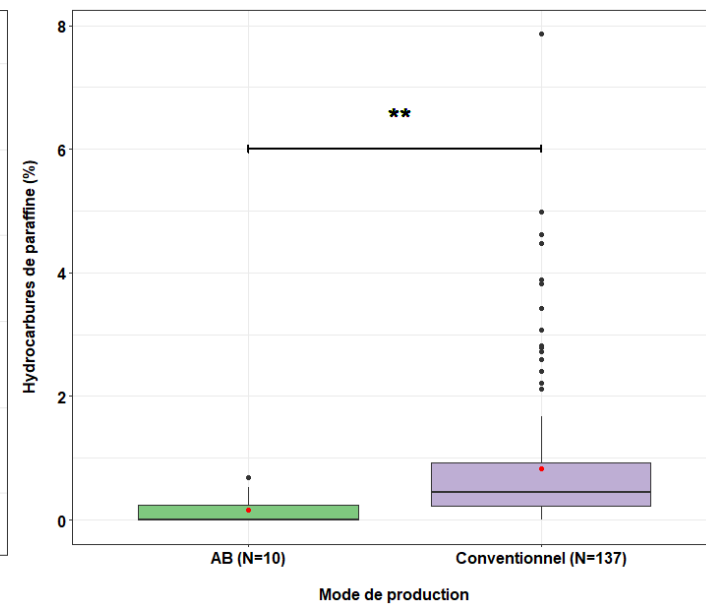


Figure 9C. Distribution des teneurs en hydrocarbures de paraffine en fonction du mode de production

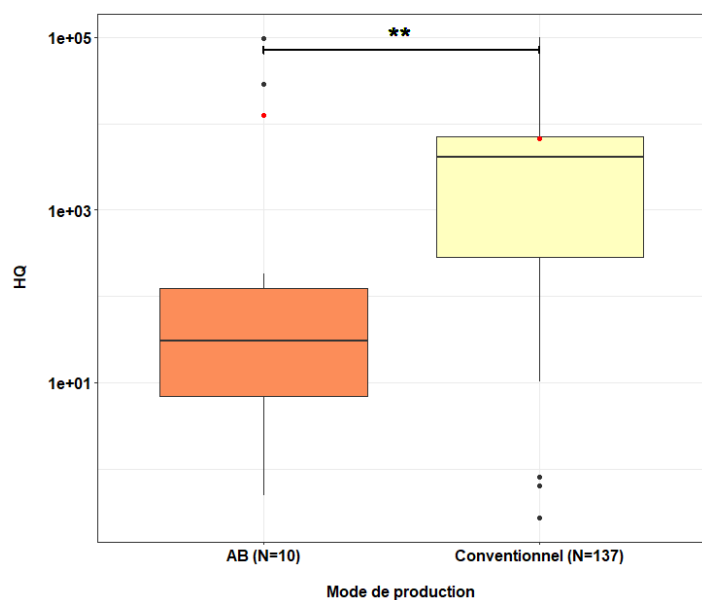


Figure 10A. Distribution du QR en fonction du mode de production

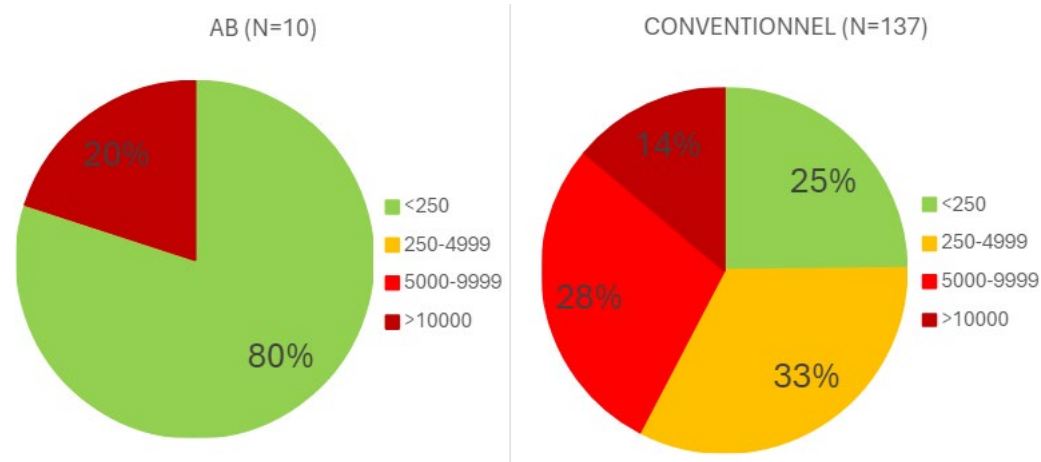


Figure 10B. Proportions d'échantillons représentés par seuil de QR (cf. Tableau 7) et en fonction du mode de production

Tableau 27 : Diversité des molécules retrouvées selon leurs usages

Mode de production	AB	Conventionnel
Nombre d'analyses réalisées (Nombre d'échantillons)	10	137
Nombre moyen de substances quantifiées	3,80	10,31
Nombre total de substances différentes quantifiées	14	69
Usage Biocide	3	8
Usage Phytopharmaceutique	2	13
Usage apicole	2	3
Usage pas ou plus autorisé	7	41

Tableau 28 : Molécules communément retrouvées entre les différents modes de production classées par fréquence de quantification dans les cires en AB

Molécules	Activités	Usage	AB (N=10)				Conventionnel (N=137)			
			Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)	Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)
Thymol	acaricide	vétérinaire apicole	100,00%	7,02	3,30	36,00	79,56%	1,20	0,44	14,00
Tau-fluvalinate	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique ; vétérinaire apicole	50,00%	0,05	0,05	0,10	94,89%	0,53	0,33	3,30
Coumaphos	insecticide ; acaricide	vétérinaire non autorisé	30,00%	0,07	0,02	0,17	90,51%	0,85	0,43	4,20
Fluopyram	fongicide ; nematicide	phytopharmaceutique	30,00%	0,05	0,03	0,08	27,74%	0,04	0,03	0,13
Boscalid	fongicide	phytopharmaceutique	20,00%	0,04	0,04	0,05	12,41%	0,02	0,02	0,03
Deltamethrine	insecticide	biocide ; phytopharmaceutique ; vétérinaire	20,00%	0,09	0,09	0,13	12,41%	0,04	0,02	0,18
Esprocarb	herbicide	non autorise	20,00%	0,02	0,02	0,02	13,87%	0,03	0,02	0,11
Orthophenylphenol	fongicide	biocide	20,00%	0,05	0,05	0,06	8,03%	0,03	0,02	0,04
Perméthrinee	insecticide	biocide ; vétérinaire non autorisé	20,00%	0,10	0,10	0,16	49,64%	0,09	0,06	0,52
PBO	synergiste	biocide ; phytopharmaceutique ; vétérinaire non autorisé	20,00%	0,06	0,06	0,10	81,02%	0,16	0,10	0,88
Propargite	acaricide	phytopharmaceutique non autorisé	20,00%	0,04	0,04	0,05	80,29%	2,27	0,23	13,00
Chlorfenvinphos	insecticide ; acaricide	non autorisé	10,00%	0,02	0,02	0,02	18,98%	0,11	0,05	0,51
Cyperméthrine	insecticide ; acaricide	biocide ; phytopharmaceutique ; vétérinaire	10,00%	0,07	0,07	0,07	7,30%	0,14	0,10	0,53
Iprodione	fongicide	biocide ; phytopharmaceutique non autorisé	10,00%	0,02	0,02	0,02	2,92%	0,01	0,01	0,01

Tableau 29. Bilan des différences significatives observées par analyses univariées

Critères d'étude	Origine géographique				Type de distributeurs					Nature de la cire	Mode de production	Nature de la cire & mode de production
Typologies/catégories de cires comparées	UE/France	UE-hors UE/France	hors UE/France	UE-hors UE/France	Enseignes générales/ciriers	Enseignes générales/groupement	Enseignes générales/enseignes spécialisées	Enseignes spécialisées/ciriers	Enseignes spécialisées/groupements	Mélanges/opercules	Conventionnel/AB	Mélanges en conventionnel/opercules en conventionnel
Effectifs	114	127	112	145	71	66	83	86	81	146	147	136
Nombre de substances (rapport des moyennes sauf 1 rapport sur les médianes)	x 1,43 (*)	x 1,54 (***)	ns	x 1,45 (***)	x 1,47 (***)	x 1,57 (***)	x 1,25 (*)	ns	ns	x 1,44 (***)	x 3,33 (***)	x 1,32 (***)
ETR cire (rapport des médianes)	x 3,70 (*)	x 3,21 (**)	ns	x 3,39 (***)	x 3,92 (***)	x 5,78 (**)	ns	x 2,96 (*)	ns	x 4,16 (***)	x 36,03 (***)	x 3,16 (***)
QR beetoxwax (rapport des médianes)	ns	x 4,61 (***)	x 4,26 (*)	x 4,23 (***)	x 3,33 (***)	x 48,79 (***)	x 1,59 (**)	ns	x 30,76 (*)	x 20,01 (***)	x 133,45 (**)	x 10,04 (***)
Hydrocarbures de paraffine (rapport des médianes)	x 4,67 (*)	x 2,56 (*)	ns	x 2,61 (***)	x 2,40 (*)	x 3,30 (**)	ns	ns	x 2,49 (**)	x 2,30 (***)	+ 0,44 (**)	ns

Significativités : * (p-value < 0,05) ; ** (p-value < 0,01) et *** (p-value < 0,001)

V. Discussion

La qualité de la cire est une préoccupation pour beaucoup d'apiculteurs français mais il existe peu d'informations sur leur niveau de contamination et d'adultération. Cette étude vient combler une partie de ce manque, en particulier en ce qui concerne la qualité des cires employées par les apiculteurs de loisirs. Peu d'entre eux produisent assez de cire pour être autosuffisants et faire gaufrer à façon les feuilles de cires qu'ils introduisent dans leurs colonies. Ainsi, la grande majorité des apiculteurs se procure de la cire dans le commerce ou bien auprès de groupements apicoles auxquels ils adhèrent.

La campagne d'échantillonnage conduite en 2023 auprès de quatre grands types de distributeurs a permis de collecter 152 échantillons de feuilles de cires gaufrées. Les distributeurs sollicités ont majoritairement répondu favorablement à nos sollicitations. Toutefois, quelques difficultés méritent d'être soulignées. Peu d'entre eux disposaient de cires labélisées AB. Parmi les distributeurs sollicités, seuls trois ciriers, trois enseignes générales et quatre groupements proposaient au moment de la collecte des lots de cire AB. Cette situation corrobore la difficulté rencontrée par les apiculteurs en cours d'installation et pratiquant une apiculture biologique pour se procurer des cires compatibles avec leur cahier des charges. Elle souligne également l'intérêt à maintenir dans la réglementation AB, la dérogation qui permet aux apiculteurs en AB d'utiliser dans leur exploitation des cires conventionnelles sous conditions que celles-ci répondent aux critères prévus dans la dérogation (analyse libératoire). Une autre difficulté qui porte préjudice à cette étude est le manque de traçabilité de certains échantillons de cire. Par ordre d'importance on peut mentionner l'origine géographique, la nature de la cire et enfin le mode de production. Enfin, on peut également mentionner le retour tardif des résultats d'analyse d'un laboratoire dû à des contretemps techniques lors de la validation de leur méthode analytique.

Les feuilles de cire gaufrée constituent une matrice non homogène, car les contaminants ou les adultérants ne sont pas forcément repartis de façon équivalente au sein d'une feuille et cela peut constituer un biais lors du prélèvement et donc aussi lors de l'interprétation des résultats. C'est pourquoi dans cette étude les échantillons de feuilles de cire gaufrée ont été broyés jusqu'à l'état de poudre avant d'être envoyés aux différents laboratoires. Des analyses répétées réalisées sur un même échantillon ainsi broyé ont permis de confirmer que la technique de broyage utilisée permettait d'obtenir un échantillon homogène. Ce résultat permet d'affirmer que les résultats des analyses réalisées sont bien représentatifs de la contamination et de l'adultération des lots de cires collectés dans cette étude.

Cette étude permet de tirer plusieurs enseignements dont certains étaient déjà connus ou pressentis. Le premier constat est que les cires vierges de toutes contamination sont rares. En effet, nous avons montré que 100 % des échantillons analysés contenaient au moins un résidu de produit phytopharmaceutique et/ou biocide ou de médicament vétérinaire. Une forte proportion de cires (95,6 %) analysées dans le projet Cimeqa était également contaminée. Cependant, le nombre médian de substances retrouvées dans les échantillons de cires (dont la plupart provenait d'apiculteurs autosuffisants) était environ deux fois moins élevé que celui

obtenu dans cette étude. Une différence importante a aussi été observée entre ces deux jeux de données au niveau de l'indicateur de risque toxicologique ETR. En effet la valeur médiane de cet indicateur est 184 fois plus élevée pour les cires issues des distributeurs comparé à l'ETR calculé à partir des résultats obtenus sur des cires provenant d'apiculteurs autosuffisants (N= 244). Ceci indique que la qualité des cires utilisées par les apiculteurs autosuffisants est de bien meilleure qualité que celles qu'achètent les apiculteurs dans le commerce. Qu'elles proviennent d'apiculteurs autosuffisants ou bien du commerce, les cires peuvent être contaminées par une grande variété de substances. Les plus fréquemment retrouvées sont toujours des résidus de médicaments vétérinaires. Les résidus de produits phytopharmaceutiques et/ou biocides, en particulier des substances dotées d'une activité insecticide, sont aussi régulièrement retrouvés dans la cire. Une majorité de ces substances ne possède pas ou plus d'usage autorisé dans l'Union européenne. Un autre enseignement commun à cette étude et au projet Cimeqa est que les cires labélisées AB ont une meilleure qualité que les cires conventionnelles. Il témoigne que les efforts consentis par les apiculteurs pratiquant une apiculture biologique en termes de choix d'emplacement et de lutte contre *V. destructor* conduisent à des résultats satisfaisants. Enfin, un autre résultat observé dans le projet Cimeqa et que viennent confirmer les résultats de la présente étude est que les feuilles de cire gaufrée confectionnées exclusivement à partir d'opercules sont d'une meilleure qualité que les feuilles confectionnées à partir de mélanges contenant des cires de brèches. Toutefois, bien qu'elles soient de meilleure qualité, les cires d'opercules peuvent, contrairement à une idée reçue, aussi contenir de fortes teneurs en résidus de produits phytopharmaceutiques et/ou biocides ou de médicaments vétérinaires. Ainsi, même si l'emploi de cire d'opercules est donc toujours à préférer, il est toutefois recommandé de pratiquer une recherche de résidus ou d'adultérants afin de vérifier qu'une fois gaufrée, les feuilles de cires qui en seront issues ne contiennent pas des teneurs incompatibles avec un usage apicole.

Cette étude permet aussi de tirer de nouveaux enseignements. D'un point de vue méthodologique, ces travaux montrent que les indicateurs de risque toxicologique (ETR et QR) sont de bons outils pour discriminer la qualité de cires appartenant à différentes catégories toxicologiques (Tableau 29). Les écarts observés à l'aide ces indicateurs sont notamment plus importants que ceux observés à l'aide de l'indicateur « nombre de substance par échantillon ». L'utilisation de seuils de risque pour l'indicateur QR constitue aussi un bon moyen de catégoriser la qualité des cires. Toutefois, les valeurs seuils utilisées ont été définies « à dire d'experts » et elles mériteraient d'être affinées, notamment en termes d'impacts sur la santé des abeilles. Malgré cette limite, l'utilisation de l'indicateur QR a permis de montrer les écarts de qualité entre les cires françaises et les cires issues d'importation. Une origine France n'est toutefois pas systématiquement gage de qualité car une proportion non négligeable d'entre elles dépassait le seuil de risque considéré comme inacceptable pour un usage apicole. Nous apprenons aussi grâce à cette étude qu'il existe une différence de qualité selon le type de distributeurs. Il est en effet moins risqué de se procurer de la cire auprès de ciriers ou auprès de groupements apicoles que d'acheter de la cire dans des enseignes spécialisées ou dans des enseignes générales. Enfin, le dernier enseignement qui mérite d'être souligné est qu'une proportion importante de cire n'est pas complètement pure (86,2 % dans

cette étude). Les substances adultérantes les plus fréquemment retrouvées sont les hydrocarbures de paraffine. Lorsqu'ils sont présents, ceux-ci sont toutefois retrouvés à de très faibles teneurs, souvent inférieures à 1 %. La présence de cet adultérant à de si faibles teneurs n'est vraisemblablement pas liée à des ajouts réalisés sciemment lors du gaufrage des lots de cires analysés, car l'intérêt économique d'une telle fraude est quasiment nul. Elles peuvent être le produit de recyclages successifs de cires adultérées par le passé avec des proportions plus importantes d'hydrocarbures de paraffine. Une autre hypothèse pouvant aussi expliquer la présence d'infimes quantités d'hydrocarbures de paraffine est le transfert par les abeilles de ce matériau depuis le bois de la ruche qui en est imprégné vers les cadres lors de la construction des rayons. D'autres substances assimilables à des adultérants tels que les acides palmitique, oléique et stéarique sont aussi parfois retrouvées. Enfin, cette étude n'a pas montré que l'année de production des lots cire influençait sa qualité. Il en est de même pour l'aspect de la cire. En effet ni l'odeur, ni la couleur n'ont pu être associées à des différences de qualité. Ces critères souvent utilisés pour qualifier la qualité des cires ne semblent donc pas toujours opportuns pour sélectionner une cire de qualité.

VI. Conclusion générale

Cette étude montre que la qualité de la cire disponible sur le marché français est très variable. Elle dépend de plusieurs facteurs (origine, mode de production, nature, distributeurs) mais aucun d'eux ne constitue un gage de qualité absolu. Il apparaît ainsi primordial que chaque lot de cires commercialisé puisse être analysé avant d'être proposé aux apiculteurs. L'état des lieux que constituent les résultats de cette étude et ceux du projet Cimeqa représente un point de départ qu'il serait opportun de reproduire dans les années à venir afin de suivre la qualité des cires qui circulent sur le territoire. Les différences de qualité observées dans ces études montrent qu'une marge de manœuvre importante existe pour diminuer les niveaux de contamination et d'adultération et leurs impacts éventuels sur la santé des abeilles. En l'absence d'une réglementation spécifique sur la qualité des cires employées en apiculture, il revient donc aux parties prenantes de la filière, les apiculteurs et les ciriers au premier chef, de s'organiser pour définir des standards de qualité à la fois suffisamment stricts pour assurer la santé des abeilles et permissifs pour éviter toute pénurie de cire sur le marché français.

VII. Bibliographie

- Calatayud-Vernich, P., Calatayud, F., Simó, E., Pascual Aguilar, J.A., Picó, Y., 2019. A two-year monitoring of pesticide hazard in-hive: high honey bee mortality rates during insecticide poisoning episodes in apiaries located near agricultural settings. *Chemosphere* 232, 471–480. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2019.05.170>
- El Agrëbi N., Traynor K., Wilmart O., Tosi S., Leinartz L., Danneels E., de Graaf D.C., Saegerman C. Pesticide and veterinary drug residues in Belgian beeswax: Occurrence, toxicity, and risk to honey bees. *Sci Total Environ.* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141036>.

- 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. <https://doi.org/10.1038/srep33207>
- Tulloch, A.P., 1980. Beeswax—composition and analysis. *Bee World* 61, 47–62.
- Wilmart O., Legrève A., Scippo M.L., Reybroeck W., Urbain B., de Graaf D.C., Spanoghe P., Delahaut P., Saegerman C. Honey bee exposure scenarios to selected residues through contaminated beeswax. *Sci Total Environ.* 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145533>.

ANNEXE I. Liste des molécules quantifiées au moins une fois dans les 152 échantillons de cire gaufrée analysés

Tableau 1 :Liste des molécules quantifiées au moins une fois dans les 152 échantillons de cire gaufrée analysée

Substance	LQ (mg/kg)	Fréquence de quantification (>LQ)	Teneur moyenne (mg/kg)	Teneur médiane (mg/kg)	Teneur maximale (mg/kg)	Activités	Usages	autorisation de la substance active	TAP ou limite d'action
tau-fluvalinate	0,02	92,11%	0,52	0,33	3,3	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique ; vétérinaire ; vétérinaire apicole	oui, expiry of approval : 31/08/2024	32,90
coumaphos	0,01	86,84%	0,86	0,43	4,2	insecticide ; acaricide	vétérinaire	non	
thymol	0,05	81,58%	1,67	0,44	36	acaricide	vétérinaire apicole	oui, expiry of approval : 30/04/2026	586,42
piperonyl butoxyde	0,01	77,63%	0,15	0,10	0,88	synergiste	biocide ; phytopharmaceutique ; vétérinaire	not yet assessed at eu level	
propargite	0,01	76,32%	2,21	0,23	13	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	non	261,10
Fluméthrine	0,02	47,37%	0,10	0,08	0,38	insecticide ; acaricide	vétérinaire ; vétérinaire apicole		0,46
Perméthrine	0,05	47,37%	0,09	0,07	0,52	insecticide	biocide ; vétérinaire	non	0,34
fenpyroximate	0,01	43,42%	0,11	0,10	0,42	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 15/06/2026	309,40
DMF	0,02	30,92%	0,07	0,04	0,58	acaricide	vétérinaire apicole	non	38,72
spirodiclofen	0,01	29,61%	0,07	0,07	0,17	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	non, expiry of approval : 31/07/2020	511,75
chlorpyrifos	0,01	28,95%	0,04	0,02	0,4	insecticide	phytopharmaceutique	non	0,65

hexythiazox	0,01	28,95%	0,03	0,02	0,088	insecticide ; acaricide	biocide ; phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 31/08/2024	292,95
fluopyram	0,01	26,97%	0,04	0,03	0,13	fongicide ; nematicide	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 30/06/2026	267,10
pyridaben	0,01	25,00%	0,02	0,02	0,057	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 31/07/2026	1,40
pentachloroanisole	0,01	22,37%	0,03	0,02	0,33	fongicide			1305,48
DEET	0,01	19,74%	0,03	0,02	0,17	insecticide	biocide		
chlorfenvinphos	0,01	18,42%	0,10	0,05	0,51	insecticide ; acaricide		non	1,44
acrinathrine	0,02	15,79%	0,18	0,07	0,74	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	non, expiry of approval : 31/12/2021	0,20
DDT p,p'	0,02	14,47%	0,08	0,05	0,3	insecticide		non	13,32
acetochlore	0,02	13,82%	0,05	0,04	0,31	herbicide	phytopharmaceutique	non	261,10
esprocarb	0,01	13,82%	0,03	0,02	0,11	herbicide		non	
lindane	0,01	13,16%	0,04	0,02	0,36	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	non	0,03
boscalid	0,01	12,50%	0,02	0,02	0,054	fongicide	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 15/04/2026	433,42
deltamethrine	0,01	12,50%	0,04	0,02	0,175	insecticide	biocide ; phytopharmaceutique ; vétérinaire	oui, expiry of approval : 15/08/2026	0,11
tebuconazole	0,01	9,21%	0,01	0,01	0,0205	fongicide ; regul. croissance plante	biocide ; phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 15/08/2026	216,84
chlorobenzilate	0,01	8,55%	0,03	0,03	0,069	insecticide ; acaricide		non	
orthophenylphenol	0,02	8,55%	0,03	0,02	0,061	fongicide	biocide	oui, expiry of approval : 15/11/2027	
prothioconazole (prothioconazole- desthio)	0,01	7,89%	0,01	0,01	0,022	fongicide	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 15/08/2025	185,38

cyperméthrine	0,05	7,24%	0,14	0,08	0,53	insecticide	biocide ; phytopharmaceutique ; vétérinaire	oui, expiry of approval : 31/01/2029. alpha, beta et zeta cyperméthrine non approuvées	1,17
prosulfocarbe	0,01	6,58%	0,02	0,02	0,032	herbicide	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 31/01/2027	269,97
DDT o,p'	0,01	5,26%	0,03	0,02	0,091	insecticide		non	
bromopropylate	0,01	4,61%	0,02	0,02	0,03	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	non	
tetradifon	0,02	4,61%	0,04	0,03	0,091	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	non	
triazophos	0,01	4,61%	0,02	0,02	0,039	insecticide ; acaricide ; nematicide	phytopharmaceutique	non	
metolachlore et S- metolachlore	0,01	3,95%	0,02	0,01	0,038	herbicide	phytopharmaceutique	non	287,21
S-421	0,02	3,95%	0,05	0,03	0,11	synergiste			
azoxystrobine	0,01	3,29%	0,02	0,01	0,023	fongicide	biocide ; phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 31/12/2024	65,27
dicophol	0,01	3,29%	0,02	0,02	0,026	insecticide ; acaricide	biocide ; phytopharmaceutique	non	130,55
iprodione	0,01	3,29%	0,01	0,01	0,02	fongicide	biocide ; phytopharmaceutique	non, expiry of approval : 05/12/2017	261,10
TDE p,p'	0,01	2,63%	0,02	0,02	0,033	insecticide			13,05
HCH delta	0,01	2,63%	0,11	0,01	0,41	insecticide	phytopharmaceutique	non	0,03
diphenylamine	0,01	1,97%	0,01	0,01	0,014	insecticide ; fongicide ; regul. croissance plante	phytopharmaceutique	non	
phoxime	0,01	1,97%	0,02	0,02	0,035	insecticide	phytopharmaceutique ; vétérinaire	non	
tetramethrine	0,05	1,97%	0,21	0,17	0,4	insecticide	biocide	non	

buprofezine	0,01	1,32%	0,01	0,01	0,01	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 15/12/2025	426,89
HCH alpha	0,01	1,32%	0,48	0,48	0,95	insecticide	phytopharmaceutique	non (hexachlorocyclohexane)	0,03
malathion	0,01	1,32%	0,04	0,04	0,056	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 31/07/2026	1,04
paclobutrazol	0,01	1,32%	0,01	0,01	0,018	fongicide ; regul. croissance plante	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 31/08/2026	5,22
propiconazole	0,02	1,32%	0,04	0,04	0,044	fongicide	biocide ; phytopharmaceutique	non, expiry of approval : 19/12/2018	531,07
propoxur	0,01	1,32%	0,01	0,01	0,01	insecticide ; acaricide	vétérinaire	non	
tebufenpyrad	0,01	1,32%	0,01	0,01	0,012	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 31/01/2027	157,44
azaconazole	0,01	0,66%	0,02	0,02	0,018	fongicide	phytopharmaceutique	non	
carbaryl	0,01	0,66%	0,07	0,07	0,074	insecticide ; regul. croissance plante	phytopharmaceutique	non	0,55
chlordan oxy	0,02	0,66%	0,03	0,03	0,031	insecticide		non	
chlorfenapyr	0,01	0,66%	0,01	0,01	0,014	insecticide ; acaricide	biocide	non	
DDE p,p'	0,01	0,66%	0,02	0,02	0,015	insecticide			
diazinon	0,01	0,66%	0,03	0,03	0,034	insecticide ; acaricide		non	0,23
dichlorprop	0,01	0,66%	0,03	0,03	0,031	herbicide ; regul. croissance plante	phytopharmaceutique	non mais dichlorprop p est approuvée (expiry of approval : 15/03/2025)	522,19
dimoxystrobine	0,01	0,66%	0,02	0,02	0,016	fongicide	phytopharmaceutique	non, expiry of approval : 31/07/2023	207,31

fenchlorphos	0,01	0,66%	0,04	0,04	0,041	insecticide	biocide ; phytopharmaceutique	non	
fluazinam	0,01	0,66%	0,02	0,02	0,024	fongicide	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 15/04/2026	261,10
fludioxonil	0,01	0,66%	0,01	0,01	0,01	fongicide	biocide ; phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 15/06/2025	261,10
HCH beta	0,01	0,66%	0,28	0,28	0,28	insecticide	phytopharmaceutique	non	0,03
lambda cyhalothrine	0,05	0,66%	0,07	0,07	0,0685	insecticide	biocide ; phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 31/08/2026	2,38
mecoprop	0,02	0,66%	0,03	0,03	0,03	herbicide	phytopharmaceutique	non, expiry of approval : 31/01/2017 mais mecoprop-p : oui, expiry of approval : 15/05/2025	216,71
myclobutanil	0,01	0,66%	0,04	0,04	0,04	fongicide	phytopharmaceutique	non, expiry of approval : 31/05/2021	88,51
pirimiphos M	0,01	0,66%	0,02	0,02	0,016	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 15/06/2025	0,57
pyraclostrobine	0,01	0,66%	0,01	0,01	0,012	fongicide	phytopharmaceutique	oui, expiry of approval : 15/09/2025	287,21
terbufos sulfoxyde	0,01	0,66%	0,02	0,02	0,021	insecticide ; nematicide	phytopharmaceutique	non	10,70
tolyfluanide	0,01	0,66%	0,01	0,01	0,01	fongicide	biocide ; phytopharmaceutique	non	514,36

ANNEXES II. Caractéristiques des échantillons de cires détaillées par origines géographiques

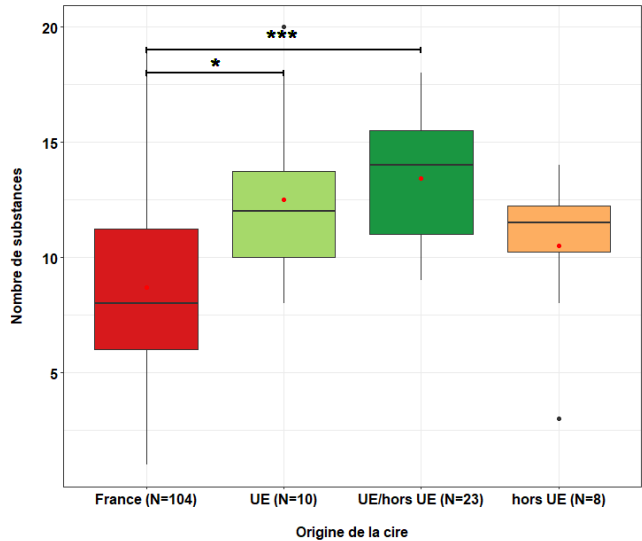


Figure 1A. Distribution du nombre de substance selon l'origine géographique de la cire

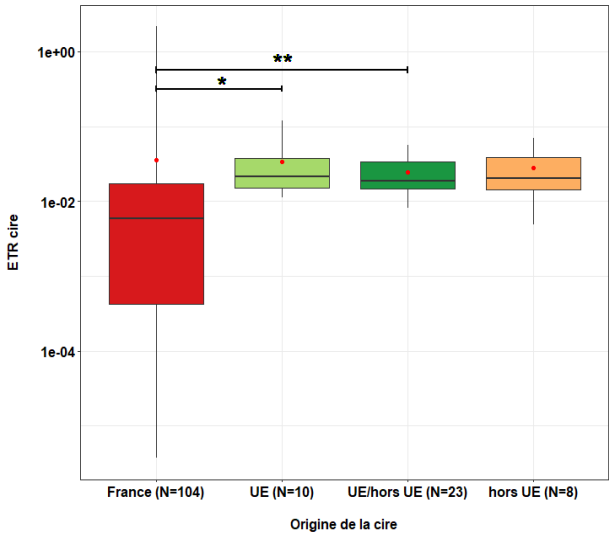


Figure 1B. Distribution de l'ETR selon l'origine géographique de la cire

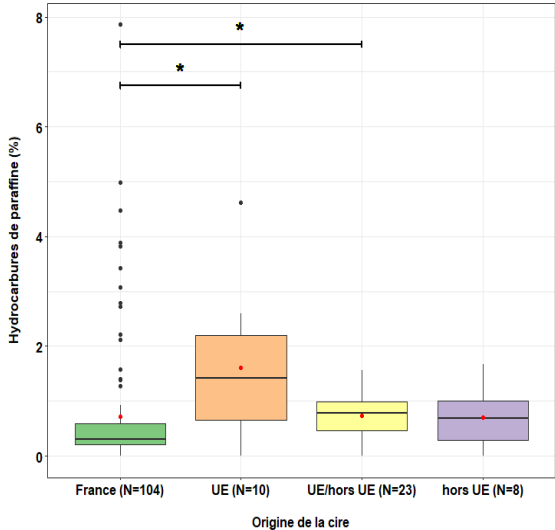


Figure 1C. Distribution des teneurs en HPA (%) selon l'origine géographique de la cire

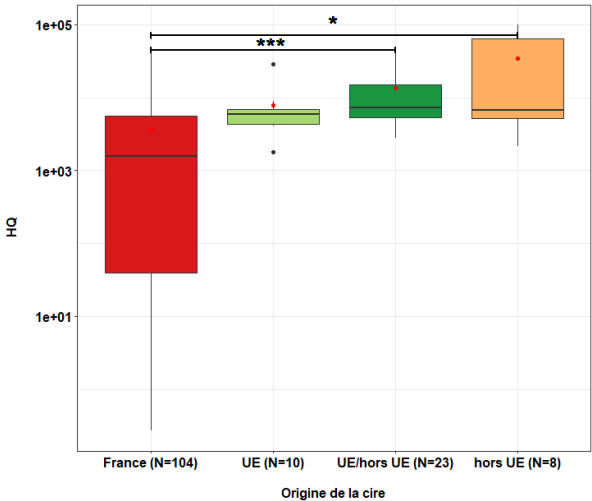


Figure 2A. Distribution du QR de BeeToxWax selon l'origine géographique de la cire

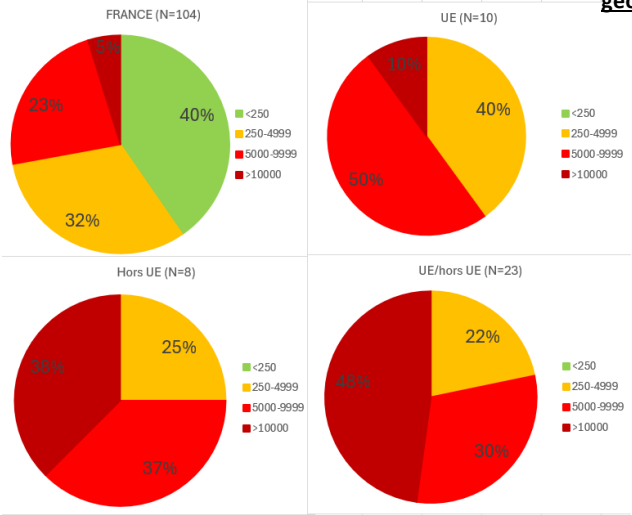


Figure 2B. Proportions d'échantillons représentés par seuil de risque de QR et en fonction de l'origine géographique

Tableau 2 : Bilan des analyses descriptives pour les indicateurs calculés en fonction de l'origine géographique

Origine géographique		France	UE	UE/hors UE	Hors UE	Inconnues	TOTAL	Figure associée	Test(s) statistique(s) réalisé(s)	Valeur de test et p-value	Significativités * : p-value < 0,05 ** : p-value < 0,01 *** : p-value < 0,001
Nombre échantillons analysés		104	10	23	8	7	152				
Nombre de substances	MOY	8,71	12,50	13,43	10,50	13,14	9,97	Figure 1A	Anova (Tuckey)	F = 9,94 et p-value = 3,83E-07	France vs. Inconnues (*) ; UE (*) et UE/hors UE (***)
	MED	8,00	12,00	14,00	11,50	13,00	10,00				
	MIN	1,00	8,00	9,00	3,00	8,00	1,00				
	MAX	19,00	20,00	18,00	14,00	19,00	20,00				
	90e	14,00	18,20	17,00	13,30	17,20	15,90				
ETR Cire	MOY	3,55E-02	3,33E-02	2,45E-02	2,76E-02	3,33E-02	3,31E-02	Figure 1B	Kruskal-Wallis (Dunn)	K = 26,73 et p-value = 2,26E-05	France vs. UE (*) et UE/hors UE (**)
	MED	5,87E-03	2,17E-02	1,88E-02	2,05E-02	2,92E-02	1,34E-02				
	MIN	3,74E-06	1,11E-02	8,05E-03	4,81E-03	1,04E-02	3,74E-06				
	MAX	2,14E+00	0,12	5,69E-02	6,95E-02	6,84E-02	2,14				
	90e	4,65E-02	5,13E-02	4,30E-02	4,98E-02	6,42E-02	4,68E-02				
QR BEETOXWAX	MOY	3,59E+03	7,74E+03	1,34E+04	3,44E+04	6,64E+03	7,10E+03	Figures 2A et 2B		K = 41,08 et p-value = 2,58E-08	France vs. Hors UE (*) et UE/hors UE (***)
	MED	1,56E+03	5,84E+03	7,20E+03	6,65E+03	6,05E+03	4,03E+03				
	MIN	2,67E-01	1,80E+03	2,77E+03	2,13E+03	4,28E+03	2,67E-01				
	MAX	4,16E+04	28405,00	4,85E+04	9,83E+04	1,23E+04	9,83E+04				
	90e	8,86E+03	1,09E+04	2,68E+04	9,69E+04	9,67E+03	1,35E+04				
Hydrocarbures de paraffine (% ou g pour 100 g de cire)	MOY	0,71	1,61	0,74	0,70	1,39	0,81	Figure 1C		K = 23,33 et p-value = 1,09E-04	France vs. Inconnues (*) ; UE (*) et UE/hors UE (*)
	MED	0,31	1,43	0,78	0,69	1,36	0,44				
	MIN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,52	0,00				
	MAX	7,86	4,62	1,56	1,67	2,82	7,86				
	90e	1,96	2,80	1,37	1,20	2,25	1,85				

Tableau 3 : Diversité des molécules retrouvées selon leurs usages « officiels »

Origine de l'échantillon	France	UE	UE/hors UE	Hors UE
Nombre d'analyses réalisées (Nombre d'échantillons)	104	10	23	8
Nombre moyen de substances quantifiées	8,71	12,50	13,43	10,50
Nombre total de substances différentes quantifiées	64	33	29	22
Usage Biocide	8	4	6	5
Usage Phytopharmaceutique	11	4	3	3
Usage apicole	3	3	3	3
Usage pas ou plus autorisé	37	21	16	11

Tableau 4 : Molécules communément retrouvées entre les différentes catégories géographiques de cires

Molécules	Activités	Usages	France (N=104)				UE (N=10)				UE/hors UE (N=23)				Hors UE (N=8)			
			Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)	Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)	Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)	Fréquence d'apparition	Moyenne (mg/kg)	Médiane (mg/kg)	Maximum (mg/kg)
Tau-fluvalinate	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique vétérinaire apicole	88,46 %	0,41	0,24	3,30	100,00 %	0,44	0,51	0,71	100,00 %	0,87	0,56	2,80	100,00%	0,81	0,40	2,30
Thymol	acaricide	vétérinaire apicole	88,46 %	1,76	0,60	36,00	80,00%	3,11	1,90	12,00	60,87%	0,78	0,13	5,40	37,50%	0,11	0,11	0,15
Coumaphos	insecticide ; acaricide	vétérinaire non autorisé	81,73 %	0,51	0,11	3,60	100,00 %	1,50	1,63	2,90	100,00 %	1,48	1,30	3,30	87,50%	1,29	0,47	3,00
PBO	synergiste	biocide ; phytopharmaceutique ; vétérinaire non autorisé	69,23 %	0,14	0,06	0,88	100,00 %	0,11	0,09	0,40	100,00 %	0,21	0,20	0,50	75,00%	0,26	0,22	0,45
Propargite	acaricide	phytopharmaceutique non autorisé	69,23 %	1,18	0,07	12,00	80,00%	1,96	0,26	7,30	100,00 %	5,10	3,90	13,00	87,50%	4,33	2,30	9,70
Perméthrine	insecticide	biocide ; vétérinaire non autorisé	36,54 %	0,08	0,06	0,46	70,00%	0,06	0,05	0,10	73,91%	0,11	0,09	0,26	75,00%	0,18	0,10	0,52
Fluméthrine	insecticide ; acaricide	vétérinaire apicole	30,77 %	0,08	0,06	0,38	60,00%	0,12	0,11	0,20	95,65%	0,11	0,09	0,26	75,00%	0,12	0,12	0,23
Fenpyroximate	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique	23,08 %	0,10	0,05	0,42	80,00%	0,08	0,05	0,23	100,00 %	0,14	0,13	0,31	75,00%	0,14	0,17	0,21
DEET	insecticide	biocide	16,35 %	0,03	0,02	0,17	50,00%	0,02	0,02	0,05	21,74%	0,05	0,06	0,09	12,50%	0,01	0,01	0,01
Acrinathrine	insecticide ; acaricide	phytopharmaceutique non autorisé	10,58 %	0,21	0,14	0,53	60,00%	0,20	0,09	0,74	21,74%	0,07	0,07	0,08	0,00%	0,00	0,00	0,00

ANNEXES III : Caractéristiques des échantillons de cires produites en circuit conventionnel détaillées en fonction de leur nature

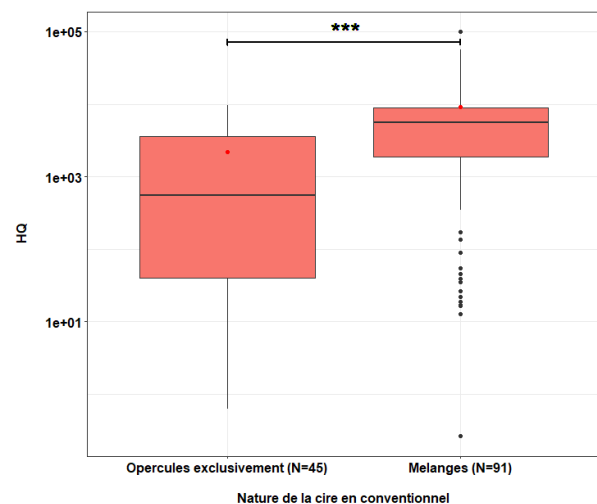


Figure 1A. Distribution du nombre de substances en fonction de la nature en conventionnel

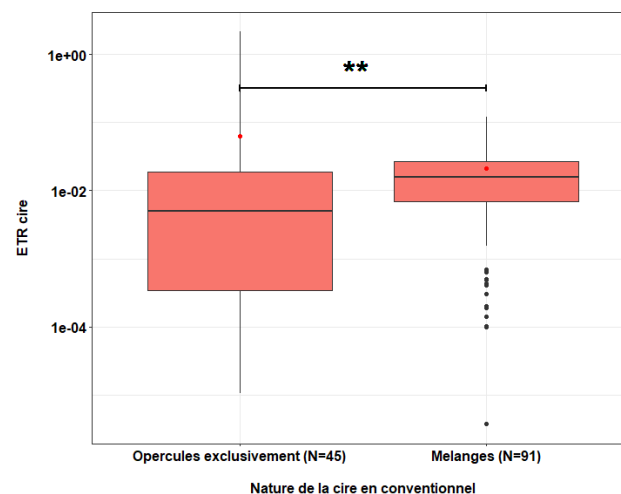


Figure 1B. Distribution de l'ETR en fonction de la nature en circuit conventionnel

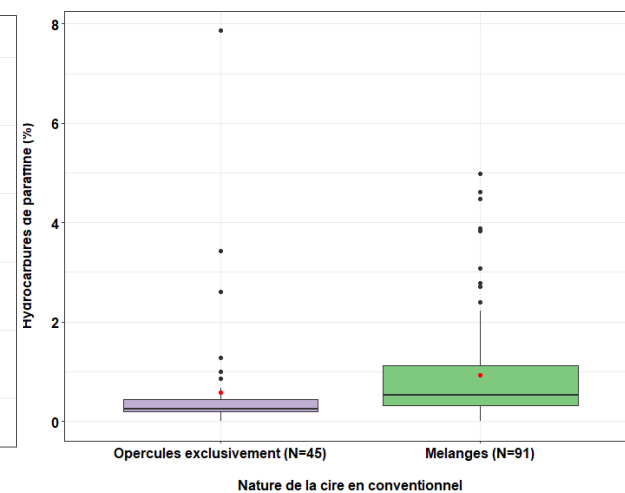


Figure 1C. Distribution des teneurs en hydrocarbures de paraffine en fonction de la nature en conventionnel

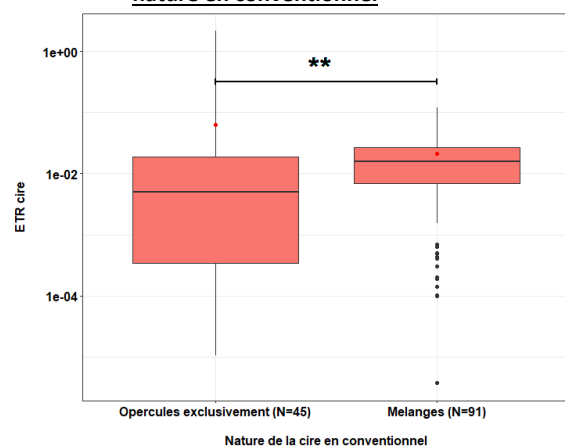


Figure 2A. Distribution du QR en fonction de la nature en conventionnel

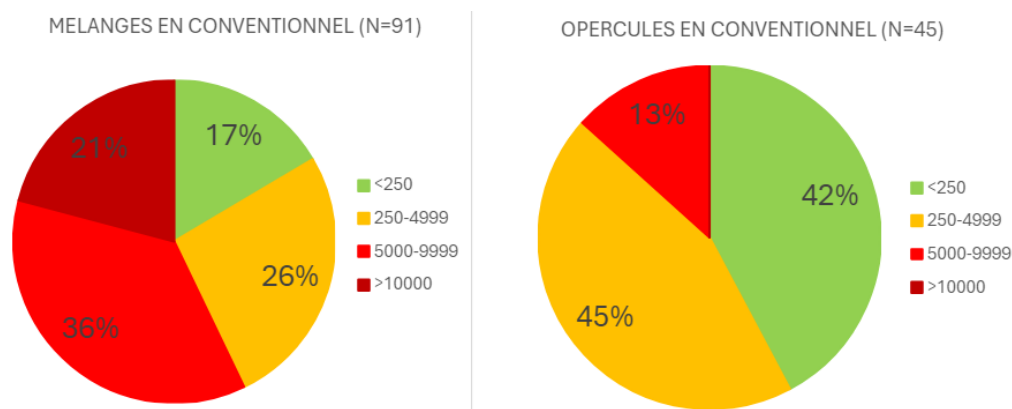


Figure 2B. Proportions d'échantillons représentés par seuil de risque de QR et en fonction de la nature en conventionnel

Tableau 5. Bilan des analyses statistiques descriptives par indicateur différenciées selon la nature de la cire employée dans un mode de production en conventionnel

Nature de la cire en conventionnel		Opercules	Mélanges	Conventionnel	Figure(s) associée(s)	Test(s) statistique(s) réalisé(s)	Valeur de test et p-value	Significativités * : p-value < 0,05 ** : p-value < 0,01 *** : p-value < 0,001
Nombre échantillons analysés		45	91	137				
Nombre de substances	MOY	8,47	11,19	10,31	Figure 1A	Student (avec hypothèse alternative selon laquelle Indicateur Mélanges> Indicateur Opercules)	W = 4,18 et p- value = 3,10E-05	***
	MED	8,00	11,00	10,00				
	MIN	2,00	2,00	2,00				
	MAX	18,00	20,00	20,00				
	90e	12,00	17,00	15,40				
ETR Cire	MOY	6,37E-02	2,08E-02	3,50E-02	Figure 1B		W = 2626,5 et p- value = 3,73E-03	**
	MED	4,93E-03	1,56E-02	1,38E-02				
	MIN	1,07E-05	3,74E-06	3,74E-06				
	MAX	2,14	1,19E-01	2,14				
	90e	6,89E-02	4,53E-02	4,62E-02				
QR BEETOXWAX	MOY	2,17E+03	9,04E+03	6,76E+03	Figures 2A et 2B	Wilcoxon, Mann-Withney ou U, test de rangs (avec hypothèse alternative selon laquelle Indicateur Mélanges> Indicateur Opercules)	W = 3062 et p- value = 1,37E-06	***
	MED	5,56E+02	5,59E+03	4,08E+03				
	MIN	6,35E-01	2,67E-01	2,67E-01				
	MAX	9736,00	9,83E+04	98342,00				
	90e	6,39E+03	1,52E+04	1,32E+04				
Hydrocarbures de paraffine (%)	MOY	0,58	0,94	0,83	Figure 1C		W = 1,62 et p- value = 5,50E-02	ns
	MED	0,25	0,53	0,44				
	MIN	0,00	0,00	0,00				
	MAX	7,86	4,99	7,86				
	90e	0,94	2,22	2,16				



AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr