



Université Claude Bernard



Lyon 1

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **18 octobre 2017**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **JABOT Claire**

Titre de la thèse : « Développement de stratégies analytiques basées sur la LC-MS/MS pour la recherche de traces de pesticides et métabolites dans des matrices apicoles »



Résumé

Depuis plusieurs années, des mortalités anormalement élevées sont observées chez les abeilles, au niveau mondial. Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de ces phénomènes, dont l'utilisation de pesticides. Parmi ceux-ci, les insecticides de la famille des néonicotinoïdes et des pyréthrinoïdes ainsi que certains fongicides de la famille des carboxamides sont mis en cause. Les travaux présentés dans ce manuscrit sont consacrés au développement de méthodes analytiques pour l'identification, la détection et la quantification de 13 pesticides et leurs métabolites dans les abeilles et les produits de la ruche tels que le pain d'abeille et la cire d'abeille.

Dans un premier temps, une méthode originale par dSPE a été développée pour l'extraction des pesticides ciblés dans la cire d'abeille. Combinée à une méthode d'analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse triple quadripôle (UPLC-MS/MS), elle permet d'atteindre des limites de quantification jamais atteintes auparavant en multi-familles sur cette matrice complexe, comprises entre 1 et 40 ng.g⁻¹.

L'application de cette méthode sur des cires ainsi que l'analyse d'autres matrices apicoles fournis par des apiculteurs (au total 488 échantillons dont 125 abeilles, 87 cires et 276 pains d'abeille) ont montré une large présence de ces pesticides dans les ruchers français. Globalement, la cire d'abeille est la matrice présentant les plus fortes concentrations et le pain d'abeille est la matrice la plus contaminée en termes de nombre de pesticides présents.

Une seconde partie des travaux est dédiée à la détection et à l'identification des métabolites de pesticides générés par des expérimentations in vitro et in vivo. Pour cela, une stratégie analytique, basée sur la complémentarité entre la spectrométrie de masse à temps de vol et triple quadripôle, a été mise en place. La première permet l'identification des métabolites par la combinaison de la recherche de métabolites connus et de profils isotopiques spécifiques (Cl, Br, S). La seconde permet leur détection et leur quantification dans des échantillons d'abeille.

Cette double approche a notamment permis d'identifier 9 métabolites de pesticides et 5 marqueurs d'exposition. Des métabolites et marqueurs d'exposition au boscalide (carboxamide), principalement issus de réactions d'hydroxylation, déshalogénéation et substitution, ont été synthétisés. Ces derniers ont ensuite été détectés et quantifiés dans des échantillons d'abeilles issus de ruchers symptomatiques.

Les développements analytiques et résultats permettent, d'une part, de faire un état des lieux de la présence de pesticides jugés préoccupants dans les ruchers français. D'autre part, ils fournissent aux écotoxicologues des données permettant de mieux comprendre les modes d'action des pesticides chez les abeilles.

Mots-clés : chromatographie liquide, spectrométrie de masse, abeille, pesticide, métabolisme