



## Recherche

### Vers l'élaboration de protocoles robustes pour l'établissement de LMR pour les médicaments vétérinaires dans le miel

Richard J. Fussell [Richard.Fussell@fera.gsi.gov.uk] (1), Jack F. Kay (2), Eric Verdon [eric.verdon@anses.fr] (3), et Matthew Sharman (1)

(1) Food and Environment Research Agency, Sand Hutton, York, North Yorkshire, Royaume-Uni

(2) Veterinary Medicines Directorate, Woodham Lane, New Haw, Addlestone, Surrey, Royaume-Uni

(3) Anses, Laboratoire de Fougères, La Haute Marche, Javené, Fougères, France

R. J. Fussell, J. F. Kay, E. Verdon, M. Sharman (2012). Vers l'élaboration de protocoles robustes pour l'établissement de LMR pour les médicaments vétérinaires dans le miel, EuroReference, N°8, ER08-12RE01 <http://www.anses.fr/euroreference/numero8/>

**Malgré les préoccupations très répandues concernant l'affaiblissement de la santé des colonies d'abeilles en Europe et dans le reste du monde, les apiculteurs n'ont à leur disposition que relativement peu de médicaments vétérinaires pour traiter les maladies des abeilles. Cette situation a peu de chance de s'améliorer tant qu'il n'y aura pas de protocole reconnu au niveau international en vue de l'établissement de limites maximales de résidus (LMR) pour ces médicaments dans le miel. Un projet de recherche a donc été lancé pour développer un protocole d'échantillonnage harmonisé et statistiquement valable afin de fournir les données scientifiques fiables, indispensables pour aider les autorités de régulation à proposer des LMR pour les médicaments vétérinaires dans le miel.**

#### Introduction

S'il existe des lignes directrices strictes sur le calcul des temps d'attente pour les médicaments vétérinaires chez la plupart des espèces productrices de denrées alimentaires, celles-ci ne sont pas bien définies pour les abeilles/le miel. Il n'existe pas encore de protocole robuste pour conduire des études qui fourniraient les données nécessaires à l'appui d'une demande d'autorisation d'un traitement et d'établissement d'une limite maximale de résidu. Autre aspect défavorable, les abeilles sont considérées comme une espèce mineure de sorte qu'il existe peu d'incitations financières encourageant les entreprises pharmaceutiques à investir dans le développement de nouveaux traitements.

Le document de la Commission européenne «*Notice to applicants and Guideline - Veterinary medicinal products - Establishment of maximum residue limits (MRLs) for residues of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin (Volume 8)*» [Avis aux demandeurs et lignes directrices-Médicaments vétérinaires: Fixation des limites maximales de résidu (LMR) de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale (Volume 8)] indique que pour le miel, une étude de déplétion (destinée à déterminer le délai d'attente) devrait inclure cinq échantillons prélevés respectivement dans chacune de cinq ruches, à des échéances précises définies en fonction de la période d'administration du traitement et de la production du miel. Malgré leur utilité, ces lignes directrices peuvent donner lieu à différentes interprétations.

En dehors de l'Union européenne, il n'existe pas d'accords internationaux sur l'établissement des LMR dans le miel. Cet aspect a été souligné lorsque le *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) a récemment informé le Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (CCRVDF) qu'il n'y avait aucune recommandation et/ou procédure que le JECFA pourrait suivre pour fixer des LMR dans le miel (FAO 2011). Suite à ce constat, le Comité du Codex sur les résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (CCRVDF) a instauré un groupe de travail en vue de :

- recueillir des données sur les traitements autorisés à travers le monde ;
- identifier des paramètres communs ou apparentés utilisés lors de l'autorisation des traitements ;



- proposer une politique d'évaluation des risques pour établir des limites appropriées dans le miel (Codex 2011).  
Le groupe de travail a indiqué que les substances envisagées pour traiter les abeilles devraient être classées par catégorie sur la base des caractéristiques connues concernant la toxicité, le devenir et le comportement. Pour les substances considérées comme sûres, il a été proposé d'écarter la nécessité d'une étude des résidus (par exemple, pour le thymol). S'agissant des substances avec une dose journalière admissible (DJA) et/ou une LMR établie chez un

## Recherche

animal producteur d'aliments ou dans une denrée alimentaire (par exemple pour la tétracycline), l'extrapolation aux abeilles pourrait se faire, sous réserve d'une étude de déplétion qui permettrait de déterminer un marqueur de résidu adéquat. Enfin, les substances dont l'utilisation n'est pas approuvée pour les animaux destinés à l'alimentation, ou qui sont de nouveaux médicaments, auraient besoin d'une étude complète de déplétion des résidus, laquelle risque de ne pas être financièrement viable pour le demandeur d'autorisation de mise sur le marché dans le cas d'une espèce mineure telle que les abeilles.

La réalisation de ces études de résidus représentera un défi complexe compte tenu de la nécessité de prendre en compte de nombreuses variables. Des études antérieures ont permis d'identifier un grand nombre de facteurs, notamment la variabilité des concentrations de résidus entre ruches et au sein d'une même ruche, les effets liés aux modalités de l'administration du traitement, les propriétés de la substance utilisée pour le traitement ainsi que les facteurs saisonniers et climatiques. Une étude récente (Fussell *et al.* 2012) conclut que la taille de l'échantillon prélevé et le nombre de ruches étudiées devraient être suffisamment importants pour limiter la variabilité des mesures de concentrations de résidus, y compris l'échantillonnage, afin d'obtenir des valeurs acceptables.

Après avoir examiné les éléments probants de l'étude de Fussell *et al.* 2012 et de précédentes études, le groupe de travail du CCRVDF propose un projet de protocole pour conduire des études de résidus sur le miel. Le CCRVDF recommande de collecter tout le miel dans les hausses d'au moins cinq ruches traitées, et à au moins huit différentes échéances. L'intervalle entre les prélèvements devrait être fixé de façon à permettre la caractérisation des profils de déplétion types observés dans les précédentes études (voir Figure 1). Au moins cinq « ruches témoins » devraient être exclues du traitement et tenues à une distance suffisante pour éviter tout risque de contamination croisée par des abeilles provenant des ruches traitées.

Le VMD « Veterinary Medicines Directorate », agence nationale britannique, finance actuellement une nouvelle étude destinée à évaluer ce projet de protocole du CCRVDF. Conduite par le FERA « Food and Environment Research Agency » au Royaume-

Uni, cette étude se concentrera sur le développement de méthodes statistiques pour le prélèvement des échantillons de miel. L'étude se déroulera sur au moins trois ans afin de prendre en compte les variations saisonnières et climatiques. Cet aspect est important parce que les modalités de stockage et de déplacement du miel par les abeilles entre ruches et à l'intérieur des ruches pourraient influencer la distribution des médicaments. La première phase du projet, une étude de terrain impliquant cinq ruches témoins et 45 ruches traitées, a démarré en mai 2012. Les ruches ont été traitées à la fin du printemps avec une « molécule type », la ciprofloxacine (antimicrobien de la famille des fluoroquinolones) dissoute dans une solution sirupeuse qui a été appliquée à chaque nourrisseur. La ciprofloxacine a été choisie parce qu'elle est stable et qu'elle produit des résidus qui sont mesurables par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem.

Le miel sera extrait de chaque cadre des hausses<sup>(1)</sup>, réuni et mélangé pour former un échantillon global représentant une hausse particulière. La concentration moyenne en résidus de chacune des hausses sera calculée à partir des résultats des analyses successives. Les résultats de chaque hausse individuelle donneront lieu à une moyenne pour calculer ensuite la concentration moyenne de chaque ruche. La plus petite unité aux fins de l'analyse statistique sera par conséquent une hausse individuelle. Si les résultats de 2012 montrent que des données satisfaisantes peuvent être obtenues en utilisant moins de ruches, il en sera tenu compte dans le protocole pour la seconde phase du projet qui doit débuter en 2013. La diminution du nombre de ruches dans les phases suivantes (années 2 et 3 du projet) devrait inciter des collaborateurs des différentes régions du monde à participer. Cela permettrait d'évaluer les effets d'un plus grand nombre de facteurs (tels que les différentes souches d'abeilles, les diverses pratiques d'élevage, les pratiques thérapeutiques et les facteurs géographiques), et de générer un ensemble de données encore plus complet.

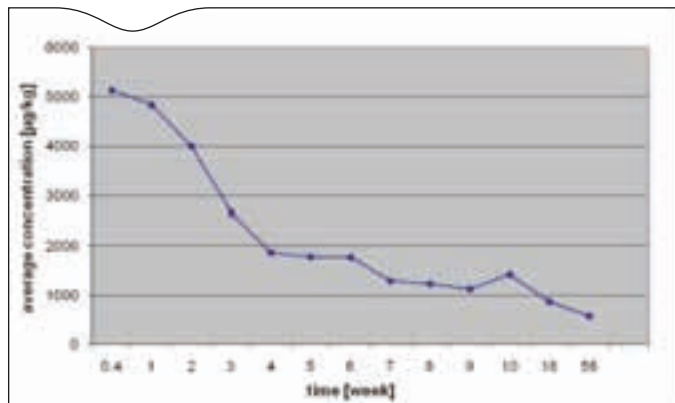


Figure 1. Déplétion de la ciprofloxacine du miel prélevé au niveau des hausses jusqu'à 56 semaines après le traitement (sur la base de la moyenne des résultats calculée à partir de neuf ruches individuelles)



Application par pulvérisation du médicament sous forme de solution sirupeuse

(1) La hausse est un compartiment individuel qui est placé au-dessus du corps de la ruche et dans lequel le miel est stocké avant sa collecte aux fins de la consommation humaine.



## Recherche

Le Laboratoire de Fougères de l'Anses, laboratoire national de référence pour les résidus de médicaments vétérinaires dans les denrées d'origine animale, a manifesté un intérêt particulier à l'égard de cette étude. Suite à la récente signature d'un Protocole d'accord entre Fera-York et le Laboratoire de Fougères de l'Anses portant sur une possible collaboration scientifique à l'avenir concernant les résidus de médicaments vétérinaires, le laboratoire de Fougères apportera sa contribution en matière d'expertise analytique pour la détermination des résidus antimicrobiens dans le miel, et participera à l'évaluation statistique des nouvelles données obtenues.

Ce projet de recherche ne vise pas à soutenir l'autorisation d'un quelconque produit spécifique, mais ambitionne plutôt de mettre au point un protocole qui pourra être utilisé pour générer des données fiables sur la déplétion des résidus.

Les données de ces expériences fourniront des informations statistiques qui pourraient être utilisées pour mieux définir les exigences expérimentales d'une bonne étude de déplétion, et donc susceptibles d'aider au calcul de temps d'attente adaptés.

### Conclusion

Cette étude devrait déboucher sur un protocole valide sur le plan statistique qui pourra être utilisé par le Royaume-Uni et d'autres pays pour aider à l'établissement des LMR dans le miel.

L'étude servira directement aux initiatives internationales au sein de l'UE, au Comité du *Codex Alimentarius* en charge des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments (CCRVDF) et au JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives).

### Références

Codex (2011) Discussion Paper on the Policy for the Establishment of MRLS or other limits in honey, *Codex Alimentarius Commission*, CX/RVDF 12/20/14, December 2011

Commission européenne (2005) [http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-8/pdf/vol8\\_10-2005\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-8/pdf/vol8_10-2005_en.pdf)

FAO (2011). <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0659e/i0659e01.pdf>

Fussell RJ, Heinrich K, Dickinson M, Wilkins S, Roelofs V, Murray A, Kay JF, Sharman M. (2012) Investigation into the Experimental Protocols Required to Determine Maximum Residue Limits (MRLs) in Honey. Drug Testing and Analysis, *submitted*

### Remerciements

Le VMD (Veterinary Medicines Directorate) du ministère britannique de l'environnement, de l'alimentation et des affaires rurales est chaleureusement remerciée pour son soutien financier.

### Autres publications

Adams S, Heinrich K, Hetmanski M, Fussell RJ, Wilkins S, Thompson HM, Sharman M. (2007) Study of the depletion of tylosin residues in honey extracted from treated honeybee (*Apis mellifera*) colonies and the effect of the shook swarm procedure. *Apidologie*, 38, 315-322

Adams S, Heinrich K, Fussell RJ, Wilkins S, Thompson HM, Ashwin H, Sharman M. (2008) Study of the distribution and depletion of chloramphenicol residues in bee products extracted from treated honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie*, 39, 537-546.

Adams S, Fussell RJ, Dickinson M, Wilkins S, Sharman M. (2009) Study of the depletion of lincomycin residues in honey extracted from treated honeybee (*Apis mellifera*) colonies and the effect of the shook swarm procedure. *Analytical Chimica Acta*, 637, 315-320