



Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017/numéro 81
Numéro spécial abeilles

ÉDITORIAL

L'origine multifactorielle des troubles de santé observés chez l'Abeille mellifère s'impose à la communauté scientifique depuis une vingtaine d'années. Les rapports de l'Afssa en 2008 sur les mortalités, effondrements et affaiblissements des colonies d'abeilles et l'étude européenne de l'EFSA en 2009 sur les systèmes de surveillance ont permis de documenter cette hypothèse, qui a été prolongée dans le rapport de l'Anses de 2015 sur la co-exposition des abeilles aux facteurs de stress. Supposer que l'origine des troubles de santé est multifactorielle est une chose, mais en expliquer les mécanismes et, *a minima*, faire la part de l'influence de chacun des facteurs potentiellement impliqués en est une autre. C'est donc avec ces objectifs de décrire la situation sanitaire des ruchers et d'estimer l'implication de chacun des facteurs de santé que se sont mis en place un certain nombre d'études épidémiologiques et de systèmes de surveillance en France et en Europe au cours de ces dix dernières années. Il nous a donc semblé intéressant et utile de réunir dans ce numéro « spécial abeilles » du *Bulletin Epidémiologique Santé animale - alimentation* un état des connaissances produites par ces différentes études et dispositifs de surveillance. C'est ainsi que vous trouverez dans ce numéro des articles qui présentent la situation d'un certain nombre de dangers sanitaires qui menacent la santé des colonies, qu'ils soient présents sur le territoire français (*Paenibacillus larvae*, agent de la loque américaine), ou exotiques (*Aethina tumida*). Vous y trouverez également la présentation d'études et dispositifs de surveillance à l'échelle locale (*Varroa destructor* à Ouessant), nationale (surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles) ou encore européenne (Epilobee). Enfin, plusieurs articles présentent la question de l'épidémiologie appliquée à la santé de l'abeille sous l'angle des méthodes ou des outils (particularités de l'épidémiologie appliquée à l'abeille, missions des laboratoires de référence à l'échelon national ou européen ou encore évaluation du dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës de l'Abeille) dont certains sont encore en construction (comme l'Omaa, l'Observatoire des mortalités et des affaiblissements de l'Abeille mellifère). Nous espérons que ces articles éclaireront le lecteur sur l'état des connaissances et assureront une information plus complète sur les initiatives en cours. À n'en pas douter, d'autres études épidémiologiques sont encore à mettre en œuvre et sont indubitablement nécessaires pour mieux comprendre les causes des phénomènes de santé chez l'Abeille en France (et en Europe), et fournir ainsi des connaissances nouvelles pour contribuer à l'amélioration de la situation sanitaire du cheptel apiaire.

Le comité de rédaction du numéro spécial abeilles

Article 1

L'épidémiologie appliquée à la santé de l'abeille domestique

Article 2

La surveillance officielle des mortalités massives aiguës et des dangers sanitaires de première catégorie des abeilles

Article 3

Evaluation du dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles en France métropolitaine par la méthode Oasis

Article 4

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

Article 5

Une étude épidémiologique pan-européenne montre que la survie des colonies d'abeilles serait influencée par la formation des apiculteurs et par le contrôle des maladies

Article 6

Un nouvel outil de surveillance sanitaire du cheptel apicole prochainement expérimenté en France: l'Observatoire des mortalités et des affaiblissements de l'Abeille mellifère (Omaa)

Article 7

Le petit coléoptère des ruches (*Aethina tumida*): situation trois ans après sa détection en Italie en 2014

Article 8

Le petit coléoptère des ruches (*Aethina tumida*) aux États-Unis, parasite ravageur des colonies d'*Apis mellifera*

Article 9

Surveillance officielle du petit coléoptère des ruches *Aethina tumida* en France

Brève

Apinella, un programme national de détection précoce du petit coléoptère de la ruche en Suisse

Article 11

De la surveillance individuelle à la surveillance collective: connaître le niveau d'infestation des colonies d'abeilles mellifères par *Varroa destructor* pour optimiser et rationaliser la lutte

Article 12

Situation sanitaire et surveillance vis-à-vis de *Varroa destructor* sur l'île d'Ouessant

Article 13

Loque américaine: une maladie bactérienne du couvain de l'Abeille mellifère

Article 14

Nosema ceranae (Microsporidia): un agent pathogène des abeilles mellifères controversé du 21^e siècle

Article 15

Surveillance du frelon asiatique, *Vespa velutina nigrithorax* (Hymenoptera: Vespidae)

Article 16

Le laboratoire national et européen de référence pour la santé de l'abeille (Anses, Sophia Antipolis)

Paper 1

Epidemiology applied to honeybee health

Paper 2

Official surveillance of acute massive mortalities and Category 1 health hazard in honey bees: 2015/2016 review and perspectives

Paper 3

Evaluation of the surveillance system of acute massive mortalities of honey bees in metropolitan France by the Oasis method

Paper 4

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

Paper 5

A pan-European epidemiological study has shown that the survival of honeybee colonies is influenced by the training of beekeepers and by disease control

Paper 6

A new tool for the health surveillance of bee populations soon to be tested in France: the Observatory of mortality and weakening in honeybee populations (Omaa)

Paper 7

*The small hive beetle (*Aethina tumida*): situation three years after its first detection in Italy in 2014*

Paper 8

*Small hive beetle (*Aethina tumida*) as pests in *Apis mellifera* colonies*

Paper 9

*Official surveillance of the small hive beetle *Aethina tumida* in France*

Short item

Short item. Apinella, a national early detection program of the small hive beetle in Switzerland

Paper 11

*From individual monitoring to collective surveillance: evaluating the infestation of colonies by *Varroa* to optimise and rationalise control efforts*

Paper 12

*Health situation and surveillance of *Varroa destructor* on the Isle of Ushant (Ouessant, France)*

Paper 13

American foulbrood – a bacterial disease in honeybee brood

Paper 14

**Nosema ceranae* (Microsporidia), a controversial 21st century honey bee pathogen*

Paper 15

*Monitoring of the Yellow-legged hornet, *Vespa velutina nigrithorax* (Hymenoptera: Vespidae)*

Paper 16

Activities of the national and European reference laboratory for Honey bee health

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

L'épidémiologie appliquée à la santé de l'abeille domestique

Pascal Hendrikkx (1), Axel Decourtye (2,3,4), Maryline Pioz (3,5), Stéphanie Franco (6), Sébastien Wendling (7), Anne Bronner (7), Didier Calavas (8), Marie-Pierre Chauzat (9)

Auteur correspondant : pascal.hendrikkx@anses.fr

(1) Université de Lyon-Anses, Laboratoire de Lyon, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, Lyon, France

(2) Institut technique et scientifique de l'Apiculture et de la pollinisation, Avignon, France

(3) Unité mixte technologique Protection des abeilles dans l'environnement, Avignon, France

(4) Association de coordination technique agricole, Avignon, France

(5) Institut national de recherche agronomique, Unité Abeilles et Environnement, Avignon, France

(6) Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis, Unité Pathologie de l'abeille, Sophia Antipolis, France

(7) Direction générale de l'Alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France

(8) Université de Lyon-Anses, Laboratoire de Lyon, Unité Épidémiologie, Lyon, France

(9) Anses, Direction de la stratégie et des programmes, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, Maisons-Alfort, France

Résumé

L'approche épidémiologique de la santé de l'abeille domestique *Apis mellifera* est encore récente et motivée depuis quinze ans par l'augmentation des mortalités de colonies. Elle est conditionnée par des spécificités liées à la filière apicole. Dans le domaine de la surveillance, les objectifs doivent être déterminés avec précision pour s'assurer de répondre à une finalité opérationnelle. Les cas sont souvent difficiles à définir et doivent tenir compte de l'unité épidémiologique considérée. La collecte des données se heurte souvent à la disponibilité et à la qualité des outils de mesure. Pour lever ces contraintes, un effort particulier est à porter sur la formation et l'organisation des acteurs. Dans le domaine de l'épidémiologie analytique, les études se confrontent à la difficulté du choix des facteurs de santé à prendre en considération, en raison notamment de l'implication combinée de ces facteurs dans les troubles de santé observés. Cette multiplicité des facteurs et la complexité des mécanismes de leurs impacts nécessitent d'avoir recours à de grandes tailles d'échantillon ce qui est difficile dans la pratique. De même, le développement de modèles prévisionnels se heurte à la difficulté d'estimer les paramètres de ces modèles. L'ensemble de ces difficultés pousse les acteurs à partager les référentiels qui permettraient de mutualiser les données collectées.

Mots-clés

Épidémiologie, santé des abeilles, surveillance, épidémiologie analytique

Abstract

Epidemiology applied to honeybee health
Epidemiology applied to honeybee health is still recent and has been motivated for fifteen years by the increase in colony mortality and conditioned by specificities related to the sector. In the field of surveillance, objectives must be precisely determined to ensure that they meet an operational purpose. Cases are often difficult to define and must take into account the considered epidemiological unit. Data collection is often limited by the availability and quality of measurement tools. To remove these constraints, a special effort has to be made on the training and the organization of surveillance actors. In the field of analytical epidemiology, a difficulty is to choose the health factors to be taken into account, in particular because of the associated implication of these factors in the health problems. This multiplicity of factors and the complexity of the mechanisms of their impacts require the use of large sample sizes, which is difficult in practice. Similarly, the development of predictive models is hampered by the difficulty of estimating their parameters. All these difficulties push the actors to share data repository in order to make it possible to pool data collected for further analysis and interpretation.

Keywords

Epidemiology, Honeybee health, Surveillance, Analytical epidemiology

La santé des populations d'abeilles mellifères *Apis mellifera* a été plus particulièrement marquée au cours de ces dernières décennies par l'apparition de *Varroa destructor* en Europe dans les années 1970 (1982 en France), et, depuis le début des années 2000, par le signalement d'une augmentation importante des mortalités de colonies, que ce soit au cours de l'hiver ou en saison apicole. Même si l'on connaît plusieurs des facteurs déterminants de la santé des colonies, que ce soient des facteurs biologiques (parasites, champignons, bactéries, virus, prédateurs, ravageurs), chimiques, ou encore liés à des facteurs environnementaux ou humains (Anses, 2015), un grand nombre de questions restent sans réponse : quelle est la part relative de ces facteurs dans les mortalités mises en évidence ? Quelle est la distribution de ces facteurs dans le temps et dans l'espace ? Quelles associations de facteurs ont un impact sur la santé des abeilles ? Quel est le niveau réel des indicateurs de santé dans les populations (mortalité, morbidité notamment) et leur évolution dans le temps ? C'est à ces questions que l'épidémiologie cherche à répondre par des programmes de surveillance ou par la mise en place d'études analytiques destinées à expliquer les mécanismes épidémiologiques affectant la santé des abeilles.

L'épidémiologie en santé animale est une discipline encore récente, qui s'est longtemps inspirée directement des méthodes d'épidémiologie en santé humaine, et qui s'est plus particulièrement développée à partir des années 1950 dans le cadre des grands programmes d'éradication des maladies des ruminants, des porcs ou des volailles. La filière apicole est restée longtemps à l'écart de ces programmes nationaux, certainement en raison d'un manque d'organisation de la filière et de son moindre poids économique. Les problèmes importants de santé des colonies qui sont rapportés aujourd'hui par les apiculteurs ont conduit les scientifiques à intégrer l'épidémiologie dans les disciplines amenées à contribuer à la recherche de réponses aux questions évoquées plus haut. Appliquer l'épidémiologie à la santé de l'abeille nécessite cependant un certain nombre d'adaptations aux spécificités de la filière apicole. Ces adaptations sont aujourd'hui portées dans le cadre des groupes de suivi de la Plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale (Plateforme ESA) qui interviennent en appui de plusieurs dispositifs de surveillance en santé apicole (comme l'Observatoire des mortalités et des affaiblissements de l'abeille mellifère ou la vigilance du petit coléoptère des ruches). Cet article a pour objectif de détailler certaines de ces spécificités.

L'épidémiologie s'appuie sur plusieurs domaines d'activité. Nous aborderons ici les spécificités de trois de ces domaines : l'épidémiologie descriptive, représentée notamment par la surveillance, l'épidémiologie analytique qui s'attache à expliquer les causes d'un phénomène de santé et enfin l'épidémiologie prévisionnelle qui cherche à les anticiper.

La surveillance de la santé des abeilles

La surveillance est une *méthode fondée sur des enregistrements permettant de suivre de manière régulière et prolongée l'état de santé ou les facteurs de risque d'une population définie, en particulier de déceler l'apparition de processus pathologiques et d'en étudier le développement dans le temps et dans l'espace en vue de l'adoption de mesures appropriées de lutte* (Toma et al., 2010). La surveillance est donc une activité durable dans le temps et dont la finalité est l'action sanitaire. La première question à se poser est donc de savoir ce que l'on surveille, et pour quoi faire ?

La surveillance, la question cruciale de l'objectif

L'objet et l'objectif de la surveillance sont particulièrement importants à déterminer pour mettre en place les modalités de surveillance adaptées et fonder une action sanitaire sur des données pertinentes. Dans la plupart des filières, l'objet de la surveillance est le plus souvent un

danger sanitaire bien identifié (la tuberculose bovine par exemple) avec des objectifs divers selon la situation épidémiologique, par exemple : i) pour une maladie présente, détecter chaque cas pour en permettre l'éradication, ii) pour une maladie exotique, détecter précocement toute introduction. Plusieurs dangers sanitaires de première catégorie sont fondés sur ce principe dans la filière apicole avec un objectif clair de mise en place de mesures de police sanitaire en cas de détection, comme c'est le cas pour le petit coléoptère des ruches *Aethina tumida* qui fait l'objet d'articles dans ce numéro spécial, ou encore l'infestation par l'acarien *Tropilaelaps* spp. Pour les autres dangers sanitaires, soit il existe une surveillance cantonnée au suivi de l'évolution de l'aire de répartition du danger sanitaire dans l'attente d'outils de gestion reconnus efficaces (cas du frelon asiatique *Vespa velutina*, voir l'article de Rome et al. dans ce numéro), soit aucune surveillance n'est en place, soit une surveillance peine à se mettre en place en raison des difficultés à déterminer les objectifs d'une action sanitaire. Il est en effet difficile d'identifier quelle action sanitaire collective pourrait se mettre en place sur la base d'une détection ou de la connaissance de la situation épidémiologique de certains virus qui affectent les abeilles, sans notamment la prise en compte des interactions entre ces virus et d'autres dangers sanitaires. Pour *Varroa destructor*, considérant sa présence dans la quasi-totalité des ruchers, si l'intérêt individuel pour l'apiculteur de connaître le niveau d'infestation de son rucher pour adapter son protocole de traitement paraît assez clair, l'intérêt collectif doit être bien précisé et la faisabilité technique de la mise en œuvre d'un protocole répondant aux objectifs vérifiée pour justifier d'investir dans la collecte de données populationnelles comme nous le rappelle Vallon et al. dans ce numéro (comme peut l'être par exemple l'identification de zones et de périodes d'augmentation des charges parasitaires pouvant justifier la diffusion d'alertes aux apiculteurs).

Face à l'augmentation de la mortalité des colonies, une attente légitime est que la surveillance prenne pour objet la mortalité des colonies (voir l'article de Jacques et al. sur le programme Epilobee). Si un objectif de cette surveillance est d'estimer des taux de mortalité représentatifs qui permettent de suivre la situation dans le temps et dans l'espace, il faut reconnaître que cet objectif peut être source de frustrations pour des apiculteurs qui questionnent plutôt les causes de cette mortalité. Or, si la surveillance peut apporter des hypothèses sur ces causes, elle ne peut en aucune manière apporter une réponse à cette question. En effet, la surveillance ne peut que décrire une situation et non l'expliquer.

La difficulté à définir les cas

Une fois fixés l'objet et l'objectif de la surveillance, il convient de définir les cas qui seront comptabilisés. Cette étape est tout à fait essentielle pour assurer une standardisation des données qui sont collectées. Cette opération peut s'avérer particulièrement complexe dans le domaine apicole lorsqu'il s'agit de définir les cas de mortalité. Il faut alors d'abord prendre en considération l'unité épidémiologique : mortalité d'abeilles (adultes et/ou formes immatures) ou mortalité de colonies ? Si les deux peuvent apparaître intéressants, ce sont bien des situations différentes qui peuvent être le résultat d'étiologies différentes. De même, dans le cas de mortalité d'abeilles, il convient de définir plus précisément le cas en indiquant par exemple la quantité : quelques abeilles mortes, une tasse, un bol, un bac à glace, et sur quel pas de temps, avec la limite que toutes les abeilles mortes ne sont pas toujours accessibles à l'observation (mortalités à distance de la ruche, cadavres déplacés à distance de la ruche par les ouvrières fossoyeuses, cadavres consommés par des charognards) et en tenant compte du fait qu'il est parfois difficile d'objectiver et de donner une définition standardisée de la notion de mortalité anormale à l'échelle d'une colonie. Dans le cas de mortalité de colonies, il convient de définir ce qu'est une colonie morte : plus d'abeilles du tout ou un nombre insuffisant pour permettre la survie de la colonie, ou une absence de reine, etc. Ces définitions sont essentielles pour standardiser les données collectées entre les intervenants et ne pas mélanger les situations et cette question est au

cœur des dispositifs de surveillance des mortalités massives aiguës (voir l'article de Meziani et al. dans ce numéro) ainsi que de l'Observatoire des mortalités et des affaiblissements de l'Abeille mellifère (Omaa) (voir l'article d'Urrutia et Wendling dans ce numéro).

Des outils de mesure à développer

La colonie d'abeilles est un super-organisme qui ne peut s'investiguer comme d'autres organismes vivants à organisation sociale plus simple: pas de sang avec recherche d'anticorps, ni de rythme cardiaque à ausculter. Si certains cas peuvent être identifiés par une simple observation (l'absence totale d'abeilles dans une ruche ne nécessite pas d'outil de mesure particulier et plusieurs maladies présentent des signes cliniques parfois pathognomoniques), certains peuvent l'être difficilement par la technicité qu'ils requièrent ou la difficulté à les mettre en œuvre sur un grand nombre de colonies. Un premier exemple peut être donné pour la détection du petit coléoptère des ruches dont l'adulte peut être mis en évidence par

Encadré. La ruche connectée comme outil de surveillance

La ruche instrumentée de capteurs deviendra prochainement un outil de surveillance des colonies d'abeilles domestiques (Meikle et Holst, 2015). Par exemple, le capteur de poids de la ruche fait partie aujourd'hui de l'arsenal technique de l'apiculteur pour le renseigner sur la période de miellée ou son intensité, mais il pourrait demain être un moyen pour détecter les affaiblissements de colonies. Il en va de même pour la sonde de température au sein de l'essaim. D'autres capteurs, tels les enregistreurs de vibration, de pression des gaz, ou d'entrées et de sorties des abeilles sont employés aujourd'hui en recherche, et pourraient l'être à l'avenir pour révéler des événements de santé chez les colonies (perte d'abeilles, essaimage, déficit en couvain...). Les enregistreurs d'entrées/sorties permettent ainsi de savoir à chaque instant si les abeilles marquées (par code-barres ou puces RFID) se trouvent à l'intérieur ou à l'extérieur de la ruche (Decourtye et al., 2011). Cette méthode a notamment permis de mesurer le taux de butineuses disparues après une exposition à un insecticide (Henry et al. 2012).

l'examen interne de la ruche. Il faut cependant que l'observateur soit expérimenté, car les coléoptères vont rapidement se cacher et peuvent passer inaperçus si l'on n'est pas vigilant. Des pièges sont ainsi utilisés pour faciliter le dépistage mais leur sensibilité est moins bonne qu'une inspection visuelle approfondie. Des recherches sont donc nécessaires pour faciliter la détection de ce parasite de la colonie, comme celles sur le développement d'une PCR sur des débris collectés sur le plateau des ruches.

Les analyses toxicologiques posent également des questions de développement de méthodes standardisées qui soient utilisables par tous les laboratoires avec des seuils de détection bien établis.

La mesure de l'affaiblissement des colonies est un second exemple. S'il est facile pour un intervenant expérimenté de déterminer qu'une colonie est affaiblie de par sa connaissance empirique de la normalité et de l'anormalité, il est plus difficile de quantifier cet affaiblissement de manière standardisée, comme il conviendrait de le faire dans un programme de surveillance ou une étude épidémiologique. C'est pour cela que l'Inra d'Avignon, l'association pour le développement de l'apiculture provençale (Adapi) et l'Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation (Itsap) ont développé une méthode standardisée d'évaluation de la structure d'une colonie d'abeilles dénommée ColEval (Colony Evaluation) (Maisonasse et al. 2016). Cette méthode est fondée sur une évaluation des surfaces de couvain, d'abeilles et des réserves de miel et de pollen sur chaque face de cadres de la ruche. Il est ainsi possible grâce à cette méthode d'évaluer la taille de la population d'abeilles afin d'identifier d'éventuels affaiblissements. De nombreuses équipes travaillent ainsi sur le développement d'outils de mesure spécifiques allant de systèmes de pesée automatique des ruches, au comptage des abeilles entrantes et sortantes de la ruche (Encadré).

Des acteurs à former et à organiser

La surveillance nécessite l'intervention successive de plusieurs catégories d'acteurs de manière à assurer la collecte, la transmission puis l'analyse et l'interprétation des données sanitaires. Ce processus est schématisé dans la figure 1. La réussite de l'ensemble de ce

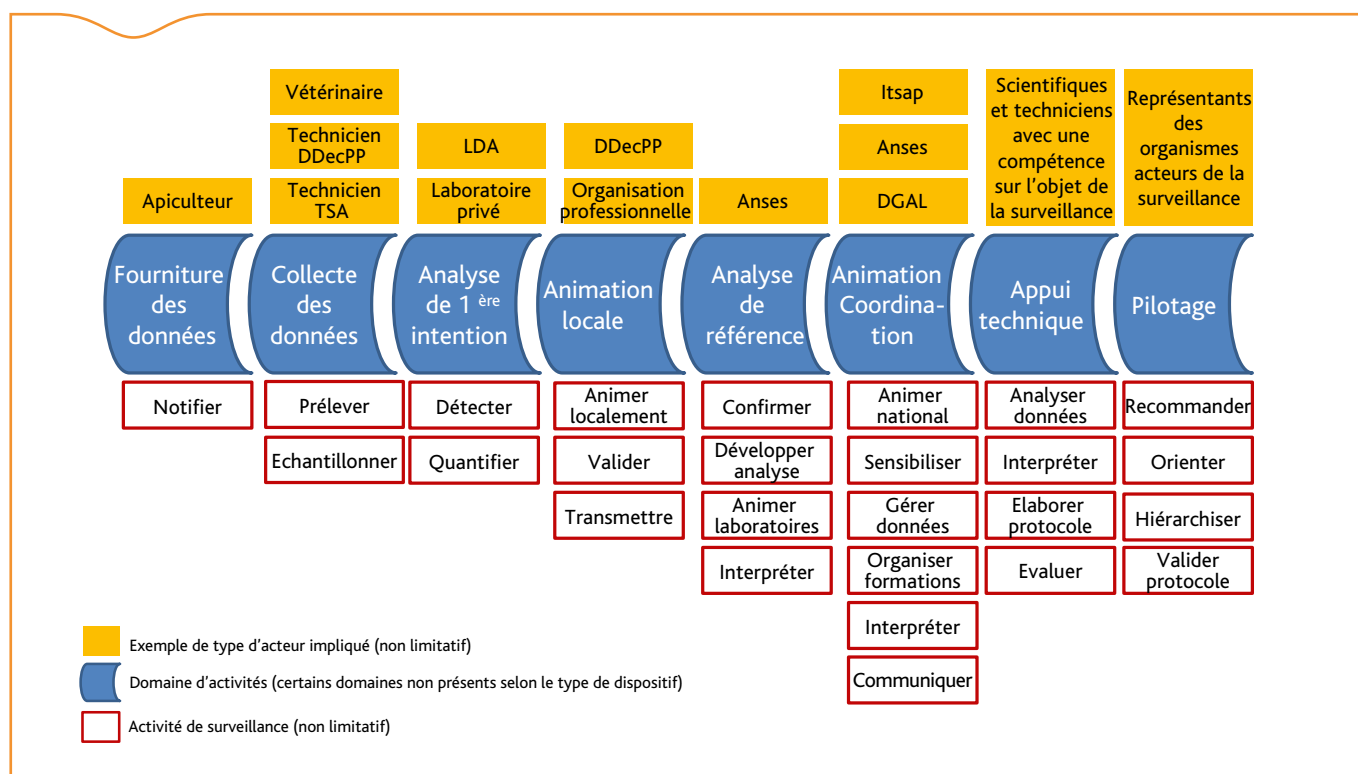


Figure 1. Schématisation du processus de la surveillance illustré dans le domaine apicole. (TSA: technicien sanitaire apicole; DDecPP: direction départementale en charge de la protection des populations; DGAL: direction générale de l'Alimentation; Itsap: Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation); LDA: laboratoire départemental d'analyse

processus repose sur la pertinence de l'organisation générale du dispositif et sur la qualité de l'animation qui est maintenue dans le temps. Par ailleurs, la sensibilisation et la compétence des acteurs sont des points clés pour assurer la qualité de l'information produite. Le manque général d'encadrement sanitaire organisé de la filière apicole évoqué dans l'introduction se traduit par un déficit longtemps constaté de formation des acteurs chargés de collecter, transmettre et analyser les données de surveillance. Les compétences en matière de santé de l'abeille ne font en effet pas partie des cursus de formation initiale des catégories professionnelles susceptibles d'intervenir (techniciens, vétérinaires, agronomes) et des formations spécifiques doivent donc être dispensées pour leur permettre d'intervenir efficacement dans la filière. Ces formations se développent aujourd'hui et permettent ainsi de disposer d'intervenants formés et de se doter d'une organisation sanitaire assurant le lien entre ces acteurs (comme c'est le cas entre techniciens sanitaires apicoles (TSA) et vétérinaires par exemple). L'amélioration de la compétence concerne également les analyses de laboratoire pour lesquelles il est marquant de constater qu'il n'existe un laboratoire européen de référence pour la santé de l'abeille que depuis 2011 (voir article de Franco et al. dans ce numéro).

C'est la compétence des acteurs qui garantira la qualité des interventions dans les ruchers et qui par là-même permettra une amélioration de l'acceptabilité par les apiculteurs de l'encadrement sanitaire et donc la collecte de données précoces et de bonne qualité.

Expliquer les problèmes de santé : le défi de la multifactorialité

Si la surveillance ne peut que dégager des hypothèses de travail quant à l'étiologie des phénomènes suivis, il convient de mettre en place des études d'épidémiologie analytique pour tenter d'identifier les causes des problèmes de santé touchant les abeilles. La mise en place de ces études explicatives doit répondre à des critères méthodologiques qui se heurtent à des contraintes spécifiques de l'épidémiologie apicole.

Une première contrainte est de pouvoir identifier les facteurs d'intérêt à l'origine de problèmes de santé chez l'abeille. La liste théorique de ces facteurs est longue comme a pu le montrer le groupe de travail Healthy B de l'Autorité européenne de sécurité alimentaire (EFSA, 2016b). Certains de ces facteurs sont faciles à identifier et ne posent pas de problème de causalité, car ils ont un rôle pathogène majeur. C'est le cas par exemple de la loque américaine (*Paenibacillus larvae*), facile à diagnostiquer, tant cliniquement qu'au laboratoire, et dont la responsabilité dans la perte de colonies n'est pas discutable. Ce n'est cependant pas le cas d'un grand nombre d'autres facteurs de santé qui peuvent parfois agir seuls. Le meilleur exemple est probablement *V. destructor* qui, en cas d'infestation importante, aura un impact certain sur la survie de la colonie, mais qui est aussi une porte d'entrée pour d'autres facteurs, comme le virus des ailes déformées (DWV) qu'il transmet. Il peut également favoriser l'effet d'autres virus ou de produits chimiques par l'affaiblissement des abeilles qu'il occasionne. Ainsi, la seule présence d'un certain nombre de virus, bactéries, champignons, parasites, prédateurs, ravageurs ou contaminants chimiques ne saurait souvent expliquer à elle seule l'apparition de problèmes de santé. C'est alors l'association de plusieurs de ces facteurs, en tenant compte de critères quantitatifs (charges virales, concentration d'agents chimiques) qui peuvent expliquer les phénomènes constatés. C'est ce qui est dénommé depuis plusieurs années sous les termes de causes multifactorielles ou de phénomène de co-exposition (Anses, 2015).

Les études d'épidémiologie analytique qui ont pour objectif de mettre en évidence l'impact des phénomènes de co-exposition doivent donc établir dans un premier temps la liste des facteurs qui seront pris en compte pour définir les protocoles de l'étude. C'est là que ces études vont se heurter à plusieurs problèmes : quels facteurs est-il pertinent de prendre en compte, comment mesurer correctement leur présence et leur niveau, et quelle taille d'échantillon faut-il choisir ?

Ces trois questions sont liées et représentent une contrainte majeure des études épidémiologiques conduites dans le domaine apicole. En effet, plus le nombre de facteurs potentiels ou de combinaisons de facteurs à inclure dans une étude épidémiologique est élevé, plus grande est la taille de l'échantillon à étudier. Tester l'effet d'un facteur ou d'une association de facteurs nécessite de pouvoir comparer des populations exposées et non exposées ce qui augmente potentiellement la taille des populations à prendre en compte. De plus, si on cherche à mesurer une faible différence d'impact, ce qui est souvent le cas dans le domaine apicole où l'on suspecte de faibles effets sur le long terme entraînant *in fine* la mort de la colonie, il faudra des tailles de populations exposées et non exposées encore plus importantes pour obtenir une puissance statistique suffisante et être capable de mettre en évidence une différence statistiquement significative. Si les tailles d'échantillon ne sont pas suffisantes on ne pourra que conclure qu'il n'y a pas de différence statistique, sans être certain que les facteurs étudiés n'ont pas en réalité un effet.

Réduire le nombre de classes de facteurs à étudier pourrait apparaître une bonne solution mais se pose alors la question du choix des facteurs à privilégier. En imaginant n'étudier que l'impact des contaminants chimiques on se heurte également à un problème de choix pour savoir lesquels sont réellement importants : est-il pertinent de rechercher les 400 molécules qu'il est possible aujourd'hui de détecter dans une analyse multi-résidus ?, ou encore, que tirer des résultats des analyses de recherche des 76 molécules incluses dans l'étude « Ecotox » conduite en 2013 en France si les tailles d'échantillon sont insuffisantes par rapport de nombreuses contaminations multiples mises en évidence ? (voir l'article de Meziani et al. dans ce numéro).

Si cette contrainte de la taille des échantillons est importante pour les études rétrospectives (on regarde à un moment donné la présence des facteurs dans la population et les effets qu'ils ont déjà pu avoir sur cette population), elle est encore plus cruciale pour les études analytiques prospectives. Ces études sont en effet fondées sur le suivi d'une cohorte d'individus dans le temps pour en mesurer l'exposition et les effets sur leur santé, ce qui donne plus d'assurance sur le lien entre l'exposition et les effets sur la santé que les études rétrospectives. S'il est possible de maîtriser *a priori* l'exposition à certains facteurs (pratiques apicoles par exemple), de nombreux facteurs ne peuvent être maîtrisés dans les études de terrain (exposition aux contaminants chimiques) de même qu'est imprévisible l'effet de ces facteurs sur la santé (puisque c'est ce que nous cherchons à savoir). La taille de ces cohortes devra donc être très importante, pour pouvoir mettre en évidence un lien entre une exposition et un effet sur la santé.

Le problème de la mesure des facteurs va enfin se poser avec autant d'acuité que pour la surveillance avec la nécessité de définir précisément les cas, que ce soit pour l'effet sur la santé ou pour l'exposition. La complexité des études sera également liée à la mesure de l'intensité de l'exposition. S'il est admis que la dose létale médiane (DL50) n'est pas un critère suffisant pour juger de l'impact d'un contaminant chimique, il faudra considérer plusieurs niveaux d'exposition en fonction des concentrations ou limites de détection des techniques de laboratoire. Combinée à l'étude des différentes associations possibles, on comprendra les difficultés auxquelles se confrontent les études d'épidémiologie analytique sur le terrain.

Au-delà des questions de définition des cas et de la performance des outils de mesure, ces études nécessitent également des investissements importants en ressources humaines qualifiées et une coopération étroite avec les apiculteurs. Les visites régulières des ruchers avec l'inspection détaillée des colonies et la réalisation de mesures et de prélèvements sont très contraignantes pour les apiculteurs et pas toujours sans risque pour la santé des colonies (risque d'endommager la reine, prélèvement d'abeilles ou de morceaux de cadres).

Les modèles prévisionnels

Face aux difficultés à mettre en place les études épidémiologiques ou expérimentations de terrain, il est assez séduisant d'imaginer développer des modèles mathématiques qui permettraient de simuler la dynamique de population d'une colonie, en intégrant l'influence que pourraient avoir un certain nombre de facteurs de santé et ainsi tester l'association de ces facteurs ou l'intensité de l'exposition. Des modèles ont ainsi été développés, tel que le modèle Beehave simulant la dynamique de population d'abeilles à l'échelle de la colonie (Anonyme, 2017; Becher, 2014). Des initiatives sont en cours à l'échelon européen, dans le cadre du projet MUST-B de l'EFSA, pour développer un modèle qui permettrait de pouvoir tester l'influence de contaminants chimiques et ainsi représenter une aide à l'évaluation des risques des produits phytopharmaceutiques (EFSA, 2016).

Si les connaissances dans le domaine de la biologie de l'abeille permettent effectivement de commencer à proposer des modèles intéressants, ces développements se heurtent encore à la détermination des données numériques pour le paramétrage des modèles. Il faut alors pour cela mettre en place des études de terrain pour estimer les paramètres à intégrer dans les modèles. Pour capter la diversité des situations, que ce soit du point de vue environnemental, des pratiques apicoles ou de la présence d'autres facteurs de santé, ces études sont soumises à des contraintes analogues à celles des études épidémiologiques mentionnées précédemment. Il reste donc encore de nombreux efforts à fournir avant de disposer de modèles réellement robustes et utilisables pour simuler l'influence des différents facteurs de santé des colonies. Il convient en outre de souligner que cette approche *in silico* via l'utilisation de modèles prévisionnels permettra d'identifier des facteurs de risque ou combinaisons de facteurs susceptibles de fortement altérer la dynamique des colonies mais que des études épidémiologiques *in vivo* seront néanmoins nécessaires pour confirmer les résultats obtenus (Henry et al. 2017).

Conclusion

Si l'exposé des spécificités de l'application de l'épidémiologie au domaine de l'apiculture s'apparente à un long énoncé des difficultés rencontrées pour conduire la surveillance ou des études d'épidémiologie analytique, l'objectif n'est pas de décourager sur la possibilité d'obtenir des réponses mais bien d'avoir conscience des raisons qui expliquent pourquoi un grand nombre de questions sur les déterminants de la dégradation de la santé des abeilles n'ont pas encore trouvé de réponses.

Face à ces difficultés à collecter des données et à la nécessité de s'appuyer sur de grands jeux de données pour obtenir une puissance statistique suffisante, des initiatives voient le jour pour pousser l'ensemble des acteurs de la santé de l'abeille à travailler

sur des référentiels communs permettant un certain niveau de standardisation et donc de mutualisation des données collectées pour, *a minima*, être en mesure de calculer des index de situation sanitaire (*Health Status Index*) permettant de comparer la santé des abeilles à différentes échelles géographiques ou temporelles. C'est le projet ambitieux que porte l'EFSA à l'échelle européenne (EFSA, 2016c), qui prendra certainement du temps à se concrétiser mais qui représente sans doute un idéal vers lequel l'ensemble des équipes concernées, qu'elles proviennent d'organismes scientifiques, d'administrations vétérinaires ou d'organisations professionnelles pourraient avantageusement tendre.

Références bibliographiques

- Anonyme (2017) BEEHAVE. <http://beehave-model.net/> accédé le 26 octobre 2017.
- Anses (2015) Co-exposition des abeilles aux facteurs de stress. Avis de l'Anses. Saisine n° 2012-SA-0176. Rapport d'expertise collective. Juillet 2015. 268 p.
- Becher, M.A., Grimm, V., Thorbek, P., Horn, J., Kennedy, P.J. & Osborne, J.L. (2014). BEEHAVE: a systems model of honeybee colony dynamics and foraging to explore multifactorial causes of colony failure. *J Appl Ecol*, 51, 470-482.
- Decourtye A., Devillers J., Aupinel P., Brun F., Bagnis C., Fourrier J., Gauthier M., (2011). Honeybee tracking with microchips: a new methodology to measure the effects of pesticides. *Ecotoxicology*, 20:429-437, DOI: 10.1007/s10646-011-0594-4.
- EFSA (2016) A mechanistic model to assess risks to honeybee colonies from exposure to pesticides under different scenarios of combined stressors and factors. Technical report. 28 juillet 2016. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2016.EN-1069/epdf> (accédé le 27/10/2017). 116 p.
- EFSA (2016b) Assessing the health status of managed honeybee colonies (HEALTHY-B): a toolbox to facilitate harmonised data collection. Scientific opinion. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). *EFSA Journal*. doi: 10.2903/j.efsa.2016.4578. 241 p.
- EFSA (2016c) Workshop "The health status of a managed honeybee colony". Event Report. 29 juin 2016. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2016.EN-1055/epdf> (accédé 27/10/2017). 14p.
- Henry M., Becher M., Osborne J., Kennedy P., Aupinel P., Bretagnolle V., Brun F., Grimm V., Horn J., Requier F. (2017) Predictive systems models can help elucidate bee declines driven by multiple combined stressors. *Apidologie*, 48:328-329, DOI: 10.1007/s13592-016-0476-0.
- Henry M., Beguin M., Requier F., Rollin O., Odoux J.-F., Aupinel P., Aptel J., Tchamitchian S., Decourtye A. (2012). A Common Pesticide Decreases Foraging Success and Survival in Honey Bees. *Science*, 336:348-350, DOI: 10.1126/science.1215039.
- Maisonnasse, A., Hernandez, J., Le Quintrec, C., Cousin, M., Beri, C., Kretzschmar, A. (2016). Evaluation de la structure des colonies d'abeilles, création et utilisation de la méthode ColEval (Colony Evaluation). *Innovations Agronomiques* 53: 27-37.
- Meikle W.G., Holst N., (2015). Application of continuous monitoring of honeybee colonies. *Apidologie*, 46:10-22, DOI: 10.1007/s13592-014-0298-x.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

La surveillance officielle des mortalités massives aiguës et des dangers sanitaires de première catégorie des abeilles Bilan 2015 et 2016 et perspectives d'évolution

Fayçal Meziani (1), Brigitte Barthelet (2), Eric Oudard (3), Luc Lecieux (4), Yoan Le Louarne (5), Muriel Orłowsky (6), Christophe Roy (7), Anne Bronner (8)

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

(1) Direction générale de l'Alimentation, Service des actions sanitaires en production primaire, Paris, France

(2) Direction régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt, Service régional de l'Alimentation Auvergne-Rhône-Alpes, Lyon, France

(3) Direction régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt, Service régional de l'Alimentation Provence Alpes Côtes d'Azur, Marseille, France

(4) Direction régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt, Service régional de l'Alimentation Nouvelle Aquitaine, Bordeaux, France

(5) Direction régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt, Service régional de l'Alimentation Normandie, Caen, France

(6) Direction départementale de la protection des populations de la Drôme, Valence, France

(7) Société nationale des groupements techniques vétérinaires, Paris, France

(8) Direction générale de l'Alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France

Résumé

Cet article résume les principales étapes et modalités de la surveillance des mortalités massives aiguës et dangers sanitaires de première catégorie chez l'Abeille mellifère et présente les résultats agrégés pour 2015 et 2016.

En 2016, le dispositif a recensé 147 déclarations provenant de 50 départements, et 195 provenant de 52 départements en 2015. Les DDecPP sont intervenues dans plus de quatre cas déclarés sur cinq en 2015 et 2016, tandis que les Sral ont été mobilisés dans près de la moitié des dossiers en 2016 et un quart en 2015.

Au total pour ces deux années, onze cas d'intoxications aiguës avérées ont été mis en évidence. Des cas d'intoxications probables, des substances ainsi que des usages interdits ont également été identifiés suite aux enquêtes menées.

Des agents pathogènes ont été identifiés à l'origine des mortalités signalées dans un peu moins de la moitié des enquêtes. Le virus de la paralysie chronique (CBPV) représentait deux tiers des cas attribuables à une problématique sanitaire en 2016 tandis que *Varroa* représentait près de 60 % en 2015. D'autres agents pathogènes ou facteurs de stress ont également été identifiés à la faveur de ces enquêtes.

Mots-clés

Abeilles, surveillance, mortalité, intoxication, pathogène, phytosanitaire

Abstract

Official surveillance of acute massive mortalities and Category 1 health hazard in honey bees : 2015/2016 review and perspectives

This article summarizes the main steps and surveillance modalities of acute massive mortalities and Category 1 health hazard in honey bees and presents aggregated results for 2015 and 2016.

In 2016, the system counted 147 declarations from 50 departments, and 195 from 52 departments in 2015. The DDecPPs were involved in more than four out of five reported cases in 2015 and 2016, while the Sral were mobilized in around half of the cases in 2016 and a quarter in 2015.

For these two years, eleven cases of acute intoxications have been identified. Probable intoxication cases, substances as well as prohibited uses have also been identified following investigations.

*Pathogens have been identified at the origin of reported mortalities in just under half of the surveys. Chronic paralysis virus (CBPV) accounted for two-thirds of the cases attributable to a health problem in 2016 while *Varroa* accounted for nearly 60% in 2015. Other pathogens or stressors were also identified thanks to these conditions. investigations*

Keywords

Honey bees, Surveillance, Mortality, Intoxication, Pathogen, Pesticide

Le dispositif officiel de surveillance des troubles des abeilles est en place depuis plusieurs années. Inscrit dans un processus d'évolution régulier, il a fait l'objet d'une rénovation en 2014 pour prendre en compte le retour d'expérience des acteurs de terrain, aussi bien les services déconcentrés de l'État que les apiculteurs via leurs représentations nationales. Les dernières évolutions ont été matérialisées par la publication de la note de service DGAL 2014-899 du 14 novembre 2014 : *Surveillance des mortalités massives aiguës et des maladies classées dangers sanitaires de première catégorie*.

Les nouveaux éléments intégrés dans le dispositif en 2014 sont :

- l'élargissement de la période de surveillance en prenant en compte les mortalités massives qui surviennent pendant l'hiver,
- la prise en compte des pertes de colonies sans tapis d'abeilles,
- la prise en compte, au cours des enquêtes, de l'hypothèse d'une intoxication des abeilles par des substances biocides et des médicaments antiparasitaires utilisés en élevage,
- l'implication plus forte des organisations apicoles et autres acteurs du sanitaire dans la prise en charge des cas qui ne relèvent pas du périmètre de l'État,
- la possibilité de faire appel, le cas échéant, pour la conduite des enquêtes dans les ruchers, à des vétérinaires mandatés ou à des techniciens sanitaires apicoles,
- un pilotage et une coordination des enquêtes par la DGAL en cas de mortalités groupées,
- l'information des apiculteurs (résultats individuels) et de leurs partenaires (résultats agrégés) des résultats des enquêtes réalisées.

Cet article rend compte des actions menées et des résultats obtenus en 2015 et 2016, analyse les points forts et les limites de cette surveillance à travers les données collectées durant ces deux années. Une évaluation exhaustive du fonctionnement de ce dispositif de surveillance a récemment été confiée par la DGAL à l'Anses dans le cadre de la Plateforme ESA (voir article de Hendriks et al. dans ce même numéro).

Objectifs

Tel que défini dans la note de service 2014-899 du 14 novembre 2014, l'objectif du dispositif vise à « *assurer une surveillance précise et la plus exhaustive possible des mortalités massives aiguës et des maladies classées dangers sanitaires de première catégorie des abeilles afin (i) d'identifier et de maîtriser le plus tôt possible l'émergence ou l'extension d'un processus pathologique de type aigu lié à des causes chimiques ou non, (ii) d'assurer la gestion en cas de découverte de dangers sanitaires de première catégorie* ».

Modalités de surveillance et précautions méthodologiques

Ce dispositif repose sur une surveillance exclusivement événementielle, à savoir le signalement par les apiculteurs de toute mortalité massive soudaine. Par ailleurs, le dispositif a été pensé dans une logique de démarche diagnostique dont la conduite devait s'adapter aux situations rencontrées, sans chercher la standardisation ni la reproductibilité ou la représentativité. Les intérêts et limites de cette approche sont discutés dans la dernière partie. Cette spécificité doit être conservée à l'esprit du lecteur dans l'exposé des résultats qui suivent : ceux-ci ne peuvent prétendre être représentatifs ni exhaustifs de l'ensemble des événements sanitaires affectant les ruchers dans la mesure où une part non négligeable de ceux-ci ne sont pas déclarés (pour diverses raisons) et que d'autres n'entrent pas dans le cadre de cette note de service (ex : suivi des affaiblissements et des effets sublétaux, etc.). Ces résultats ne peuvent davantage être analysés comme représentatifs de l'exposition ou des impacts

des produits phytosanitaires, biocides, antiparasitaires et autres causes potentielles de contamination. L'exposition des ruchers aux xénobiotiques a fait l'objet d'une étude nationale spécifique (voir l'article de F Méziani et al. dans ce même numéro).

Enregistrement, tri et orientation des déclarations

Si les signes observés correspondent à la description d'une mortalité massive aiguë ou d'une suspicion d'un danger sanitaire de première catégorie, l'apiculteur doit contacter immédiatement la direction départementale en charge de la protection des populations (DDecPP) du département où se situe le rucher. Les DDecPP réceptionnent et enregistrent les alertes déclarées, jugent de la recevabilité des déclarations selon les critères de la note de service et organisent les premières interventions, soit par l'intermédiaire des agents de l'État, soit en faisant appel aux vétérinaires mandatés ou à des techniciens sanitaires apicoles (TSA).

L'apiculteur peut être interrogé par l'agent en charge de la réception des déclarations afin d'orienter le diagnostic et de confirmer la concordance avec la procédure réglementaire.

La possibilité de déclarer ces événements sanitaires a été étendue à d'autres acteurs : vétérinaires, laboratoires ou organisations sanitaires ou professionnelles apicoles, en accord avec l'apiculteur concerné.

Modalités d'investigation

Une visite sanitaire du rucher doit être programmée au plus vite (dans les 48 h) ; son bon déroulement est conditionné par la présence et la collaboration de l'apiculteur. Cette visite peut être réalisée par un agent de la DDecPP, par un vétérinaire mandaté par cette même structure ou par un technicien sanitaire apicole. Elle a pour but de faire un état des lieux du rucher, de confirmer la mortalité massive aiguë et d'écartier toute suspicion de maladie qui serait liée à un danger sanitaire de première catégorie, pouvant être à l'origine des troubles observés.

L'agent procède au recueil des informations nécessaires concernant le rucher avant l'apparition des troubles : parcours de production, parcours technique, nourrissements, traitements... Il procède au relevé des différentes constatations qu'il peut étoffer avec des photos et/ou des films ainsi qu'à la géolocalisation du rucher.

Des prélèvements sont réalisés sur les abeilles mortes, les abeilles présentant des signes cliniques et les produits de la ruche. Ces prélèvements doivent être réalisés en qualité et en quantité suffisantes, et mis dans de bonnes conditions de conservation au plus tôt car certaines molécules chimiques se dégradent très rapidement. C'est pourquoi, en cas de réalisation des prélèvements trop tardive par rapport à la date de début des signes cliniques, aucune enquête ne peut être déclenchée. Les investigations sont basées sur une démarche diagnostique qui consiste à explorer les pistes les plus plausibles selon les signes présentés et le profil du cas. De ce fait, les analyses pathologiques ou toxicologiques ainsi que les enquêtes phytosanitaires ne sont pas réalisées de façon systématique mais selon le tableau clinique présenté par chaque cas.

À noter que les analyses toxicologiques sont réalisées selon une méthode dite « multi-résidus ». Celle-ci regroupe plusieurs dizaines de substances chimiques différentes, non seulement à usage phytosanitaire mais également à usage apicole, vétérinaire et biocides. Des méthodes dites spécifiques ciblées sur un nombre limité de substances peuvent également être mises en œuvre en cas de forte suspicion.

Dans la mesure du possible, les apiculteurs possédant des ruches dans le voisinage sont également interrogés. Si des troubles similaires sont observés, la visite sanitaire sera étendue à ces ruchers. En cas

de mortalités groupées dans le temps ou dans l'espace, la DGAL est informée. Le pilotage de l'épisode est alors directement assuré par la DGAL en lien avec les services déconcentrés (Sral, DDecPP).

L'action des DDecPP vise la détection des quatre maladies classées dangers sanitaires de première catégorie. En cas de suspicion de cause toxique, quelle que soit la saison, les enquêtes sont menées conjointement entre la DDecPP et le Sral dans le but de réaliser une enquête agricole et environnementale dans un rayon de 3 km autour du rucher afin de déterminer l'éventuelle origine toxique.

La première étape de cette enquête agricole et environnementale est d'identifier l'aire de butinage, la flore attractive du moment, qu'elle soit sauvage ou cultivée. Cette exploration de terrain est précédée (dans la mesure de la disponibilité des outils informatiques) d'une première approche cartographique (registre parcellaire graphique (RPG) de l'année en cours s'il est disponible). Cette consultation cartographique permet de localiser les principales cultures dans l'environnement du rucher. Ces informations sont ensuite croisées avec les données sanitaires des cultures, ce qui donne une indication sur les traitements phytosanitaires qui peuvent être mis en œuvre.

En plus de l'exploration de la flore attractive pour les abeilles, cette enquête sert également à relever la présence d'élevages, ou autres sites pouvant présenter des risques toxicologiques (décharge, usine...). Des prélèvements de végétaux peuvent être effectués si l'agent en charge de l'enquête identifie ceux-ci comme une source potentielle d'intoxication. L'échantillon est alors identifié, stocké dans une glacière avant d'être congelé au laboratoire. Les exploitants agricoles rencontrés sont interrogés sur leurs pratiques phytosanitaires.

La suite de l'enquête dépend entièrement des résultats des analyses toxicologiques. S'ils sont négatifs, le Sral ne dispose d'aucun élément pour continuer son travail et, à moins qu'un problème sanitaire n'ait été identifié par la DDecPP, le dossier est clos. Si les résultats d'analyses sont positifs, avec détection de résidus, un autre travail d'investigation commence pour le Sral qui va chercher à identifier l'origine des substances actives, leur(s) utilisateur(s), leurs conditions d'emploi ainsi que leur toxicité.

Le bon fonctionnement de ce dispositif repose sur la réactivité et la bonne interaction entre ses acteurs : apiculteurs, organisations apicoles, vétérinaires, techniciens sanitaires apicoles, laboratoire, DDecPP et Sral.

L'animation et l'appui au réseau d'enquêteurs sont assurés par le référent national en apiculture.

Résultats de la surveillance en 2015 et 2016

Les déclarations se font à l'échelle du rucher. En 2016, le réseau a recensé 147 déclarations provenant de 50 départements, et 195 provenant de 52 départements en 2015. À titre de comparaison, 115 déclarations de mortalité avaient été enregistrées dans 42 départements en 2014 et 98 alertes dans 35 départements en 2013. La [figure 1](#) retrace l'évolution depuis 2010 du nombre de déclarations et du nombre de départements ayant enregistré au moins une déclaration de mortalité. Au total, 5 005 colonies ont été déclarées touchées par des mortalités en 2015 et 3 024 colonies en 2016.

La répartition géographique du nombre de ruchers déclarés affectés varie selon les années ([Figure 2](#)).

Les DDecPP sont intervenues dans plus de quatre cas déclarés sur cinq en 2015 et 2016 (N=128 en 2016, 161 en 2015), tandis que les Sral ont été mobilisés dans près de la moitié des dossiers en 2016 et un quart en 2015 ([Figure 3](#)). Les cas de déclarations tardives (12 cas en 2016 et 25 en 2015) n'ont pas fait l'objet d'investigations approfondies, notamment vis-à-vis du risque toxicologique.

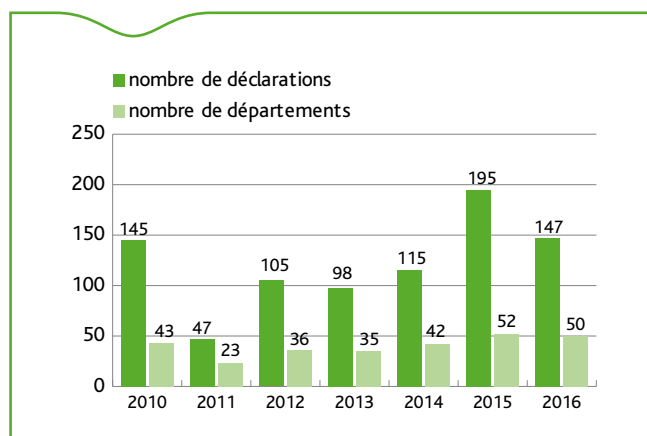


Figure 1. Nombre de ruchers ayant fait l'objet d'une déclaration de mortalité et nombre de départements concernés depuis 2010

Tableau 1. Liste des substances incriminées dans des intoxications aiguës avérées en 2015 et 2016

Substances incriminées	Usage	Statut
2,4 D	H	
Allethrin	I	Interdit
Azoxystrobine	F	
Bifenthrine D,NQ	I	Interdit
Carbendazime	F	Interdit
Chlorantranilprole	I	
Clothianidine	I	
Cyfluthrine	I	
Cyprodinyl	F	
Difenoconazole	F	
Emamectine benzoate	I	
Fenhexamide	F	
Flonicamid	I	
Fludioxonil	F	
imidaclopride	I	
Indoxacarbe	I	
Lindane	I	Interdit
Phosmet	I	
Pipéronil butoxid	S	
Pyrimicarbe	I	
Pyrethrin	I	
Pyrimethanil	F	
Spinosad	I	
Tau-fluvalinate	I	
Thiaméthoxam	I	
Trifloxystrobine	F	

■ 2015 ■ 2016

H : herbicide ; I : insecticide ; F : fongicide ; S : synergisant

Le nombre d'analyses pathologiques et toxicologiques réalisées en 2015 et 2016, est présenté dans la [figure 4](#).

Résultats des investigations

Les intoxications aiguës

En 2016 comme en 2015, plus de la moitié des analyses toxicologiques réalisées ont montré la présence d'au moins une substance active (n=42/81 en 2016 et 30/55 en 2015).

Au total, 49 substances chimiques différentes ont été trouvées en 2016 contre 38 en 2015. Les proportions de ces substances réparties

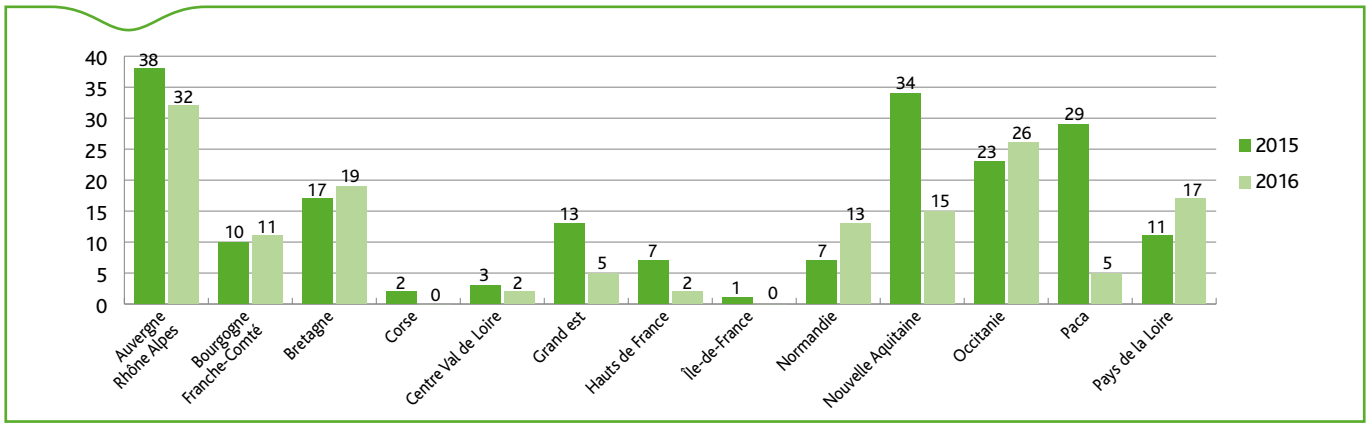


Figure 2. Nombre de ruchers ayant fait l'objet d'une déclaration de mortalité massive aiguë par région en 2015 et 2016

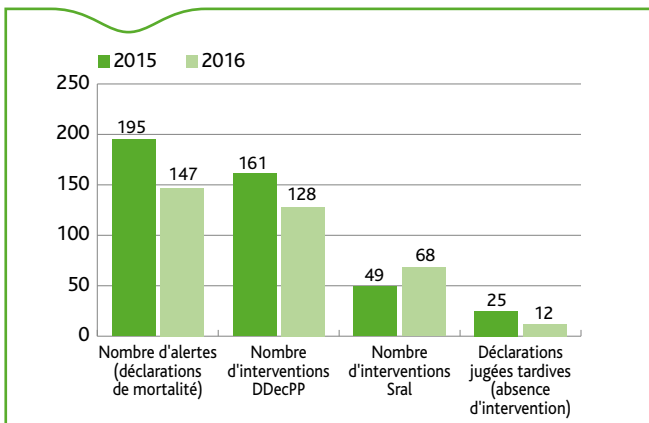


Figure 3. Actions menées par les services départementaux et régionaux de l'État en 2015 et 2016

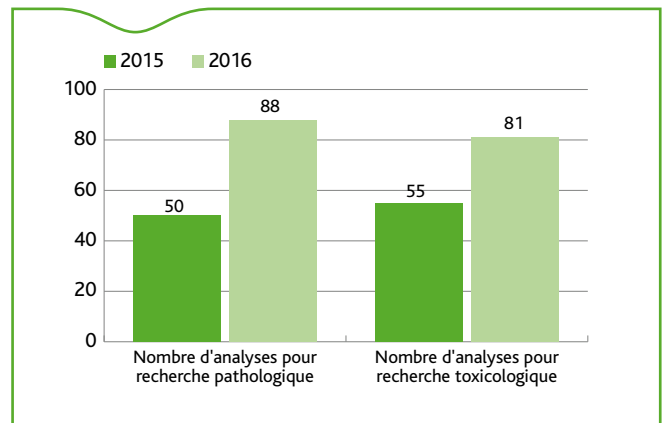


Figure 4. Analyses pathologiques et toxicologiques réalisées par les services de l'État en 2015 et 2016

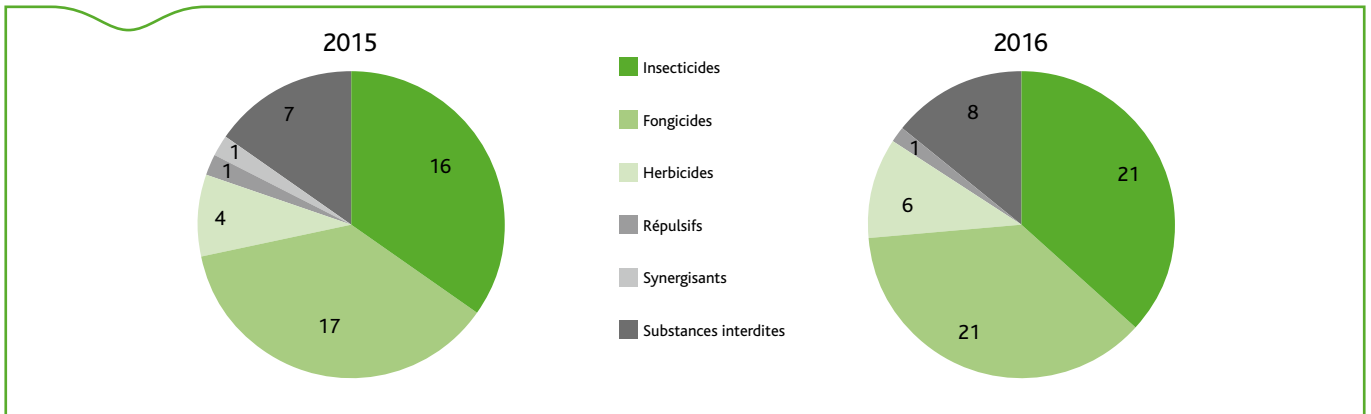


Figure 5. Proportion (et nombre) de familles de substances détectées en 2015 (à gauche) et 2016 (à droite)

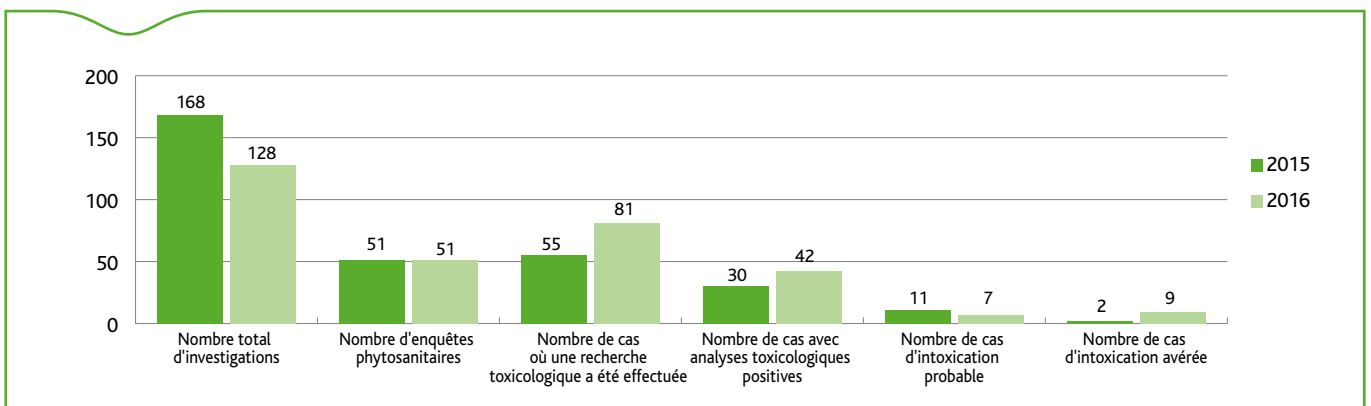


Figure 6. Répartition des cas avérés et probables par rapport nombre d'enquêtes phytosanitaires et d'analyses

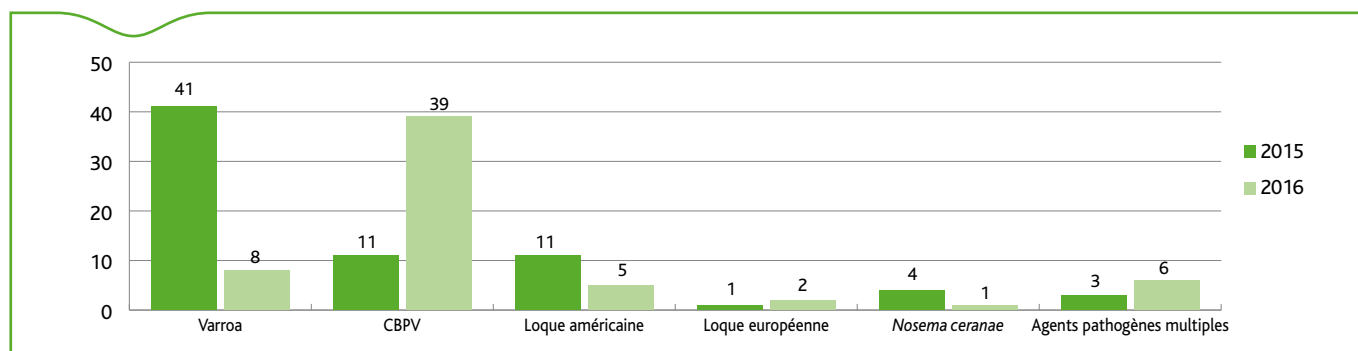


Figure 7. Distribution des cas investigués dans lesquels des agents pathogènes ont été incriminés en 2015-2016

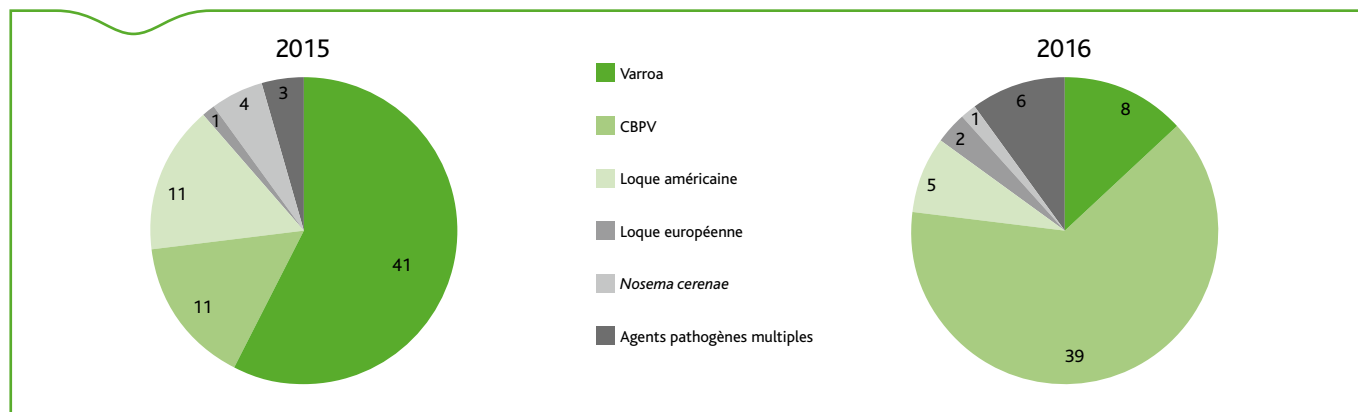


Figure 8. Proportion (et nombre) des agents pathogènes incriminés en 2015 (à gauche) et 2016 (à droite)

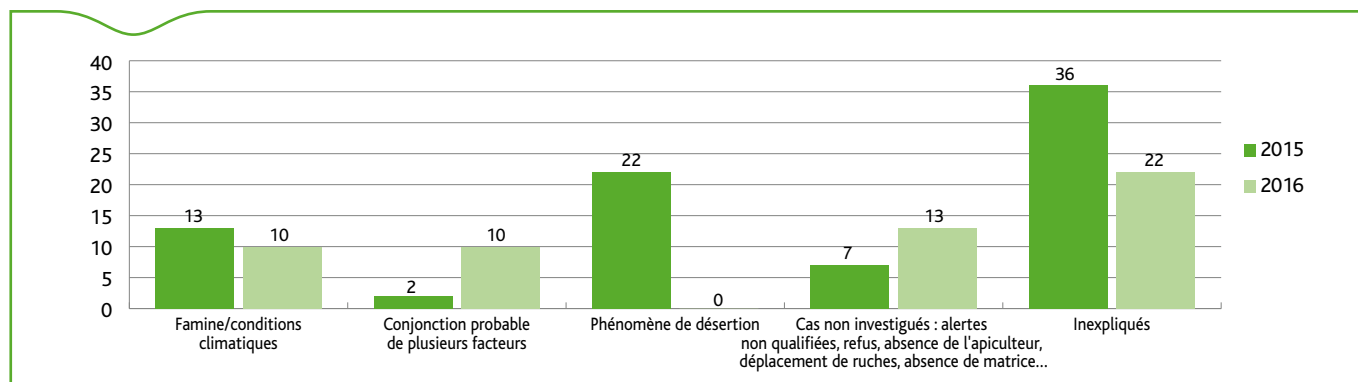


Figure 9. Répartition des autres causes de mortalités massives aiguës identifiées en 2015 et 2016

par grandes familles d'usages sont très proches au cours des deux années (Figure 5). Le nombre de substances détectées par rucher, pour les analyses revenues « positives » (c'est-à-dire avec un résultat supérieur à la limite de détection) varie de un à huit pour 2016 et de un à treize en 2015. Certaines de ces substances ont des usages autres que phytosanitaire, comme les acaricides utilisés dans le cadre de la lutte contre le varroa.

Un nombre équivalent de 51 enquêtes phytosanitaires ont été réalisées en 2015 et en 2016.

En 2015, dans deux des 51 enquêtes réalisées, quatre substances chimiques (Spinosad dans un cas et Pipéronil butoxid, Pyrethrin et Allethrin dans l'autre) ont été identifiées à l'origine d'intoxications aiguës avérées d'abeilles. En 2016, neuf cas d'intoxications aiguës avérées ont été mis en évidence (Figure 6).

Les éléments actuellement pris en compte par les enquêteurs pour considérer une intoxication comme avérée, sont notamment la présence de signes évocateurs d'une intoxication combinés à

l'exposition avérée des colonies à une ou plusieurs substance(s) toxique(s) et des doses quantifiées (comparées notamment lorsque pertinent à la DL 50, dose de substance active entraînant la mort de 50 % d'une population d'abeilles). Les éventuelles interactions entre les substances (synergie ou potentialisation) sont également prises en compte si elles sont bien documentées.

Les substances incriminées dans ces intoxications sur les deux années figurent dans le [tableau 1](#).

Par ailleurs, les critères actuellement utilisés par les enquêteurs pour classer une mortalité en intoxication probable sont la présence de signes évocateurs d'une intoxication avec présence d'une ou plusieurs substance(s) chimique(s) toxique(s) pour les abeilles dans les matrices apicoles analysées et une concordance dans le temps entre cette exposition, doses quantifiées, les signes cliniques constatés, le stade des végétaux environnants (exemple: floraison) et la date d'application avérée de ces substances sur les végétaux. Il s'agit d'un faisceau d'indices qui, sans pouvoir affirmer avec certitude une intoxication aiguë, ne permet pas non plus de l'exclure.

Dans onze cas investigués en 2015 et sept cas en 2016, les analyses effectuées ont également mis en évidence des associations de substances chimiques susceptibles d'être à l'origine d'intoxications probables.

De façon plus globale, les enquêtes menées en 2015 et en 2016 ont permis d'identifier des substances interdites ou des usages interdits pour les substances suivantes: allethrin, anthraquinone, carbendazim, benomyl, bifenthrine, coumaphos, lindane, propargite, thiamethoxam, trichlorfon, amitraz (Taktic ND), tau-fluvalinate (Klartan ND).

Il est à noter qu'à l'instar des années précédentes, les échantillons analysés de pain d'abeilles constituaient la matrice apicole qui concentre le plus grand nombre de substances chimiques (5 substances chimiques différentes dans un échantillon en 2015).

Deux échantillons de cire analysés contenaient des substances connues pour leur toxicité mais là encore, les doses et les circonstances des mortalités ne permettaient pas d'établir un lien direct et formel. Les substances concernées sont le coumaphos, le tau-fluvalinate et la cyperméthrine.

Trois cas de pratiques agricoles à risque ont été mis en évidence en 2016. Celles-ci sont essentiellement liées à un non-respect de la réglementation sur les modalités d'application de ces substances (application de produit sur des vergers en fleurs, traitements réalisés par jour de grand vent ayant entraîné la dérive du produit vers des zones non cultivées fleuries et butinées par les abeilles).

Les agents pathogènes

En 2016, 47,6 % (n=61/128) des enquêtes ont permis de diagnostiquer des agents pathogènes à l'origine des mortalités signalées, et 44 % en 2015 (n=71/161). Néanmoins, le profil des principales pathologies mises en évidence parmi les déclarations de mortalité aiguë est différent d'une année à l'autre, sans toutefois qu'il ne soit possible de conclure à une variation effective ou à une variation liée à une sensibilisation variable des acteurs sur le terrain. Le virus de la paralysie chronique (CBPV) représentait 64 % de ces cas déclarés en 2016 (n=39/61) tandis que *Varroa* représentait 58 % des cas déclarés où un agent pathogène était désigné à l'origine des mortalités en 2015 (n=41/71) (Figure 7). Il a été constaté dans la quasi-totalité des cas où *Varroa* était mis en avant, des pratiques de traitement non conformes avec les recommandations usuelles.

La loque américaine, classée danger sanitaire de première catégorie occupe une place moins importante avec 15 % des cas déclarés pour lesquels un agent pathogène a été diagnostiqué à l'origine de la mortalité en 2015 (n=11/71) et 8 % de ces cas en 2016 (n=5/61) (Figure 8). Enfin, dans 4 % des cas déclarés en 2015 et 10 % en 2016, un cocktail d'agents pathogènes était identifié être à l'origine des mortalités signalées par un effet synergique possible. Il s'agit essentiellement de complexes bactérie-virus, acarien-virus multiples ou champignon-virus (par ex. loque européenne-CBPV, *Nosema ceranae*-CBPV).

La famine et les conditions climatiques

Les cas de famine (associés ou non aux conditions climatiques), représentent 8 % de l'ensemble des cas investigués sur les deux années. Lors de ces investigations, il a été constaté un manque de réserves de miel et de pollen pour permettre à la colonie de survivre et de supporter les périodes de confinement, notamment, celles qui sont imprévues, liées aux conditions climatiques défavorables pendant la saison apicole. Une mauvaise préparation à l'hivernage ou un manque d'anticipation sur la disponibilité des réserves alimentaires a été constatée pour six cas en 2015 et deux cas en 2016.

Les autres cas

Les conclusions retenues pour les autres cas sont réparties dans la figure 9. On y remarque dix cas en 2016 et deux cas en 2015 où une conjonction probable de plusieurs facteurs de stress aurait conduit les colonies concernées au dépérissement (exemple: substances chimiques à très faibles doses associées à de la famine ou à des conditions climatiques défavorables).

Fait marquant en 2015, des phénomènes de désertion ont été observés avec des ruches vidées de la quasi-totalité des abeilles mais présence de réserves de miel et de pollen en quantités. Ces phénomènes qui représentaient 14 % des cas investigués en 2015 (n=22/161), n'ont pas été signalés en 2016. Par ailleurs, 36 cas de mortalité déclarés en 2015 et 22 en 2016 avaient été qualifiés d'inexpliqués pour trois raisons principales:

- les niveaux de résidus des matières actives quantifiées étaient trop faibles pour conclure à une intoxication aiguë des abeilles. De plus aucune mauvaise pratique agricole n'a pu être démontrée,
- impossibilité d'établir une relation de cause à effet directe en l'état actuel des connaissances entre les applications de produits chimiques (phytosanitaires ou autres) dans l'environnement du rucher et le phénomène de mortalité d'abeilles observé,
- portage asymptomatique d'agents pathogènes ou tableau clinique ne reflétant pas l'incident.

Par ailleurs, certains cas qui ne font pas partie des déclarations tardives n'ont pas été investigués par les services de l'État. Il s'agit par exemple d'alertes non qualifiées selon les critères de la note de service, d'une impossibilité à visiter le rucher en raison de l'absence de l'apiculteur, ou encore du déplacement de ruches. Ces cas ont été classés sans suite.

Au cours de l'hiver 2014-2015 des cas de mortalité groupés ont été identifiés dans la Plaine de Crau (Bouches-du-Rhône). Un pilotage national (DGAL) a alors été conduit en lien avec le Sral Paca et la DDecPP des Bouches-du-Rhône. Les résultats des investigations ont été restitués aux apiculteurs concernés et, devant l'absence de cause clairement identifiée, il a été décidé l'intégration de la zone concernée à l'étude Bapesa (Biocides et antiparasitaires utilisés en élevage et santé des abeilles) confiée à l'Itsap. Cette étude est en cours, les résultats sont attendus pour début 2018. Aucun cas de mortalités groupées dans le temps ou dans l'espace n'a été identifié en 2016.

Discussion

Performance de la surveillance

On remarque une augmentation du nombre de déclarations en 2015 et 2016 par rapport aux années antérieures, probablement en raison de l'évolution du périmètre de la surveillance redéfini dans la note de service de 2014. Cependant, le nombre de déclarations reste très vraisemblablement en dessous du nombre réel de cas de mortalités pouvant répondre aux définitions de la note de service. Chaque dispositif de surveillance a ses limites et particularités propres (Lee et al., 2015). Ce manque de sensibilité de cette surveillance est probablement lié à plusieurs facteurs: i) certaines limites du dispositif actuel, telle que son évaluation l'a souligné (voir l'article de Hendriks et al. dans ce numéro), ii) un défaut d'acceptabilité de cette surveillance lié à la frustration des apiculteurs face à l'absence de diagnostic systématique des causes de mortalités, iii) un manque de mobilisation de certains apiculteurs, iv) une mauvaise connaissance des signes cliniques évocateurs des maladies réglementées ou des intoxications potentielles. On constate par ailleurs une forte variabilité régionale des déclarations qui est à mettre en relation vraisemblablement avec: i) une différence dans la mise en œuvre du dispositif de surveillance, tant par l'apiculteur (différence de

sensibilisation selon les régions), les vétérinaires et techniciens apicoles (plus ou moins formés à la pathologie apicole et présents sur le territoire de manière variable), que par les services de l'État (mobilisation en fonction des déclarations et des sollicitations), ii) une différence réelle des niveaux de mortalité aiguë, variable notamment selon les conditions de pratique apicole, l'environnement et les pratiques agricoles. Les données disponibles ne permettent pas de différencier le poids de ces différents facteurs dans les niveaux de déclaration variables entre régions.

Il résulte de ce manque de sensibilité et de cette hétérogénéité de la surveillance dans le temps et dans l'espace que les résultats obtenus ne peuvent pas être considérés comme représentatifs de la situation sanitaire apicole nationale. Ces résultats sont des indicateurs qualitatifs de la survenue d'événements de santé, sans qu'un sens particulier ne soit donné au poids relatif des causes qui ont été mises en évidence. Ainsi, les résultats toxicologiques permettent de décrire certains profils d'intoxications et les résultats en matière de recherche d'agents pathogènes permettent de documenter des profils cliniques rencontrés dans les ruchers. Il n'est pas possible d'extrapoler les proportions estimées parmi les cas déclarés à l'ensemble de la population apicole.

En matière de qualité des déclarations, on constate que le profil des incidents déclarés ne correspond pas toujours à la définition de mortalités massives aiguës telle que décrite dans la note de service 899-2014. Les apiculteurs déclarent des événements de santé au sens le plus large du terme, témoignant ainsi de leur intérêt pour un dispositif de surveillance / diagnostic allant au-delà des mortalités massives aiguës. Ceci renforce la variabilité des étiologies mises en évidence à la suite des investigations conduites.

Par ailleurs, des délais trop longs entre le début des signes et la déclaration de suspicion d'intoxication, limitent les chances d'identifier la cause de la mortalité déclarée (13 % des déclarations en 2015 et 8 % des déclarations en 2016), du fait des difficultés de quantification, voire de détection des molécules supposées être à l'origine de la mortalité des abeilles.

Recherches toxicologiques

L'interprétation des résultats d'analyses toxicologiques est parfois difficile. Un résultat positif (pesticides ou métabolites) ne suffit pas à lui seul pour qualifier une intoxication aiguë. En premier lieu, la concentration en substances retrouvées dans les analyses ne reflète pas toujours la dose et la durée réelles auxquelles les abeilles ont été exposées du fait notamment des délais parfois imprécis entre l'exposition et la collecte des échantillons. De ce fait, de faibles concentrations ne permettent donc pas forcément d'écartier une intoxication aiguë. La forte concentration de substances toxiques, un tableau clinique caractéristique, la mise en évidence de pratiques agricoles suspectes et la présence de la molécule dans les végétaux collectés lors de l'enquête agricole et environnementale sont autant d'éléments permettant la caractérisation d'une intoxication aiguë.

L'interprétation se complique encore si l'on tient compte du fait que certaines substances peuvent avoir des effets sur la santé des abeilles à faible dose lorsqu'elles sont associées à d'autres facteurs de stress (agents pathogènes, climat ou pratiques apicoles) où à d'autres substances également à faible dose (Anses, 2015).

C'est ce qui a été pris en compte en 2015 pour deux cas d'intoxication considérés comme avérés avec la présence de résidus de trois substances : l'alléthrine, le pipéronyl-butoxyde et la pyrethrine. L'alléthrine est un insecticide biocide considéré comme moyennement toxique pour les abeilles. Il n'est pas autorisé sur végétaux. Le pipéronyl-butoxyde (PBO)⁽¹⁾ est un inhibiteur de l'activité enzymatique

(1) Le BPO était autorisé en agriculture biologique pour augmenter l'efficacité des pyrethrines. Il est désormais récemment interdit (fin d'utilisation des stocks septembre 2017) en agriculture biologique. Il est en revanche associé à différents biocides.

de détoxification de la mono-oxygénase à cytochrome-P450 chez l'abeille. Cette molécule augmente jusqu'à 10 000 fois la toxicité d'autres pesticides de la famille des pyrèthroïdes, et jusqu'à 150 fois celle des néonicotinoïdes (Johnson et al., 2006). La pyrethrine⁽²⁾ est un insecticide, extrait naturel de fleurs de pyrèthre de dalmatie considéré comme relativement dangereux pour les abeilles.

Par ailleurs, des associations synergiques de certains pesticides sont documentées, comme la deltaméthrine (insecticide) et le prochloraz (fongicide) (Colin et Belzunces 1992), ou entre le chlorothalonil (fongicide) et le tau-fluvalinate (acaricide) (Zhu et al. 2014), ou entre le coumaphos et le tau-fluvalinate ou encore entre le tau-fluvalinate et l'amitraz, tous les trois des acaricides (Johnson et al. 2009, Johnson et al. 2013). Toutes ces substances ont été retrouvées à plusieurs reprises dans les investigations réalisées en 2015 et 2016, sachant qu'au-delà de cette détection, il convient de comparer les teneurs détectées sur le terrain avec celles mentionnées comme toxiques par la bibliographie pour conclure à un éventuel effet synergique.

Cette réalité invite le gestionnaire du risque à la plus grande vigilance quant au suivi de ces effets dans le cadre du dispositif de phytopharmacovigilance⁽³⁾.

Les agents pathogènes

Plusieurs événements de mortalité constatés en 2015 sont à mettre en relation avec de fortes infestations par varroa en lien notamment avec de mauvaises pratiques de traitement (usage de substance hors AMM avec des dosages et mode d'application non maîtrisés). Il est communément admis qu'une forte infestation par varroa provoque des pertes importantes de colonies (Caron et al., 2005). Par ailleurs, l'apparition d'autres agents pathogènes (autres acariens, bactéries, virus et champignons) peut être favorisée en raison de l'action immunosuppressive de varroa (Gregory et al., 2005; Yang et Cox-Foster, 2005).

En 2016, plusieurs événements de mortalité sont liés au virus de la paralysie chronique (CBPV). La transmission de cette maladie se fait essentiellement par contact, elle est favorisée lors d'épisodes de claustration en saison apicole, par l'augmentation des contacts entre abeilles saines et infectées. Toutes les castes peuvent être infectées, ouvrières, mâles et reines (Blanchard et al., 2007; Chen et al., 2005; Chen et al., 2006; Tentcheva et al. 2004). Les périodes de mauvaises conditions climatiques favorisant le confinement des abeilles pourraient expliquer la forte prévalence de la maladie en 2016.

La famine et les conditions climatiques

Il est de notoriété de considérer les mauvaises conditions climatiques comme un facteur de risque défavorable au développement de l'abeille (périodes de sécheresse et de chaleur alternant avec des périodes où la pluviosité est très importante) (Mesquida, 1976; Faucon et al., 2002; Caron et al., 2005; Haubruge et al. 2006). Cependant, le risque de dépérissement des colonies par manque de ressources suffisantes et disponibles à l'intérieur de la ruche peut être limité par un suivi régulier des colonies et une gestion anticipée de la ressource pour prévenir l'atteinte d'un seuil critique préjudiciable à la survie de ces dernières.

(2) Le BPO était autorisé en agriculture biologique pour augmenter l'efficacité des pyrethrines. Il est désormais récemment interdit (fin d'utilisation des stocks septembre 2017) en agriculture biologique. Il est en revanche associé à différents biocides.

(3) La phyto-pharmacovigilance est un dispositif de surveillance a posteriori instauré par Loi d'avenir pour l'agriculture, l'alimentation et la forêt du 13 octobre 2014 : « En complément de la surveillance biologique du territoire prévue à l'article L. 251-1, l'autorité administrative veille à la mise en place d'un dispositif de surveillance des effets indésirables des produits phytopharmaceutiques sur : - l'homme, les animaux d'élevage, dont l'abeille domestique, les plantes cultivées, la biodiversité, la faune sauvage, l'eau et le sol, la qualité de l'air, les aliments, l'apparition de résistances à ces produits. » Les données issues de la surveillance des mortalités massives aiguës alimentent le dispositif de phyto-pharmacovigilance.

Conclusion

Même si le nombre de déclarations de mortalités massives aiguës a augmenté ces deux dernières années et que plus de 80 % des déclarations sont suivies d'investigations, le dispositif présente des limites. En plus de celles liées à la mise en place du dispositif lui-même et soulignées dans l'article de Hendrikx et al. dans ce même numéro, d'autres sont également liées à la complexité de son objet.

En effet, les facteurs de mortalité peuvent être complexes, tels que :

- les effets de la coexposition et potentialisation entre substances, du type pratiques apicoles à la ruche (insecticides anti-varroa) et des pratiques agricoles au champ (fongicides triazoles dont l'effet sur l'inhibition des capacités de détoxification sont parfaitement identifiées chez les animaux, dont les abeilles),
- les traitements phytosanitaires différents (effet synergique) sur des parcelles voisines de cultures différentes et fréquentées par les abeilles du même rucher,
- l'interaction bactéries, virus, parasites ou autres agents pathogènes des abeilles avec de faibles doses d'insecticides au champ,
- les effets d'un environnement peu ou pas favorables aux abeilles car pauvre en ressources alimentaires lorsqu'il est composé de graminées peu intéressantes, voire de plantes présentant une certaine toxicité pour les abeilles.

Suite à l'évaluation de ce dispositif, la DGAL va initier un groupe de travail national dans le cadre de la Plateforme ESA afin de l'améliorer. En parallèle, l'Observatoire des mortalités massives aiguës (Omaa) dans des régions pilotes doit permettre de prendre en compte les troubles autres que les mortalités massives aiguës (en particulier, les affaiblissements, voir article de Urrutia et al. dans ce même numéro).

Enfin, le constat d'une insuffisance de maîtrise des bonnes pratiques de lutte contre varroa dans certains ruchers invite à des actions de sensibilisation et de formation sur la connaissance et la maîtrise des dangers sanitaires en général et sur l'acarien varroa en particulier. Pour varroa, s'agissant d'un danger sanitaire de 2^e catégorie, il revient aux organisations sanitaires apicoles d'être pilotes de la définition et de la mise en place d'un programme collectif de prévention et contrôle de ce parasite, avec un appui possible de l'État. Des travaux vont être initiés dans ce sens également au niveau national.

Références bibliographiques

Arrêté ministériel du 7 avril 2010 relatif à l'utilisation des mélanges extemporanés de produits visés à l'article L 253-1 du code rural.

Blanchard P, Ribière M, Celle O, Lallemand P, Schurr F, Olivier V, Iscache AL, Faucon JP (2007) Evaluation of a real-time two-step RT-PCR assay for quantitation of Chronic bee paralysis virus (CBPV) genome in experimentally-infected bee tissues and in life stages of a symptomatic colony. *J Virol Met* 141(1), 7-13.

Caron D, Burdick E, Ostiguy N, Frazier M (2005) Mid-Atlantic Apiculture Research and Extension Consortium Survey Preliminaries. Department of Entomology, 501 Ag Sciences & Industries Bldg., Penn State University, PA 16802 and Dept of Entomology, 250 Townsend Hall, University of Delaware, Newark, DE, 7 p.

Colin M, Belzunces L (1992) Evidence of synergy between prochloraz and deltamethrin in *Apis mellifera* L.: a convenient biological approach. *Pesticide Science* 36(2), 115-119

Faucon J.P., Mathieu L., Ribière M., Martel A.-C., Drajnudel P., Zeggane S., Aurieres C. & Aubert M.F.A. (2002). Honey bee winter mortality in France in 1999 and 2000. *Bee World* 83, 14-23.

Gregory P, Evans J, Rinderer T, de Guzman L (2005) Conditional immune-gene suppression of honeybees parasitized by *Varroa* mites. *Journal of Insect Science* 5(1).

Haubrugge E, Nguyen BK, Widart J, Thomé J-P, Fickers P, Depauw E (2006) Le dépérissement de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae): faits et causes probables. *Notes fauniques de Gembloux*(59), 3-21.

Johnson RM, Pollock HS, Berenbaum MR (2009) Synergistic interactions between in-hive miticides in *Apis mellifera*. *J. Econ. Entomol.* 102, 474-479.

Johnson RM, Wen Z, Schuler MA, Berenbaum MR (2006) Mediation of pyrethroid insecticide toxicity to honey bees (Hymenoptera: Apidae) by cytochrome P450 monooxygenases. *J Econ Entomol* 99(4), 1046-50.

Lee K., Steinhauer N., Travis D.A., Meixner M.D., Deen J., VanEngelsdorp D., 2015. Honey bee surveillance: a tool for understanding and improving honey bee health. *Current opinion in insect science*, 10, 37-44.

Tentcheva D, Gauthier L, Zappulla N, Dainat B, Cousserans F, Colin ME, Bergoin M (2004) Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Appl Environ Micro* 70(12), 7185-91.

Mesquida J. (1976). Incidence de la sécheresse sur le développement des abeilles. *B.T.A.* 3, 33-38.

Yang X, Cox-Foster DL (2005) Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proc Natl Acad Sci USA* 102(21), 7470-5.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Évaluation du dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles en France métropolitaine par la méthode Oasis

Pascal Hendrixx (1), Marie-Pierre Chauzat (2), Cédric Sourdeau (3), Anne Bronner (4)

Auteur correspondant: pascal.hendrixx@anses.fr

(1) Anses, Laboratoire de Lyon, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, Lyon, France

(2) Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis, Laboratoire de référence de l'Union européenne pour la santé de l'abeille, Sophia-Antipolis, France

(3) Direction régionale de l'Agriculture et de la Forêt des Pays de la Loire, Service régional de l'Alimentation, Angers, France

(4) Direction générale de l'Alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France

Résumé

La surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles est encadrée par la note de service DGAL/SDQPV/2014-899 du 14 novembre 2014 (DGAL, 2014) qui a pour objet la *Surveillance des mortalités massives aiguës et des maladies, classées dangers sanitaires de première catégorie des abeilles*. Cette note de service est venue modifier et compléter plusieurs notes de service qui encadraient la surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles depuis les années 1980. À la demande de la DGAL, une évaluation de ce dispositif de surveillance a été réalisée à l'aide de la méthode Oasis de mai à juillet 2017 par une équipe mixte associant l'Anses et la DGAL. L'équipe d'évaluation a rencontré 62 acteurs départementaux, régionaux et nationaux de la surveillance et s'est rendue dans quatre régions: Pays de la Loire, Bretagne, Auvergne-Rhône-Alpes et Nouvelle Aquitaine. La notation des critères d'évaluation et l'étude des représentations graphiques des résultats a permis de montrer plusieurs points forts mais aussi une faiblesse globale de la surveillance. Les points d'amélioration prioritaires sont identifiés pour les objectifs de la surveillance, l'organisation institutionnelle à l'échelon central et sur le terrain, la proposition d'un socle de dépistage commun à toutes les déclarations permettant de documenter également les phénomènes de co-exposition et enfin la gestion, l'analyse et l'interprétation des données de surveillance. Des recommandations sont formulées à cet effet.

Mots-clés

Abeille mellifère, surveillance, mortalités aiguës, évaluation, méthode Oasis

Abstract

Evaluation of the surveillance system of acute massive mortalities of honey bees in metropolitan france by the oasis method

the surveillance of acute bee mortalities is governed by the memo DGAL/SDQPV/2014-899 of 14 November 2014 (DGAL, 2014) which aims to monitor acute mass mortalities and diseases, classified as health hazards of class 1. of bees. This memo amended and supplemented several memos that framed the surveillance of acute bee mortalities since the 1980s. At the request of the DGAL, an evaluation of this surveillance system was carried out using the Oasis method from May to July 2017 by a mixed team involving ANSES and DGAL. The team met 62 departmental, regional and national actors and visited four regions: Pays de la Loire, Brittany, Auvergne-Rhône-Alpes and New Aquitaine. The scoring of the evaluation criteria and the study of the graphic representations of the results showed some strong points but also a general weakness of the surveillance. Priority improvement points are identified for surveillance objectives, institutional organization at the central and field level, the proposal for a common testing scheme for all declarations that could also document occurrence of co-exposition phenomenon and finally the management, analysis and interpretation of surveillance data. Recommendations are made for this purpose.

Keywords

Honeybee, Surveillance, Acute mortality, Evaluation, Oasis method

La direction générale de l'Alimentation (DGAL) du ministère en charge de l'Agriculture a sollicité l'Anses en avril 2017 pour la réalisation, dans le cadre des activités de la Plateforme ESA, d'une évaluation technique du dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles en utilisant la méthode Oasis.

La surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles est encadrée par la note de service DGAL/SDQP/2014-899 du 14 novembre 2014 (DGAL, 2014) qui a pour objet la *Surveillance des mortalités massives aiguës et des maladies, classées dangers sanitaires de première catégorie des abeilles* (DS1). Cette note de service est venue modifier et compléter plusieurs notes de service qui encadraient la surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles depuis les années 1980. Cette dernière version avait pour objectif de compléter le dispositif existant en élargissant le périmètre de recrutement des déclarations faites par les apiculteurs ainsi que le champ des investigations à mener.

La DGAL a souhaité la réalisation de cette évaluation, d'une part pour avoir un retour d'expérience sur l'impact des nouvelles mesures introduites par la note de service en 2014, et d'autre part pour répondre à la sollicitation du comité opérationnel de la phyto-pharmacovigilance, instance coordonnée par l'Anses, d'avoir des informations sur la complétude et la représentativité des données collectées par le dispositif. Par ailleurs, les derniers résultats du dispositif de surveillance publiés dans une revue professionnelle à l'automne 2016 (Meziani, 2016; Unaf, 2017) avaient suscité un débat sur l'exhaustivité des données collectées par cette surveillance et sur les modalités de leur interprétation, ce qui a renforcé la nécessité de cette évaluation sur un sujet complexe.

Ainsi, les objectifs de l'évaluation tels que définis par la DGAL étaient : i) de procéder à une analyse approfondie du fonctionnement et de la qualité du dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës chez les abeilles pour, notamment, évaluer la capacité du dispositif à répondre à ses objectifs, et ii) de faciliter l'identification et la formulation de recommandations pour son amélioration. Les pistes d'amélioration proposées devaient intégrer les contraintes techniques, réglementaires et économiques des différents acteurs.

Matériel et méthode

Dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles

Les objectifs de la surveillance sont formalisés dans le résumé de la note de service de la DGAL : *La présente instruction vise à disposer d'un suivi précis et le plus exhaustif possible des mortalités massives aiguës et des maladies classées dangers sanitaires de première catégorie des abeilles afin, d'une part, d'identifier et de maîtriser le plus tôt possible l'émergence ou l'extension d'un processus pathologique de type aigu lié à des causes chimiques ou non, d'autre part, d'assurer la surveillance des dangers sanitaires de première catégorie.*

La modalité de surveillance est exclusivement événementielle. Un événement débute par la déclaration d'un apiculteur, un vétérinaire, un laboratoire, un organisme à vocation sanitaire (OVS), une association départementale apicole (ADA), ou un groupement de défense sanitaire apicole (GDSA) à la direction départementale en charge de la protection des populations (DDecPP) de son département de l'apparition d'un phénomène de mortalité massive aiguë ou de maladies. Par un interrogatoire ciblé, la DDecPP juge de la pertinence de cette déclaration. Si la déclaration est validée, elle procède elle-même à la réalisation d'une visite chez l'apiculteur déclarant ou fait réaliser cette visite par un vétérinaire mandaté en apiculture ou par un technicien sanitaire apicole (anciennement agent sanitaire apicole). Cette visite est l'occasion de vérifier les constatations faites par l'apiculteur, de faire un diagnostic des causes possibles du phénomène observé et de réaliser les prélèvements de matrices

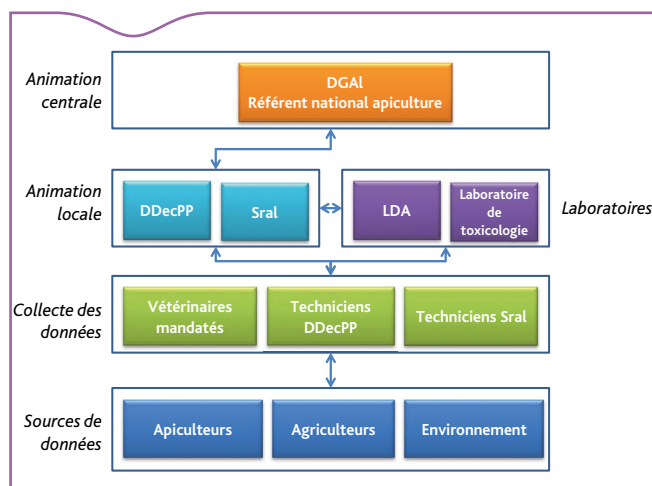


Figure 1. Organisation de la surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles en France

apicoles à même de confirmer ce diagnostic. Les prélèvements pour recherche d'agents pathogènes doivent être envoyés dans l'un des six laboratoires départementaux agréés par la DGAL, les prélèvements pour recherche toxicologique doivent quant à eux être adressés soit au laboratoire du Girpa à Angers, soit au laboratoire Anses de Sophia Antipolis. Parallèlement, si l'hypothèse d'une cause toxique est retenue par la DDecPP, elle alerte le Sral pour que soit réalisée une investigation environnementale et agronomique aux alentours du rucher afin d'identifier les possibilités d'intoxication. C'est à cette occasion que peuvent être réalisés des prélèvements de végétaux au champ, ainsi que des investigations chez les agriculteurs pour objectiver leurs pratiques de traitement des cultures. Une fois les résultats des analyses obtenus, les conclusions sont rendues à l'apiculteur sur les causes de l'événement de mortalité et, le cas échéant, les démarches judiciaires nécessaires sont mises en place (notamment lorsque des responsabilités en matière de mésusage de produits phytopharmaceutiques sont identifiées).

Le fonctionnement du dispositif de surveillance est schématisé dans la figure 1.

Méthode d'évaluation

L'évaluation a été conduite à l'aide de la méthode Oasis (Outil d'analyse des systèmes de surveillance). Cette méthode, développée par un groupe de travail de l'Anses en 2010 est aujourd'hui utilisée comme la méthode de référence pour la réalisation des évaluations de dispositifs de surveillance dans le cadre de la Plateforme ESA.

Elle permet de réaliser une analyse approfondie du fonctionnement et de la qualité d'un dispositif de surveillance épidémiologique. Il convient de garder à l'esprit qu'Oasis est une méthode d'évaluation semi-quantitative, ainsi, les scores attribués aux critères ainsi que les sorties graphiques de la méthode sont à considérer de manière indicative et non comme des estimations quantitatives des compartiments évalués. L'ensemble des documents support d'une évaluation Oasis peut être consulté sur le site Internet de la Plateforme ESA (www.plateforme-esa.fr > Outils et méthodes > Méthode Oasis).

Comme le prévoit la méthode Oasis, l'équipe d'évaluation était constituée de deux personnes externes (Anses), responsables de la coordination et garantes de l'indépendance de l'évaluation, et deux personnes internes au dispositif, (DGAL et Sral Pays de la Loire) chargées d'apporter leur connaissance fine du fonctionnement du dispositif.

L'équipe d'évaluation a mené des entretiens semi-directifs de mai à juillet 2017 avec des acteurs départementaux (DDecPP, GDSA, organisme vétérinaire à vocation technique (OVVT)), régionaux

Figure 2. Résultats de l'analyse par section fonctionnelle d'un dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles en France (la partie sombre du graphique en secteur représente la proportion de critères satisfaits par le dispositif de surveillance et la partie blanche la marge de progression du dispositif)

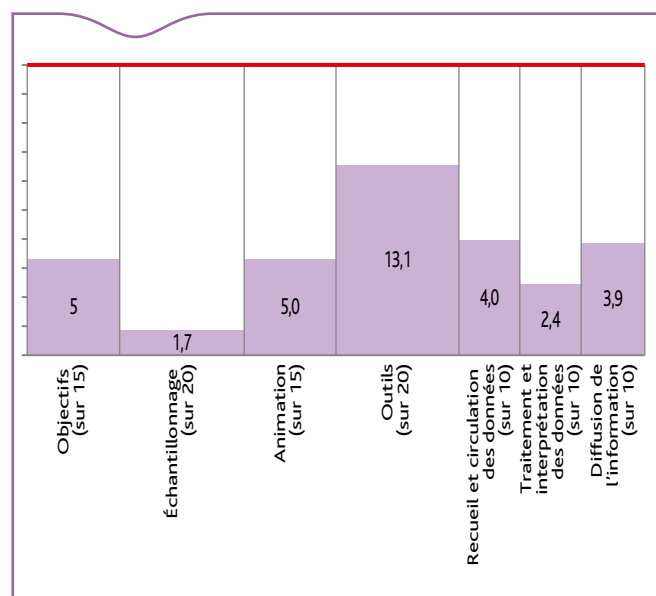


Figure 3. Résultats de l'évaluation selon sept points critiques du dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles en France (la hauteur de chaque barre de l'histogramme représente le niveau de satisfaction de chaque point critique par rapport à un maximum représenté par le trait rouge au sommet. La marge de progrès est donc représentée par la partie blanche au-dessus de chaque barre)

(service régional de l'alimentation (Sral), fédération régionale des groupements de défense sanitaire (FRGDS), ADA) et nationaux (DGAL, Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation (Itsap), Société nationale des groupements techniques vétérinaires (SNGTV), Association française des directeurs et cadres de laboratoires vétérinaires publics d'analyses (Adilva), GDS France, Fédération nationale des organisations sanitaires apicoles départementales (Fnosad), Union nationale de l'apiculture Française (Unaf), Syndicat des producteurs de miel de France (SPMF), Syndicat national de l'apiculture (SNA), Anses, laboratoires agréés), soit en tout 62 personnes interviewées dans le cadre de l'évaluation. Quatre

régions (Pays de la Loire, Bretagne, Auvergne-Rhône-Alpes, Nouvelle Aquitaine) ont été ciblées et visitées par l'équipe d'évaluation pour la diversité de leurs environnements, de l'importance de l'apiculture et des structures professionnelles et étatiques impliquées dans la surveillance.

Une fois les entretiens réalisés, l'équipe a renseigné le questionnaire d'évaluation et réalisé une première notation de la grille d'évaluation. Cette grille a ensuite été révisée au cours d'une journée de notation réunissant l'équipe d'évaluation ainsi qu'un panel de six acteurs du dispositif de surveillance (DGAL, ADA, Fnosad, Unaf, FRGDS).

L'équipe d'évaluation a ensuite finalisé la grille de notation, les recommandations et la rédaction du rapport rendu à la DGAL début septembre 2017.

Résultats

Les trois représentations synthétiques permettent de discuter l'évaluation selon différents angles d'approche et identifier les points critiques.

Analyse par section fonctionnelle d'un dispositif de surveillance

La représentation par graphiques en secteurs (Figure 2) permet de bénéficier d'une visualisation synthétique des dix sections du dispositif et de mettre en évidence les principaux points forts et points à améliorer de la surveillance.

Une première analyse globale des sections fonctionnelles de la surveillance montre une faiblesse globale du dispositif, avec une seule section arrivant à dépasser le niveau de satisfaction de 50 %. Les sections 1, 2, 3, 6, 8 et 10, concernant les objectifs, l'organisation institutionnelle centrale, l'organisation institutionnelle de terrain, les modalités de surveillance, la formation et l'évaluation montrent des marges de progrès plus conséquentes que les quatre autres sections. Cette première approche des résultats témoigne d'une manière générale de l'existence de points à améliorer à tous les échelons de fonctionnement du dispositif. Plus précisément, il ressort de cette première analyse que les objectifs de la surveillance, l'organisation institutionnelle centrale et de terrain ainsi que le système d'information devraient faire l'objet de travaux spécifiques.

Analyse selon les sept points critiques d'un dispositif de surveillance

L'analyse par points critiques (Figure 3) permet de compléter l'analyse par section en aidant notamment à la formulation de priorités en matière d'évolution du dispositif. Une première analyse globale des points critiques met en évidence que les actions d'amélioration prioritaires sont à effectuer pour les sept points critiques, dont un seul dépasse les 50 % du score attribuable. Les deux points qui apparaissent plus particulièrement critiques sont l'échantillonnage, et notamment ce qui conduit à collecter des données représentatives de la situation nationale, ainsi que le traitement et l'interprétation des données.

Analyse selon les attributs d'un dispositif de surveillance

L'analyse selon les attributs du dispositif de surveillance permet d'estimer la qualité globale du dispositif (Figure 4). Les résultats de l'évaluation sous l'angle des attributs de la surveillance sont à l'image des deux autres angles de vue, à savoir une faiblesse générale des scores obtenus pour les dix attributs analysés. Même si les résultats de tous les attributs sont relativement proches, on notera que les moins bons scores sont obtenus pour la représentativité, la flexibilité et l'acceptabilité de la surveillance, corroborant l'appréciation illustrée par les deux autres sorties graphiques.

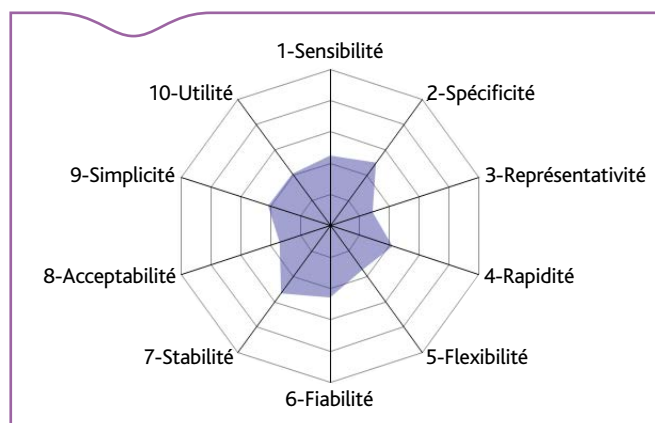


Figure 4. Résultats de l'évaluation selon les attributs du dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles en France

Discussion

L'évaluation a permis de mettre en évidence plusieurs points forts parmi lesquels on peut souligner que :

- la surveillance est bien identifiée dans le paysage sanitaire apicole, et son intérêt dans son principe général n'est remis en cause par

personne. Notamment la surveillance des intoxications et des DS1 sont bien identifiés comme relevant des missions de l'État,

- le bon niveau de formalisation des étapes et procédures de surveillance permet de bénéficier d'un référentiel technique pour l'évaluation,
- sont présents sur le terrain des acteurs compétents et motivés. Il convient de consolider, renforcer et valoriser cette motivation.

Ces points forts doivent être consolidés, tout en ayant présent à l'esprit qu'ils présentent eux-mêmes encore des marges d'amélioration.

Ces points forts ne sauraient cependant masquer des marges d'amélioration substantielles dans plusieurs compartiments de la surveillance, qui peuvent être résumés par les principaux axes d'amélioration suivants et dont le détail des recommandations est présenté dans le [tableau 1](#) :

- une réflexion de fond sur les objectifs de surveillance doit être conduite, en écartant d'une part les DS1 des objectifs du dispositif, et en intégrant d'autre part explicitement la détection et la description des effets non intentionnels des produits phyto-pharmaceutiques, biocides et médicaments vétérinaires et de leurs cofacteurs dans les objectifs de la surveillance,
- l'organisation institutionnelle centrale du dispositif mériterait d'être révisée, en créant des instances de pilotage et de suivi scientifique

Tableau 1. Inventaire des recommandations de l'évaluation par section du dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles en France

Section		Recommandation
Objectifs et champ de la surveillance	1	Conduire une réflexion de fond sur les objectifs en écartant les DS1 des objectifs, et en intégrant explicitement la détection et la description des effets non-intentionnels des produits phyto-pharmaceutiques, biocides et médicaments vétérinaires et de leurs cofacteurs dans les objectifs de la surveillance
	2	Créer une instance de pilotage
Organisation institutionnelle centrale	3	Créer une instance de suivi scientifique et technique dans le cadre de la Plateforme ESA
	4	Créer une cellule d'animation au sein de l'instance de suivi scientifique et technique
Organisation institutionnelle de terrain	5	Mettre en place un circuit direct de déclaration des apiculteurs vers des intervenants disponibles pour réaliser les investigations dans les ruchers (vétérinaires mandatés et TSA) tout en maintenant une information de la DDecPP en temps réel
	6	Attribuer formellement un rôle de coordination et d'animation régionale ou interdépartementale aux Sral, avec le maintien d'une expertise apicole et agronomique à cet échelon
Laboratoire	7	Réalisation d'une expertise technique approfondie sur la qualité des prestations des laboratoires réalisant des analyses toxicologiques sur les matrices abeilles en abordant notamment la question de la validation des méthodes par le laboratoire national de référence
	8	Intégrer les délais de rendu des résultats des analyses de laboratoire dans le protocole de surveillance
	9	Intégrer l'expertise d'analyse chimique dans l'instance de suivi scientifique et technique du dispositif
	10	Formaliser la constitution et les modalités de sollicitation et d'intervention d'une équipe nationale d'investigation épidémiologique spécialisée de second niveau en cas d'événement de mortalité groupée
Outils de surveillance	11	Réviser la fiche de collecte des données de surveillance en se fondant sur les travaux de l'Omaa
	12	Réviser les définitions de cas suspects, et développer des définitions de cas confirmés, probables et possibles afin d'aider à l'imputation des cas
	13	Inclure des délais et la possibilité de les tracer dans les différentes étapes du protocole de surveillance
Modalités de surveillance	14	Réviser les modalités de dépistage, en proposant un socle de dépistage commun à toutes les déclarations permettant de documenter également les phénomènes de co-exposition (pratiques de l'apiculteur, recherches systématiques de certains agents pathogènes, analyse multi-résidus systématique) tout en maintenant la démarche de diagnostic individuel de l'investigateur
Gestion des données	15	Développer un système d'information permettant un suivi du fonctionnement et un accès dynamique de l'ensemble des acteurs aux résultats de la surveillance
	16	Réaliser l'analyse et l'interprétation des données selon des modalités définies à l'avance et de manière collégiale dans le cadre du groupe de suivi de la Plateforme ESA
Formation	17	Définir le référentiel de compétences attendues à l'échelon régional et mettre en place un plan et un programme de formation adaptés
	18	Mettre en place une stratégie de formation continue couplée à l'animation nationale fondée sur des études de cas et retours d'expérience
Communication	19	Mettre en place un plan de communication à destination des apiculteurs sur la base de la révision des objectifs et modalités de surveillance
	20	Renforcer la valorisation des résultats de la surveillance
Evaluation	21	Renouveler une évaluation globale dans les trois ans qui suivront la mise en place des mesures correctives
	22	Mettre en place des indicateurs de fonctionnement en veillant notamment à mettre en place un jeu d'indicateurs sur les délais

et technique, en renforçant l'animation centrale par la création d'une cellule d'animation, en attribuant un rôle de coordination et d'animation aux échelons régionaux (Sral) et en mettant en place des modalités de déclaration directe des apiculteurs vers les intervenants disponibles pour réaliser les investigations dans les ruchers (vétérinaires mandatés et TSA). La Plateforme ESA apparaît l'organisation adaptée pour porter l'appui scientifique et technique, ainsi qu'une expertise épidémiologique poussée. Cette organisation institutionnelle doit permettre de clarifier le rôle et les attentes de l'État vis-à-vis de la surveillance. La poursuite de la structuration de la filière apicole devrait faciliter l'instauration d'une relation de confiance et de partenariat entre État et apiculteurs, nécessaire à la réussite de la surveillance,

- une expertise technique approfondie sur la qualité des prestations des laboratoires devrait être réalisée en abordant notamment la question de la validation des méthodes par le laboratoire de référence. En parallèle, il conviendrait de mieux impliquer l'expertise du laboratoire de référence dans le développement et le suivi des protocoles de surveillance,
- il conviendrait de formaliser la constitution d'une équipe nationale d'investigation épidémiologique spécialisée pour les investigations de second niveau, ainsi que les modalités de sa sollicitation et de son intervention en cas d'événement de mortalités ou affaiblissements groupés,
- un travail de fond pourrait être conduit en regard de l'évolution des objectifs de surveillance, dans le but de réviser les modalités d'investigation, en évaluant la pertinence et en calibrant le cas échéant un socle de dépistage commun à toutes les déclarations permettant de documenter également les phénomènes de co-expositions (pratiques de l'apiculteur, recherches systématiques de certains agents pathogènes, analyse multi-résidus systématique) tout en maintenant la démarche de diagnostic individuel de l'investigateur. Cette évolution conduira à réviser les définitions de cas (suspect, confirmé, possible, probable) et certains outils de surveillance (fiches de collecte des données),
- un effort particulier doit être fait sur la gestion (refonte du système d'information), l'exploitation (régulière et collégiale) et la valorisation (communication) des données de surveillance. Les

réflexions sur le système d'information doivent être conduites en commun avec les travaux en cours sur l'Omaa (Observatoire des mortalités et des affaiblissements de l'Abeille mellifère) de manière à ce que les systèmes puissent être communs ou *a minima* compatibles,

- la réorganisation institutionnelle doit s'accompagner d'un plan et d'un programme de formation initiale et continue, assurant une coordination efficace à l'échelon régional et un maillage d'intervenants de terrain,
- sur la base d'un plan d'action et après la mise en place des mesures correctives, il est recommandé de reconduire une évaluation dans un délai de trois ans, pour juger de la pertinence et de l'efficacité des évolutions apportées.

En conclusion, le dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës des abeilles en France ne répond que partiellement aux attentes qui lui sont adressées. Les recommandations proposées à l'issue de son évaluation sont à même de clarifier le positionnement de ce dispositif de surveillance, qui doit trouver sa place dans le panel de dispositifs qui contribuera à la connaissance de la mortalité des abeilles analysée dans le cadre de l'Omaa (voir l'article de Urrutia et al. dans ce même numéro). Les rôles et responsabilités de l'État et des apiculteurs devront être précisés en matière de suivi des différents troubles des abeilles. Par ailleurs, les évolutions proposées doivent permettre au dispositif de mieux jouer son rôle en matière de documentation de la phyto-pharmacovigilance.

Références bibliographiques

- DGAL, 2014. Surveillance des mortalités massives aiguës et des maladies, classées dangers sanitaires de première catégorie des abeilles. Note de service DGAL/SDQPV/2014-899 du 14/11/2014, 36p.
- Meziani, F., 2016. Mortalité des abeilles, la surveillance officielle des mortalités massives aiguës des abeilles, bilan 2015 et perspectives. LSA. 275. 9-10/2016, 397-403.
- Unaf, 2017. Surveillance officielle des mortalités massives aiguës des abeilles: de la déclaration des mortalités au bilan national annuel, un dispositif entaché de graves dysfonctionnements. https://www.unaf-apiculture.info/IMG/pdf/unaf_notereponse_articlemeziani_23.03.2017.pdf accédé le 11 septembre 2017. 9p.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

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

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

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

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

Résumé

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

Mots-clés

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

Abstract

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

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

Keywords

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

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

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

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

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

Matériels et méthodes

Définition des zones étudiées

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

Choix des ruchers

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

Protocole des visites et prélèvements des matrices apicoles

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

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

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

Les analyses toxicologiques ont été réalisées dans deux laboratoires :

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

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

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

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

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

Étude environnementale des ruchers

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

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

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

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

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

Substances recherchées non détectées

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

Anthelminthiques: doramectine, eprinomectine, ivermectine, moxidectine

Fongicides: chlorothalonil, cyprodinil

Insecticides: abamectine, acrinathrine, bifenthrine, carbaryl, chlorpyrifos_méthyl, clothianidine (néonicotinoïde), cyfluthrine (énantiomère), cyperméthrine, deltaméthrine, diflubenzuron, diméthoate, emamectine_benzoate, etofenprox, etoxazole, fenitrothion, fenoxycarbe, fenvalerate (énantiomère), fipronil, fipronil_desulfanyl, fipronil_sulfide, fipronil_sulfone, flonicamide, flufenoxuron, gamma_cyhalothrine, lambda_cyhalothrine, lufenuron, méthomyl, méthoxyfenozone, ométhoate, phosmet, phosmet_oxon, pirimicarbe, pirimicarbe_desmethyl, pymétozine, pyréthrine, pyridaben, roténone, spirotetramat, spirotetramat_ketohydroxy, spirotetramat_monohydroxy, tebufenozide, tefluthrine, thiodicarbe

Molluscicides: métaldehyde, méthiocarbe, méthiocarbe_sulfone, méthiocarbe_sulfoxide

* Substances interdites

Tableau 1b. Résultats des analyses des prélèvements de miels

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

Substances non détectées

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

Anthelminthiques: doramectine, eprinomectine, ivermectine, moxidectine

Fongicides: chlorothalonil, cyprodinil, dithiocarbamates, tebuconazole

Insecticides: abamectine, acrinathrine, bifenthrine, carbaryl, chlorantraniliprole, chlorpyrifos_méthyl, clothianidine (Néonicotinoïde), cyfluthrine (énantiomère), cyperméthrine, deltaméthrine, diflubenzuron, diméthoate, emamectine_benzoate, etofenprox, etoxazole, fenitrothion, fenoxycarbe, fenvalerate (énantiomère), fipronil, fipronil_desulfanyl, fipronil_sulfide, fipronil_sulfone, flonicamide, flufenoxuron, gamma_cyhalothrine, imidaclopride (Néonicotinoïde), indoxacarbe, lambda_cyhalothrine, lufenuron, methomyl, methoxyfenozone, ométhoate, phosmet, phosmet_oxon, pirimicarbe, pirimicarbe_desmethyl, pymétozine, pyréthrine, pyridaben, roténone, spinosad, spinosyne_A, spinosyne_D, spirotetramat, spirotetramat_ketohydroxy, spirotetramat_monohydroxy, tebufenozide, tefluthrine, thiaméthoxam (Néonicotinoïde), thiodicarbe

Molluscicides: métaldehyde, méthiocarbe, méthiocarbe_sulfone, méthiocarbe_sulfoxide

* Substances interdites

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

Étude cas-témoin

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

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

Résultats

Visites, prélèvements et analyses

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

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

Étude exposition

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

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

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

Les acaricides

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

Les insecticides néonicotinoïdes

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

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

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

Les fongicides

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

Environnement des ruchers

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

Étude cas-témoin

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

Discussion

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

pour l'interprétation des données que nous discutons ici.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Conclusion

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

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

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

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

Références bibliographiques

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

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Une étude épidémiologique pan-européenne montre que la **survie des colonies d'abeilles serait influencée par la formation des apiculteurs et par le contrôle des maladies**

Antoine Jacques (1,2), Marion Laurent (2), Magali Ribière-Chabert (2), Mathilde Saussac (1), Stéphanie Bougeard (3), Giles E. Budge (4,5), Pascal Hendrikx (1), Marie-Pierre Chauzat (1,2)

Auteur correspondant : marie-pierre.chauzat@anses.fr

(1) Université de Lyon-Anses, Laboratoire de Lyon, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, Lyon, France

(2) Anses, Unité de la pathologie des abeilles, Laboratoire national et européen de référence pour la santé des abeilles, Sophia Antipolis, France

(3) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Unité d'épidémiologie et du bien-être du porc, Ploufragan, France

(4) Fera Science limited, Sand Hutton, York, Royaume-Uni

(5) Newcastle University, Institute for Agri-Food Research and Innovation, Newcastle upon Tyne, Tyne and Wear, Royaume-Uni

Cet article est issu de (Jacques et al., 2017) dans le cadre du programme européen Epilobee (la composition complète du consortium Epilobee peut être fournie sur demande).

Résumé

Les multiples informations rapportant le déclin des populations d'abeilles ont incité les pays à concentrer leurs efforts pour mieux évaluer l'ampleur du phénomène et mieux identifier les facteurs agissant sur les pertes des abeilles. Cependant, la compréhension globale de ces différents facteurs souffre d'un manque d'actions conjointes au niveau international. De plus, les impacts liés à la formation des apiculteurs et aux pratiques apicoles sont souvent négligés malgré le fait que les abeilles soient des pollinisateurs domestiques. Pendant deux années consécutives, un programme de surveillance active comprenant 5 798 ruchers a évalué la mortalité des colonies d'abeilles dans dix-sept pays européens. Les données recueillies montrent des pertes hivernales de colonies d'abeilles se situant entre 2 et 32 %, et de fortes pertes de colonies relevées en été survenant à la suite de fortes pertes hivernales. L'analyse multivariée réalisée à partir d'un modèle de régression de Poisson a montré que les apiculteurs amateurs possédant des petits ruchers et avec peu d'expérience en apiculture ont enregistré un taux de mortalité hivernal deux fois supérieur à celui enregistré par les apiculteurs professionnels. En outre, dans cette étude, les colonies d'abeilles mellifères détenues par des apiculteurs professionnels n'ont pas montré de signes de maladie durant les visites, contrairement aux colonies détenues par des apiculteurs amateurs qui présentaient des signes cliniques d'infection bactérienne et d'infestation par *Varroa*. Les données soulignent l'expérience de l'apiculteur et les pratiques apicoles utilisées comme des facteurs majeurs des pertes de colonies d'abeilles. La mise en place de plans de surveillance internationaux et l'amélioration des formations destinées aux apiculteurs sont des paramètres clés à développer.

Mots-clés

Santé des abeilles, épidémiologie, mortalité des colonies, maladies, Epilobee

Abstract

A pan-European epidemiological study has shown that the survival of honeybee colonies is influenced by the training of beekeepers and by disease control

Multiple reports of honeybee population decline have prompted the affected countries to focus their efforts on assessing the extent of the phenomenon and identifying the factors that affect bee population losses. However, the overall understanding of these various factors is hindered by a lack of joint actions at the international level. Moreover, the impact of beekeeper training and beekeeping practices is often neglected, despite the fact that bees are domestic pollinators. For two consecutive years, an active surveillance programme including 5798 apiaries assessed bee colony mortality in 17 European countries. Collected data showed winter losses of bee colonies between 2% and 32%, and high colony losses in the summer following high winter losses. The multivariate analysis carried out on the basis of a Poisson regression model showed that recreational beekeepers who have small apiaries and little experience in beekeeping recorded a winter mortality rate twice as high as that reported by professional beekeepers. Moreover, in this study, honeybee colonies held by professional beekeepers did not show signs of disease during visits, while the colonies kept by recreational beekeepers showed clinical signs of bacterial infection and infestation by *Varroa*. These data highlight beekeeper experience and beekeeping practices as major factors for bee colony loss. The implementation of international surveillance programmes and improved training for beekeepers are key parameters for future development.

Keywords

Bee health, Epidemiology, Colony mortality, Diseases, Epilobee

L'apport annuel global de la pollinisation des abeilles mellifères à la production agricole est estimé à 147 millions d'euros (Garibaldi et al. 2013). L'inquiétude liée à la mortalité des colonies d'abeilles mellifères s'est accrue ces dernières décennies aux États-Unis (Steinhauer et al. 2014), en Asie et en Europe (vanderZee et al. 2015). Bien que le nombre de colonies d'abeilles mellifères ait augmenté d'environ 45 % au cours des 60 dernières années au niveau mondial (Vanengelsdorp et Meixner 2010), la perte soudaine de colonies d'abeilles domestiques aggrave la pénurie de pollinisateurs générant des inquiétudes sur l'impact de ce déficit en pollinisation sur la production agricole. En effet, il a été démontré que la quantité et la qualité des services de pollinisation ont diminué aux États-Unis ces 120 dernières années.

Les abeilles sont soumises à plusieurs facteurs de stress pouvant agir en interaction dont des agents infectieux et parasitaires, des pesticides et le changement climatique. Des études menées dans différents pays pointent des causes différentes de la dégradation de la santé des colonies d'abeilles. Au Royaume-Uni (Budge et al. 2015) et en Allemagne (Genersch et al. 2010), les agents infectieux et parasitaires sont pointés comme cause de la mauvaise santé des colonies d'abeilles, alors que c'est l'association agents pathogènes et pesticides qui est montrée du doigt en Italie (Porrini et al. 2016). En Afrique, aucun de ces facteurs de risque n'a été démontré (Muli et al. 2014). Une étude récente menée pour la première fois en Europe a clairement démontré l'existence d'interactions génotype/environnement liées à l'adaptation des populations d'abeilles à leur environnement (Meixner et al. 2014). En effet, le résultat le plus significatif de cette étude réside dans le constat que la survie des génotypes locaux est plus importante que les génotypes non locaux.

Aux États-Unis, les causes de mortalités hivernales diffèrent en fonction de la typologie de l'apiculteur : les apiculteurs amateurs identifient en général des facteurs « gérables » (tels que la famine ou la faiblesse de la colonie constatée pendant l'automne), tandis que les apiculteurs professionnels accusent plutôt des facteurs environnementaux, dont les pesticides. En Afrique du Sud, les pratiques liées à la transhumance ont un impact significatif sur la dépopulation des colonies, les apiculteurs transhumants enregistrant en moyenne davantage de mortalité que leurs homologues sédentaires.

En ce qui concerne les pollinisateurs de façon générale, des études ont montré l'impact négatif sur les populations de l'intensification des cultures et du changement climatique induit par les activités humaines. En dépit de tous ces travaux, notre compréhension globale de la santé des abeilles souffre d'un manque d'études conjointes qui suivraient des protocoles communs à l'échelle d'un continent. Par ailleurs, les impacts liés à la formation des apiculteurs et à leurs pratiques apicoles ne sont que rarement pris en compte bien que les colonies d'abeilles soient des pollinisateurs domestiques.

L'objet de la présente analyse a consisté à identifier les facteurs de risque liés à la mortalité des colonies d'abeilles domestiques. Les données ont été recueillies lors d'un programme de surveillance basé sur une sélection aléatoire des apiculteurs. Il s'agissait du premier programme de cette ampleur, conduit au niveau européen dans dix-sept États membres. Il reposait sur l'utilisation de méthodes standardisées pour surveiller la santé des colonies d'abeilles, pour relever les principales maladies de l'abeille et les pratiques apicoles utilisées.

Matériels et méthodes

Construction du réseau de surveillance

La sélection des États membres, des ruchers et des apiculteurs et l'évaluation des protocoles de surveillance appliqués dans les États membres sont décrits en détail dans plusieurs documents (Chauzat et al. 2016, EURL 2011, 2013). Brièvement, la surveillance a été mise

en œuvre durant deux années, entre l'automne 2012 et l'été 2014. Trois visites ont eu lieu par an dans chaque État membre : avant l'hiver (visite d'automne), après l'hiver (visite de printemps) et durant la saison apicole (visite d'été). Lors de chaque visite, les signes cliniques des principales maladies des abeilles et les pratiques de l'apiculteur ont été notées au cours de l'inspection des colonies sur le terrain en utilisant un questionnaire standardisé. Quand des colonies d'abeilles montraient des signes cliniques de maladie, des échantillons étaient collectés et transmis au laboratoire d'analyse compétent de chaque État membre. Les principales maladies des abeilles recherchées étaient celles listées dans le cadre des échanges intra-européens et pour l'importation d'abeilles dans l'Union européenne (European Commission 2010, 1992), à savoir : la noséose, la varroose, la loque américaine (AFB) et la loque européenne (EFB) qui sont les deux principales maladies parasitaires affectant le couvain, et la maladie noire. Un rucher était considéré comme souffrant d'une de ces maladies si la maladie avait été diagnostiquée dans une ou plusieurs colonies. L'ensemble des définitions de cas a été validé par le LRUE avec les États membres.

Le protocole d'échantillonnage a été élaboré, validé et diffusé par le LRUE aux États membres participant à l'étude. Par la suite, chacun des États membres a organisé les formations des inspecteurs de terrain et les visites des colonies. Toutes les informations recueillies ont été stockées dans une base de données en ligne. Au moins un tiers de la population des apiculteurs participant à la première année de la surveillance a été renouvelé pour la deuxième année et la même méthodologie de sélection des apiculteurs et des colonies a été utilisée.

La représentativité de la population d'apiculteurs a été obtenue grâce au tirage aléatoire des ruchers (unités primaires) et des colonies d'abeilles (unités secondaires) dans une liste considérée comme représentative de la population nationale apicole et ce dans chaque État membre. L'Angleterre et le Pays de Galles (considérés comme un seul État membre) n'ont pas pris part à la deuxième année du programme.

La population étudiée et les variables retenues

Pour calculer les taux de mortalité des colonies, seuls les ruchers pour lesquels trois visites consécutives ont été réalisées ont été retenus. Afin de garder autant de données que possible dans l'analyse statistique, les données ont été consolidées en appliquant des règles de logique, en comparant par exemple le nombre de colonies sélectionnées pour la première visite et les informations enregistrées lors de la deuxième visite, le nombre de colonies sélectionnées pour la première visite et la taille du rucher, ou encore le nombre de colonies détenues par l'apiculteur et la taille du rucher. À l'issue de ces contrôles, 2 332 ruchers (sur 3 053) ont été retenus dans l'analyse statistique pour la première année et 2 426 (sur 2 745) pour la seconde année. Le rucher était considéré comme l'unité épidémiologique.

Parmi les 138 variables disponibles réparties en douze tables, 36 ont été sélectionnées pour être incluses dans l'analyse statistique après une sélection de type Delphi. Ces 36 variables concernaient : l'apiculteur (âge, activité et expérience apicole), le type d'exploitation (le type de production, par exemple miel, pollen, reines), l'importance de l'exploitation (nombre de colonies détenues par l'apiculteur, nombre de colonies faisant partie du rucher visité), l'élevage (les sous espèces d'abeilles domestiques, les essaims et les reines produites ou vendues par l'apiculteur), les maladies, si une dépopulation avait été ou non observée dans le rucher (signes cliniques et mortalité des colonies ou des abeilles observées avant et au cours des visites sur site) et l'environnement dans lequel se trouvait le rucher. Ces variables ont été utilisées comme variables explicatives en prenant les mortalités en saison et hivernales comme variables réponses. La mortalité constatée l'hiver précédent a été incluse comme une variable explicative supplémentaire pour la mortalité relevée en saison prise alors comme variable réponse.

Tableau 1. Mortalités hivernales des colonies d'abeilles calculées pour les différentes catégories au cours d'Epilobee (2012-2014) avec les caractéristiques de chaque catégorie

Catégorie (nombre de ruchers)		W1 (n= 403)	W2 (n= 695)	W3 (n= 1 324)	W4 (n= 258)	W5 (n= 710)	W6 (n= 944)	W7 (n= 424)
Mortalité hivernale (%)		14,04	8,11	9,50	9,74	11,46	8,66	12,57
Typologie		Amateur	Professionnel	Amateur	Amateur	Amateur	Pluriactif	Pluriactif
Taille (rucher et exploitation)		1	3	1	1	1	3	2
Age de l'apiculteur (années)		> 65	30-45	> 65	< 30	[30-45[[45-65]	[45-65]
Antécédents des apiculteurs	<i>Formation</i>	Non	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Oui
	<i>Registre d'élevage</i>	Non	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Oui
	<i>Qualification</i>	Non	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Oui
	<i>Membre d'une association apicole</i>	Non	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Oui
	<i>Expérience apicole (années)</i>	2 à 5	> 5	> 5	< 2	2 to 5	> 5	> 5
Traitement collectif contre Varroa		Non	Non	Oui	NCOR	Non	Oui	Non
Gestion du rucher	<i>Production de R & E</i>	Pas d'information	Plus de 10	Pas d'information		Non		Plus de 10
	<i>Achat de R & E</i>	Pas d'information	Non	Pas d'information		Non		Non
	<i>Gestion</i>	Pas d'information	Cheptel	Pas d'information		Production + ES + Cheptel		Cheptel
	<i>Sous espèce</i>	Buckfast / Hybrides / A. m. lig	A. m. iberiensis / A. m. ccm	Buckfast/Hybrides/A. m. lig.		Abeilles locales/A. m. carnica		A. m. iberiensis / A. m. ccm
	<i>Environnement</i>	Terres cultivables / Villes / Forêts	Floral	Terres cultivables / Villes / Forêts		Diversifié		Floral
	<i>Production</i>	Reines	Diverse	Reines		Miel		Diverse
	<i>Colonies fusionnées</i>	NCOR	Oui	NCOR		Non		oui
	<i>Transhumance</i>	Pas d'information	Cultures & Diverse	Pas d'information		Pas d'information		Cultures & Diverse
Maladies cliniques		Varroose	Pas d'observation de maladie clinique	Pas d'observation de maladie clinique	NCOR	Pas d'observation de maladie clinique	Pas d'observation de maladie clinique	LA & Varroose
Evènements de santé		Non	Non	Oui	NCOR	Oui	Oui	Non

Les taux de mortalité de toutes les catégories étaient significativement différents les uns des autres ($p < 0,05$), sauf entre les catégories W3 et W4 ($p = 0,18$). R & E = reines et essaims ; ES = État de santé ; A. m. = *Apis mellifera* ; lig. = *ligustica* ; ccm = *carpatica*, *caucasia* ou *macedonia* ; taille 1 = exploitation ≤ 50 colonies et rucher ≤ 20 colonies ; taille 2 = exploitation ≤ 50 et rucher entre 21 et 50 ; taille 3 = exploitation entre 51 et 300 et rucher > 50 ; Environnement diversifié = environnement du rucher composé de deux ou plusieurs types d'environnements différents ; Terres cultivables / Villes / Forêts = environnement du rucher composé soit de terres agricoles, soit de villes soit de forêts ; Production diverse = miel, reines et pollen ; Transhumance diverse = zones de transhumance combinant des cultures et des fleurs sauvages ; NCOR = Aucune caractéristique surreprésentée, c'est-à-dire pour un critère donné et une catégorie donnée, parmi toutes les caractéristiques, aucune n'était surreprésentée ; Pas d'information = aucune information fournie pour ces ruchers ; LA = Loque américaine. Voir l'article pour plus de détails sur les catégories et les critères

Tableau 2. Mortalités en saison des colonies d'abeilles calculées pour les différentes catégories au cours d'Epilobee (2012-2014) avec les caractéristiques de chaque catégorie

Catégorie (nombre de ruchers)		S1 (n= 103)	S2 (n= 1 299)	S3 (n= 633)	S4 (n= 794)	S5 (n= 684)	S6 (n= 885)	S7 (n= 360)
Mortalité en saison (%)		7,81	1,81	3,40	2,48	2,00	3,98	2,04
Typologie		Amateur	Amateur	Amateur	Amateur	Pluriactif	Pluriactif	Professionnel
Taille (rucher & exploitation)		NCOR	1	1	1	2	2	3
Age de l'apiculteur (années)		NCOR	[45-65]	> 65	> 65	[45-65]	[30-45[[30-45[
Antécédents des apiculteurs	<i>Formation</i>	Non	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Oui
	<i>Registre d'élevage</i>	Non	Oui	Non	Oui	Oui	Non	Oui
Traitement collectif contre Varroa		Non	Oui	Non	Non	Oui	Non	Non
Gestion du rucher	<i>Production de R & E</i>	NCOR	Pas d'information	Pas d'information	Non	Plus de 10		
	<i>Achat de R & E</i>		Pas d'information	Pas d'information	Non	Plus de 10 R & 5 E		
	<i>Gestion</i>		Pas d'information	Pas d'information	Cheptel	Production + ES + Cheptel		
	<i>Sous espèce</i>		Buckfast / Hybrides / A. m. lig.	Buckfast / Hybrides / A. m. lig.	Abeilles locales / A. m. iberiensis	A. m. carnica / A. m. ccm		
	<i>Colonies fusionnées</i>		NCOR	NCOR	Non	Oui		
Maladies cliniques		LA	Pas d'observation de maladie clinique	Varroose	Pas d'observation de maladie clinique	NCOR	Varroose	Pas d'observation de maladie clinique
Evènements de santé		Non	Oui	Non	Non	Oui	Non	Non
Mortalité constatée l'hiver précédent (%)		21 - 50	Pas de mortalité	21 - 50	Pas de mortalité	6 - 10	1 - 5	6 - 10

Les taux de mortalité de toutes les catégories étaient significativement différents les uns des autres ($p < 0,05$), sauf entre les catégories S5 et S7 ($p = 0,48$). R & E = reines et essaims ; ES = État de santé ; A. m. = *Apis mellifera* ; lig. = *ligustica* ; ccm = *carpatica*, *caucasia* ou *macedonia* ; taille 1 = exploitation ≤ 50 colonies et rucher ≤ 20 colonies ; taille 2 = exploitation ≤ 50 et rucher entre 21 et 50 ; taille 3 = exploitation entre 51 et 300 et rucher > 50 . NCOR = Aucune caractéristique surreprésentée, c'est-à-dire pour un critère donné et une catégorie donnée, parmi toutes les caractéristiques, aucune n'était surreprésentée ; Pas d'information = aucune information fournie pour ces ruchers ; LA = Loque américaine. Voir l'article pour plus de détails sur les catégories et les critères

Méthodes statistiques

Dans un premier temps, les jeux de données concernant chaque année ont été considérés indépendamment. Les dix-sept États membres ont été regroupés selon les taux de mortalité des colonies d'abeilles enregistrés dans chacun des pays. Dans un deuxième temps, pour chaque année toujours considérée indépendamment, les liens entre les mortalités relevées en saison et pendant l'hiver ont été explorés. Afin de travailler sur un jeu de données complet, les données manquantes ont été complétées au moyen de la méthode d'imputation des données basée sur l'analyse des correspondances multiples (ACM). Enfin, les facteurs de risque de mortalité ont été recherchés sur l'ensemble du jeu de données incluant les deux années en utilisant des modèles linéaires généralisés quasi-Poisson.

Regroupement des États membres en fonction de la mortalité annuelle

La mortalité annuelle des colonies d'abeilles a été étudiée en mettant en commun la mortalité hivernale et la mortalité en saison des 2 332 ruchers de la première année et des 2 426 ruchers de la deuxième année. Les dix-sept États membres ont été regroupés selon leur mortalité annuelle (par exemple, les groupes se distinguant par de forts taux de mortalité versus les groupes présentant de faibles taux de mortalité) par le biais de vecteurs composés de deux valeurs (la première se rapportant au taux de mortalité hivernale, la seconde au taux de mortalité en saison). Les dix-sept vecteurs ont ensuite fait l'objet d'une classification hiérarchique basée sur l'analyse en composantes principales (HCPC). Cette analyse a abouti à la constitution de groupes d'États membres présentant des mortalités annuelles similaires pour chacune des deux années prises séparément.

Liens entre mortalité hivernale et saisonnière

Cette analyse spécifique a été menée séparément pour la première et la seconde année. Les coefficients de corrélation de Spearman ont été calculés en prenant en compte deux variables pour chaque année : les taux de mortalité hivernale d'une part et les taux de mortalité en saison d'autre part.

Les facteurs de risque liés à la mortalité des colonies d'abeilles (pour les deux années combinées)

Afin d'éviter les problèmes liés à la multi-colinéarité dans la régression de Poisson, certaines variables ont été regroupées par thématique (telles que les maladies ou la gestion des ruchers) puis l'ensemble des variables sélectionnées pour l'analyse statistique a été synthétisée en une seule variable latente via une ACM suivie d'une classification (Jacques et al. 2016). La nouvelle variable synthétique obtenue composée de sept catégories (et jouant le rôle de variable explicative) a été incluse dans le modèle linéaire généralisé en tant qu'effet fixe. Les variables *pays* et *année* ont été incluses en tant qu'effet aléatoire.

Les sept catégories de la variable synthétique ont été classées selon huit critères avec le type d'apiculteur (amateur, pluri actif ou professionnel), la taille des ruchers et des colonies en fonctions de quatre classes (de la classe 1 la plus petite à la classe 4 la plus grande, voir [Tableaux 1 et 2](#)), l'âge de l'apiculteur, classé en quatre groupes (< 30 ans, [30 et 45] ans, [45 et 65] ans et > 65 ans). La participation à un programme de traitement collectif contre *Varroa*, l'observation clinique des maladies affectant les colonies d'abeilles visitées et la confirmation ultérieure par le laboratoire ont également été considérées comme critère pour identifier les différentes catégories de la variable synthétique. Les actions menées au niveau de l'exploitation pour améliorer la qualité de la production ont été groupées sous le critère « Gestion du rucher » : si l'apiculteur produisait ses propres reines et essaims ou s'il les achetait par ailleurs, si l'acquisition d'essaims ou de reines avait pour objectif l'accroissement de la production, la compensation du mauvais état de santé des colonies ou le maintien du cheptel, les sous-espèces d'abeilles utilisées, l'environnement dans lequel se trouvait le rucher

étudié selon les déclarations de l'apiculteur, la production principale recherchée par l'apiculteur, la fusion des colonies faibles, et le type de miellée visée par la transhumance. Le critère faisant référence aux connaissances de l'apiculteur regroupait aussi bien son expérience (formation, diplôme), l'ancienneté dans son activité apicole que les pratiques auxquelles il avait recours (utilisation d'un registre d'élevage, participation à une association d'apiculteurs). Le dernier critère concernait la présence ou non d'événements de santé dans le rucher avant le début du projet.

Résultats et discussion

Regroupement des États membres selon la mortalité annuelle

À l'échelle européenne, les taux de mortalité hivernale se situaient entre 2 et 32 %. Par ailleurs, les mortalités en saison étaient plus importantes lorsque de forts taux de mortalité étaient observés au cours de l'hiver précédent (coefficient de corrélation de Spearman de 0,071 pour la première année et de 0,142 pour la seconde année).

Pour la première année, les États membres ont été rassemblés en quatre groupes selon leur taux de mortalité annuelle : i) taux élevés (Belgique, Angleterre et Pays de Galles), ii) fourchette moyennement haute (Estonie, Finlande, Lettonie, Pologne et Suède), iii) fourchette moyennement basse (Allemagne, Danemark, Espagne, France, Hongrie, Portugal et Slovaquie), et iv) faibles taux (Grèce, Italie et Lituanie) ([Figures 1a et 1b](#)).

L'analyse séparée des mortalités permet de relever des taux allant de 5,01 % (Italie) à 31,73 % (Belgique) pour la mortalité hivernale, et de 0,09 % (Lituanie) à 9,63 % (France) pour la mortalité en saison ([Figures 1c et 1d](#)).

Au cours de la deuxième année, les États membres ont également été rassemblés en quatre groupes. La France et la Belgique avaient les taux de mortalité les plus élevés. Le Danemark, l'Estonie, la Finlande et la Lettonie, de même que le Portugal et la Suède appartenaient au groupe aux taux de mortalité dans la fourchette moyennement haute. La Grèce et l'Espagne étaient dans le groupe de la fourchette moyennement basse. Le groupe avec les taux de mortalité hivernale les plus bas incluait l'Allemagne, la Hongrie, l'Italie, la Lituanie, la Pologne et la Slovaquie ([Figures 2a et 2b](#)). L'analyse séparée des mortalités permet de relever des taux allant de 2,16 % (Lituanie) à 13,85 % (Belgique) pour la mortalité hivernale, et de 0,16 % (Lituanie) à 8,06 % (France) pour la mortalité en saison ([Figures 2c et 2d](#)).

Facteurs de risque liés à la mortalité des colonies d'abeilles

Après avoir combiné les jeux de données complets des deux années, 33 variables ont été incluses dans l'analyse statistique portant sur la mortalité hivernale et 28 pour la mortalité en saison. L'effet *année* était significatif pour les deux années de l'étude avec un effet plus fort sur la mortalité hivernale (p -valeur = 1.10^{-37}) que sur la mortalité en saison (p -valeur = 1.10^{-3}).

La nouvelle variable synthétique a été scindée en sept catégories (W1 à W7 et S1 à S7, pour la mortalité hivernale et la mortalité en saison, respectivement). Les taux de mortalité ont été calculés à partir d'une analyse multivariée basée sur un modèle de régression de Poisson, pour chacune des sept catégories et pour chaque type de mortalité : hivernale ([Tableau 1](#)) et en saison ([Tableau 2](#)). Les apiculteurs amateurs détenteurs de petits ruchers et possédant peu d'expérience en apiculture avaient un taux de mortalité presque deux fois supérieur (14,04 % - Groupe W1) à celui relevé chez les apiculteurs professionnels (8,11 % - Groupe W2). En outre, les colonies d'abeilles domestiques détenues par des apiculteurs professionnels n'ont pas montré de signe de maladie durant les visites, alors que les colonies détenues par des apiculteurs amateurs présentaient des signes

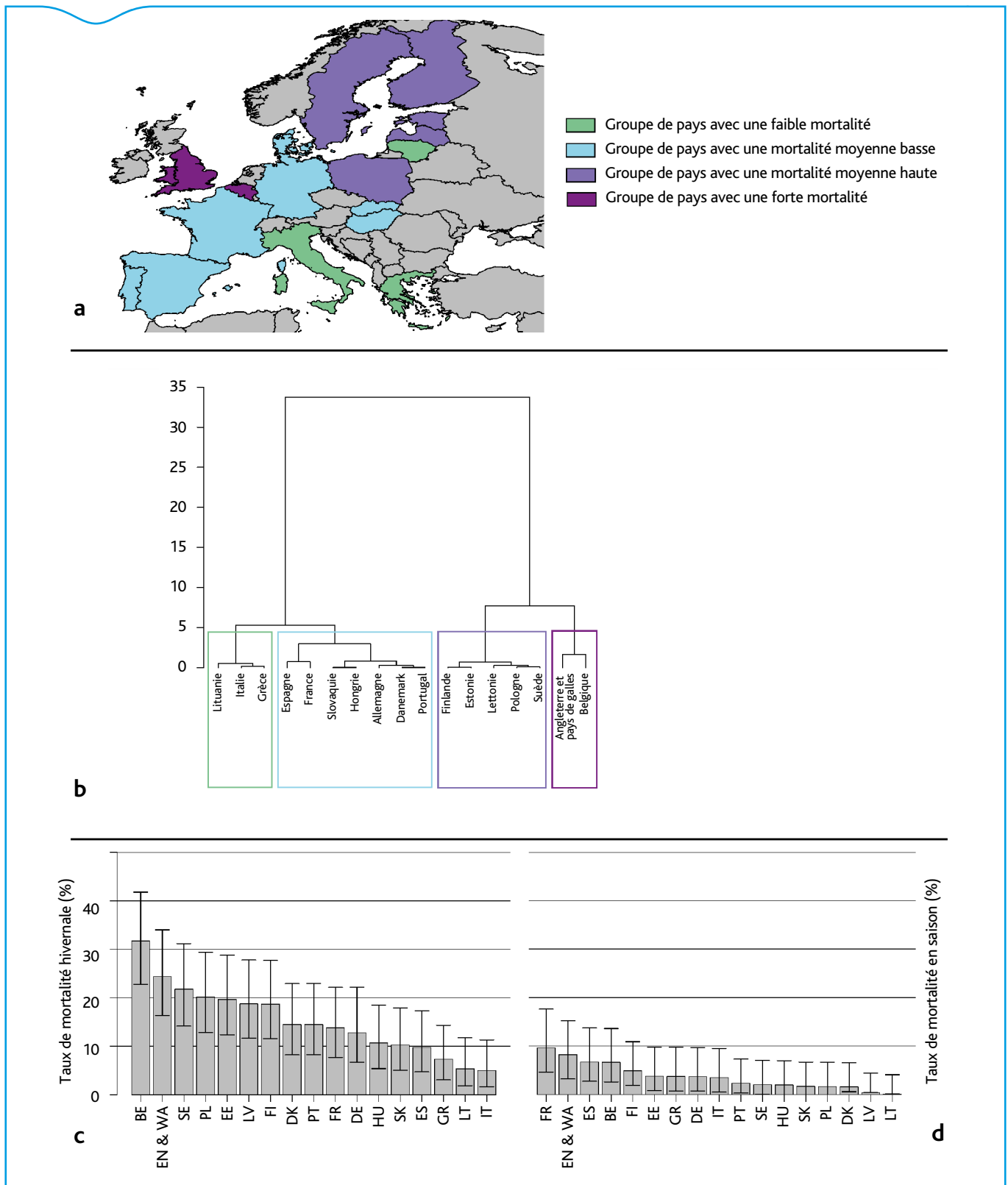


Figure 1. Les quatre groupes de mortalité annuelle des colonies d'abeilles relevés au cours d'Epilobee pendant la première année. Ils sont illustrés par une carte (a), un dendrogramme (b) et deux graphiques représentant les taux de mortalité hivernale (c) et en saison (d). Les segments verticaux représentent l'intervalle de confiance à 95 %
 BE = Belgique ; DE = Allemagne ; DK = Danemark ; EE = Estonie ; EN & WA = Angleterre et Pays de Galles ; ES = Espagne ; FI = Finlande ; FR = France ; GR = France ; HU = Hongrie ; IT = Italie ; LT = Lituanie ; LV = Lettonie ; PL = Pologne ; PT = Portugal ; SE = Suède ; SK = Slovaquie

cliniques d'infestation par *Varroa* (Groupe W1). D'après ces résultats, les principaux facteurs favorisant la santé des colonies d'abeilles sont les connaissances et les pratiques apicoles des apiculteurs. Des efforts supplémentaires dans les formations destinées aux apiculteurs sont requis afin de promouvoir les bonnes pratiques en apiculture et d'arriver à une meilleure identification précoce de tout signe clinique de maladie.

L'hiver 2012 – 2013 était particulièrement long et rigoureux en Europe contrairement à l'hiver 2013 – 2014 qui était plutôt doux. Les hivers doux sont connus pour favoriser la multiplication des populations de *Varroa*. Selon une étude longitudinale menée en Europe, la localisation des colonies d'abeilles influence grandement le statut sanitaire. Il a été récemment suggéré que certaines populations d'abeilles avaient développé leurs propres mécanismes de défense afin mieux

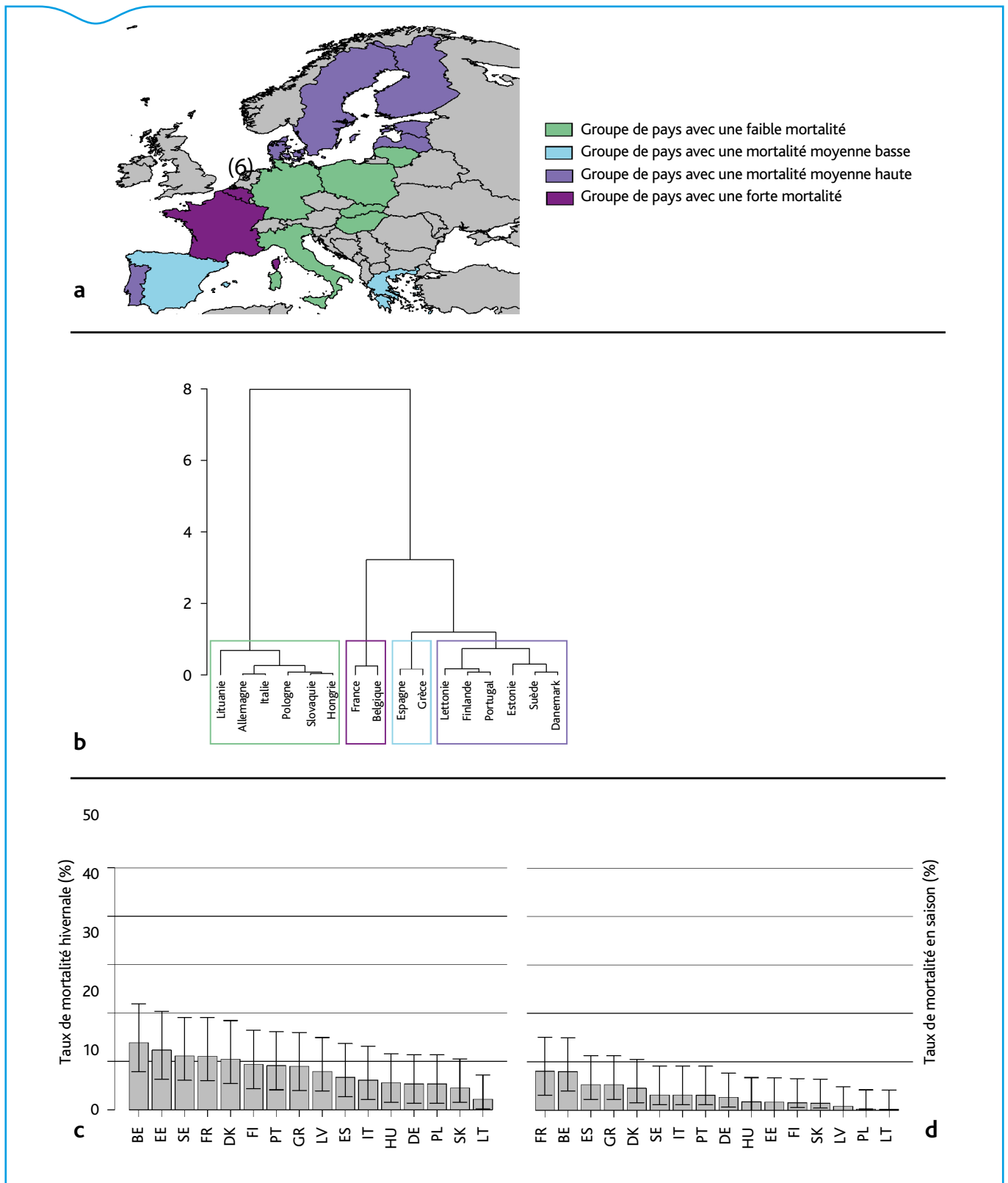


Figure 2. Les quatre groupes de mortalité annuelle des colonies d'abeilles relevés au cours d'Epilobee pendant la deuxième année. Ils sont illustrés par une carte (a) et un dendrogramme (b) et deux graphiques représentant les taux de mortalité hivernale (c) et en saison (d). Les segments verticaux visualisent l'intervalle de confiance à 95 %
 BE = Belgique ; DE = Allemagne ; DK = Danemark ; EE = Estonie ; EN & WA = Angleterre et Pays de Galles ; ES = Espagne ; FI = Finlande ; FR = France ; GR = France ; HU = Hongrie ; IT = Italie ; LT = Lituanie ; LV = Lettonie ; PL = Pologne ; PT = Portugal ; SE = Suède ; SK = Slovaquie

s'adapter à leur environnement notamment aux agents pathogènes présents localement (Meixner et al. 2014). Dans le domaine de l'éco-toxicologie, l'amplitude des effets sub-léthaux provoqués par les pesticides néonicotinoïdes est aussi modifiée par les interactions avec l'environnement et par la durée de l'exposition. Ces observations montrent que les outils de surveillance de la santé des colonies d'abeilles doivent prendre en compte les facteurs environnementaux. Cependant

les résultats de la première année de l'étude (distribution géographique aléatoire des pays avec de taux de mortalité similaires) suggèrent que la météorologie est un facteur suffisamment fort pour masquer les spécificités environnementales régionales. Par conséquent, le rôle joué par le climat dans la mortalité hivernale des colonies d'abeilles pourrait être étudié plus en profondeur en poursuivant les suivis de populations pendant plusieurs années consécutives.

Ces travaux ont montré pour la première fois, une relation entre les mortalités relevées en hiver et celles relevées en saison. Bien que les taux de mortalité hivernale soient communément utilisés pour quantifier les pertes de colonies, le taux de mortalité constaté au cours d'une année pleine devrait également être pris en compte pour estimer l'évolution des populations d'abeilles. Les pertes de colonies d'abeilles sont étroitement liées au mode d'exploitation adopté par l'apiculteur, ce qui inclut le soin apporté aux colonies (détection des maladies) mais aussi les miellées ciblées et, par conséquent, l'éventuelle exposition aux pesticides. Ainsi, les futures études épidémiologiques devraient prendre en compte l'occupation des sols et la recherche de pesticides.

Ces résultats démontrent que les apiculteurs ont tendance à recourir à des pratiques permettant de compenser les pertes de colonies. En effet, durant les deux années de l'étude, le nombre d'essaims achetés était lié aux deux mortalités (plus les taux de mortalité de colonies étaient forts, plus le nombre d'essaims achetés était important). Ces observations sont la preuve des efforts supplémentaires que les apiculteurs doivent fournir pour contrebalancer la perte de colonies : les apiculteurs acquièrent des essaims et fusionnent des colonies afin de maintenir leur cheptel à un niveau suffisant en quantité et en qualité. Les futures études devront en tenir compte pour mieux quantifier le travail supplémentaire demandé aux apiculteurs pour faire face aux pertes ou à la faiblesse des colonies d'abeilles.

Ce protocole épidémiologique descriptif présente des limites qui doivent être prises en compte avant de tirer des conclusions. En effet, toute hypothèse exprimée dans cet article devrait être étudiée plus en profondeur dans des protocoles expérimentaux dédiés pour confirmer les facteurs de risque et clarifier toute causalité potentielle, ces résultats devant être considérés comme préliminaires.

Conclusion

Ces travaux ont démontré que les principaux facteurs favorisant la santé des colonies d'abeilles étaient les connaissances et les pratiques apicoles des apiculteurs. Des efforts supplémentaires dans les formations destinées aux apiculteurs sont requis afin de promouvoir les bonnes pratiques en apiculture et d'arriver à une meilleure identification précoce de tout signe clinique de maladie. Les pertes de colonies ont considérablement varié d'un État membre à l'autre, et d'une année sur l'autre au cours de cette étude. Les conditions climatiques étaient susceptibles d'agir fortement sur la mortalité des colonies au cours d'une année, constat qui implique une surveillance à long terme. Les données issues d'une surveillance descriptive telle qu'Epilobee devraient être utilisées pour élaborer des protocoles destinés à étudier plus en profondeur des hypothèses données. Les études régionales portant sur des pratiques apicoles locales devraient être encouragées. Dans la continuité de ce travail, les causes de disparition des colonies devraient être recherchées au moyen d'études portant sur des questions spécifiques, telles que les causes potentielles des pertes de colonies, en ayant recours par exemple à des études cas-témoin incluant des recherches de pesticides et l'étude du paysage.

Références bibliographiques

Budge, G. E., S. Pietravalle, M. Brown, L. Laurenson, B. Jones, V. Tomkies, et K. S. Delaplane. 2015. "Pathogens as Predictors of Honey Bee Colony Strength in England and Wales." *PLoS One* 10 (7):e0133228. doi: 10.1371/journal.pone.0133228.

Chauzat, M.P., EPILOBEE consortium, A. Jacques, M. Laurent, S. Bougeard, P. Hendrikx, et M. Ribière-Chabert. 2016. "Risk indicators affecting honeybee colony survival in Europe: one year of surveillance." *Apidologie* 47 (348-378). doi: 10.1007/s13592-016-0440-z.

EURL. 2011. "Guidelines for a European project on honeybee colony losses." Brussels: European Union. 34.

EURL. 2013. "Amendment to guidelines for a European project on honeybee colony losses." Brussels: European Commission. 1.

European_Commission. 1992. "Council directive 92/65/EEC laying down animal health requirements governing trade in and imports into the Community of animals, semen, ova and embryos not subject to animal health requirements laid down in specific Community rules referred to in Annex A." *Official Journal of the European Union L* 268:58-63.

European_Commission. 2010. "Commission Regulation (EU) No 206/2010 of 12 March 2010 laying down lists of third countries, territories or parts thereof authorised for the introduction into the European Union of certain animals and fresh meat and the veterinary certification requirements." *Journal of the European Union L* 73:1-121.

Garibaldi, L.A., I. Steffan-Dewenter, R. Winfree, M.A. Aizen, R. Bommarco, S.A. Cunningham, C. Kremen, L.G. Carvalheiro, L.D. Harder, O. Afik, I. Bartomeus, F. Benjamin, V. Boreux, D. Cariveau, N.P. Chacoff, J.H. Dudenhofer, B.M. Freitas, J. Ghazoul, S. Greenleaf, J. Hipolito, A. Holzschuh, B. Howlett, R. Isaacs, S.K. Javorek, C.M. Kennedy, K. Krewenka, S. Krishnan, Y. Mandelik, M.M. Mayfield, I. Motzke, T. Munyuli, B.A. Nault, M. Otieno, J. Petersen, G. Pisanty, S.G. Potts, R. Rader, T.H. Ricketts, M. Rundlof, C.L. Seymour, C. Schuepp, H. Szentgyorgyi, H. Taki, T. Tschardt, C.H. Vergara, B.F. Viana, T.C. Wanger, C. Westphal, N. Williams, et A.M. Klein. 2013. "Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance." *Science*:1-7. doi: 0.1126/science.1230200.

Genersch, E., W. Von der Ohe, H.H. Kaatz, A. Schroeder, C. Otten, R. Buchleir, S. Berg, W. Ritter, et W. Muhlen. 2010. "The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies." *Apidologie* 41:332-352. doi: 10.1051/apido/2010014.

Jacques, A., M. Laurent, Epilobee Consortium, M. Ribière-Chabert, M. Saussac, S. Bougeard, G. E. Budge, P. Hendrikx, et M. P. Chauzat. 2017. "A pan-European epidemiological study reveals honey bee colony survival depends on beekeeper education and disease control." *PLoS One* 12 (3):e0172591. doi: 10.1371/journal.pone.0172591.

Jacques, A., M. Laurent, M. Ribière-Chabert, M. Saussac, S. Bougeard, P. Hendrikx, et M.P. Chauzat. 2016. "Statistical analysis on the EPILOBEE dataset: explanatory variables related to honeybee colony mortality in EU during a 2 year survey." *EFSA supporting publication* EN-883:228pp.

Meixner, M.D., R.M. Francis, A. Gajda, P. Kryger, S. Andonov, A. Uzunov, G. Topolska, C. Costa, E. Amiri, S. Berg, M. Bienkowska, M. Bouga, R. Buchler, W. Dyrba, K. Gurgulova, F. Hatjina, E. Ivanova, M. Janes, N. Kezic, S. Korpela, Y. LeConte, B. Panasiuk, H. Pechhacker, G. Tsoktouridis, G. Vaccari, et Z. Wilde. 2014. "Occurrence of parasites and pathogens in honey bee colonies send in a European genotype-environment interactions experiment." *Journal of Apicultural Research* 53 (2):215-229. doi: 10.3896/IBRA.1.53.2.04.

Muli, E., H. Patch, M. Frazier, J. Frazier, B. Torto, T. Baumgarten, J. Kilonzo, J. N. Kimani, F. Mumoki, D. Masiga, J. Tumlinson, et C. Grozinger. 2014. "Evaluation of the distribution and impacts of parasites, pathogens, and pesticides on honey bee (*Apis mellifera*) populations in East Africa." *PLoS One* 9 (4):e94459. doi: 10.1371/journal.pone.0094459.

Porrini, C., F. Mutinelli, L. Bortolotti, A. Granato, L. Laurenson, K. Roberts, A. Gallina, N. Silvester, P. Medrzycki, T. Renzi, F. Sgolastra, et M. Lodesani. 2016. "The Status of Honey Bee Health in Italy: Results from the Nationwide Bee Monitoring Network." *PLoS One* 11 (5):e0155411. doi: DOI:10.1371/journal.pone.0155411.

Steinhauer, N.A., K. Rennich, M.E. Wilson, D.M. Caron, E.J. Lengerich, J.S. Pettis, R. Rose, J.A. Skinner, D.R. Tarpy, J.T. Wilkes, et D. Vanengelsdorp. 2014. "A national survey of managed honey bee 2012-2013 annual colony losses in the USA: results from the Bee Informed Partnership." *Journal of Apicultural Research* 53 (1):1-18. doi: 10.3896/IBRA.1.53.1.01.

vanderZee, R., A. Gray, L. Pisa, et T. de Rijk. 2015. "An Observational Study of Honey Bee Colony Winter Losses and Their Association with *Varroa* destructor, Neonicotinoids and Other Risk Factors." *PLoS One* 10 (7):e0131611. doi: 10.1371/journal.pone.0131611.

Vanengelsdorp, D., et M.D. Meixner. 2010. "A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them." *Journal of Invertebrate Pathology* 103:80-95. doi: 10.1016/j.jip.2009.06.011.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Un nouvel outil de surveillance sanitaire du cheptel apicole prochainement expérimenté en France : **l'Observatoire des mortalités et des affaiblissements de l'Abeille mellifère (Omaa)**

Virginie Urrutia (1) et Sébastien Wendling (2)

Auteur correspondant : virginie.urrutia@itsap.asso.fr

(1) Institut technique et scientifique de l'Apiculture et de la pollinisation (Itsap-Institut de l'Abeille), Paris, France

(2) Direction générale de l'Alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France

Résumé

Une des suites donnée par le ministère en charge de l'Agriculture aux enseignements tirés de l'épisode de mortalités hivernales de colonies d'abeilles observées dans la chaîne pyrénéenne pendant l'hiver 2013/2014 a été la mise en place d'un dispositif de surveillance syndromique qui puisse détecter de façon précoce des phénomènes sanitaires émergents et émettre des alertes. Après deux ans de construction collective dans le cadre de la Plateforme nationale d'épidémiosurveillance en santé animale (Plateforme ESA), ce dispositif, l'Observatoire des mortalités et des affaiblissements de l'Abeille mellifère (Omaa), va prochainement être déployé de façon expérimentale pour une durée de deux ans dans deux régions françaises: la Bretagne et les Pays de la Loire.

Mots-clés

Omaa, Abeille mellifère, mortalité, affaiblissement, observatoire, surveillance

Abstract

A new tool for the health surveillance of bee populations soon to be tested in France: the Observatory of mortality and weakening in honeybee populations (Omaa)

One of the follow-up actions by the French Ministry of Agriculture on the basis of the information gathered during the episode of winter mortality in bee colonies observed in the Pyrenees mountains in the winter of 2013/2014 was to implement a syndromic surveillance scheme for the early detection of emerging health risks and for the issuing of alerts. After two years of collective efforts within the framework of the National epidemiological surveillance platform for animal health (ESA Platform), a tool called the Observatory of mortality and weakening in honeybee populations (Omaa) will soon be deployed on an experimental basis for a duration of two years in two regions of France: Brittany and Pays de la Loire.

Keywords

Omaa, Honeybee, mortality, weakening, observatory, surveillance

Pendant l'hiver 2013/2014, des mortalités hivernales importantes de colonies d'abeilles ont été constatées dans la chaîne pyrénéenne. Cet événement a contribué à mettre en évidence certaines lacunes des dispositifs de surveillance sanitaire apicole en place et a conduit, sous l'impulsion du plan ministériel de développement durable de l'apiculture, à l'engagement de réflexions collectives. Plusieurs actions ont alors été définies : une extension de la surveillance des mortalités massives aiguës aux événements survenant durant la période hivernale (note de service DGAL/SDQPV/2014-899⁽¹⁾), le lancement d'une étude épidémiologique intitulée Bapesa visant à explorer les effets non-intentionnels des produits biocides et antiparasitaires utilisés en élevage sur la santé des colonies d'abeilles, et la mise en place d'un Observatoire des mortalités et des affaiblissements de l'Abeille mellifère (Omaa). Ce dernier projet est né du constat que les dispositifs de surveillance alors en place ne permettaient pas de détecter ni d'émettre une alerte rapide lors de recrudescences dans le temps et dans l'espace d'événements de santé de faible à moyenne intensité touchant les colonies d'abeilles. Pour pallier à cette difficulté, il a été décidé la mise en place d'un outil de surveillance syndromique⁽²⁾ dans la filière apicole.

Cet article présente le résultat du travail collectif de construction de l'Omaa, ainsi que les modalités de son prochain déploiement à titre expérimental dans deux régions.

Objectifs de l'Omaa

L'Omaa a pour objectifs de faire l'inventaire et l'analyse de la dynamique spatio-temporelle des mortalités et des affaiblissements des colonies en France, dans le but de détecter des dégradations de l'état de santé du cheptel apicole français et d'alerter les gestionnaires du risque.

Les objectifs spécifiques de l'Omaa sont :

- de répondre aux attentes des pouvoirs publics en alertant précocement les autorités compétentes (ministère en charge de l'Agriculture) en cas de suspicion de danger sanitaire de première catégorie, en cas de mortalités massives aiguës, ou lors d'augmentations inhabituelles de mortalités ou d'affaiblissements des colonies,
- de répondre aux attentes des apiculteurs dans le domaine sanitaire en contribuant au développement d'un ou plusieurs protocoles d'investigation harmonisés au niveau national permettant d'améliorer la compréhension des événements de mortalités ou d'affaiblissements.

L'observatoire est destiné à l'ensemble des acteurs de la santé des abeilles et plus largement de la santé environnementale : apiculteurs, vétérinaires, laboratoires, administrations, agences d'évaluation des risques sanitaires, instituts techniques et de recherche. Les données collectées devront permettre le suivi et l'analyse des signaux relatifs aux dangers sanitaires et toxicologiques menaçant l'abeille mellifère sur le territoire français, et devront permettre de produire des informations à des fins d'évaluation ou de gestion du risque.

Construction de l'Omaa

Organisation de la construction de l'Omaa

Le gestionnaire de l'Omaa est la Direction générale de l'Alimentation (DGAL) du ministère en charge de l'Agriculture. Elle en définit les règles de fonctionnement, la mise en place, la publication des

protocoles de centralisation et d'agrégation des données, la gestion des ressources humaines et financières.

L'animation de la construction de l'Omaa a été confiée par la DGAL à l'Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation (Itsap-Institut de l'abeille, dénommé Itsap dans la suite de l'article), qui reçoit une subvention de la DGAL et de l'Union européenne (Fonds européen agricole de garantie (Feaga)) pour mener cette action (subvention accordée dans le cadre du programme apicole européen⁽³⁾).

Les discussions techniques ont débuté en mars 2015 et sont menées dans le cadre de la Plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale (Plateforme ESA <https://www.plateforme-esa.fr/>) au sein d'un *groupe projet* : ce groupe a pour mission de définir la méthodologie de l'Omaa grâce à l'expertise technique et l'expérience de ses membres. Il est composé d'experts de l'Anses⁽⁴⁾, de GDS France⁽⁵⁾, de la Fnosad⁽⁶⁾, de la SNGTV⁽⁷⁾, des DDecPP⁽⁸⁾, des Sral⁽⁹⁾, de la DGAL, des ADA⁽¹⁰⁾ et de l'Itsap. Ce groupe est coordonné par l'Itsap (préparation des documents de travail, organisation des réunions, ordre du jour) en lien étroit avec la DGAL. Ce groupe se réunit une à deux fois par mois.

Les résultats des travaux sont présentés et les discussions d'ordre stratégique sont menées dans le cadre du comité d'experts apicole du Cnopsav⁽¹¹⁾. Ce comité, composé d'environ 25 organisations, se réunit tous les semestres.

Principes de fonctionnement de l'Omaa

L'Omaa collectera et exploitera les données de mortalités et d'affaiblissements affectant les colonies d'une seule espèce, l'Abeille mellifère (*Apis mellifera* L.), toutes étiologies confondues, à savoir des dangers sanitaires de première catégorie, de deuxième catégorie (arrêté du 29 juillet 2013⁽¹²⁾) ou non catégorisés, des dangers chimiques (ex : produits phytopharmaceutiques), ou d'autres causes de nature environnementale ou liées à des pratiques apicoles.

À cette fin, l'Omaa devra établir un lien avec l'ensemble des dispositifs de surveillance existant pour les dangers sanitaires susceptibles de provoquer des mortalités et des affaiblissements des colonies d'abeilles mellifères.

Organisation générale

L'Omaa va offrir la possibilité à un apiculteur constatant un événement de santé sur un de ses ruchers de le déclarer par téléphone au guichet unique de l'Omaa qui en fera une analyse pour orienter le cas vers le dispositif d'investigation approprié (Figure 1).

Ce guichet unique téléphonique sera placé à l'échelon régional ou départemental. Les personnes en charge de chacun des guichets uniques, appelées « répartiteurs », auront pour principales missions :

- de réceptionner les déclarations concernant les événements de santé constatés dans les ruchers de la région ou du département. Le service assuré par le guichet unique sera continu, permettant à un apiculteur (ou un intermédiaire tel qu'une organisation professionnelle ou un vétérinaire apicole) de réaliser une déclaration téléphonique tout au long de l'année dès constatation d'un

(3) Décision du directeur général de FranceAgriMer INTV-SANAEI-2016-48 du 27 décembre 2016.

(4) Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

(5) Fédération nationale des groupements de défense sanitaire.

(6) Fédération nationale des organisations sanitaires apicoles départementales.

(7) Société nationale des groupements techniques vétérinaires.

(8) Direction départementale en charge de la protection des populations.

(9) Service régional de l'Alimentation.

(10) Fédération nationale des associations régionales de développement de l'Apiculture.

(11) Comité national d'orientation de la politique sanitaire animale et végétale.

(12) Arrêté du 23 décembre 2009 établissant les mesures de police sanitaire applicables aux maladies réputées contagieuses des abeilles et modifiant l'arrêté interministériel du 11 août 1980 relatif à la lutte contre les maladies réputées contagieuses des abeilles.

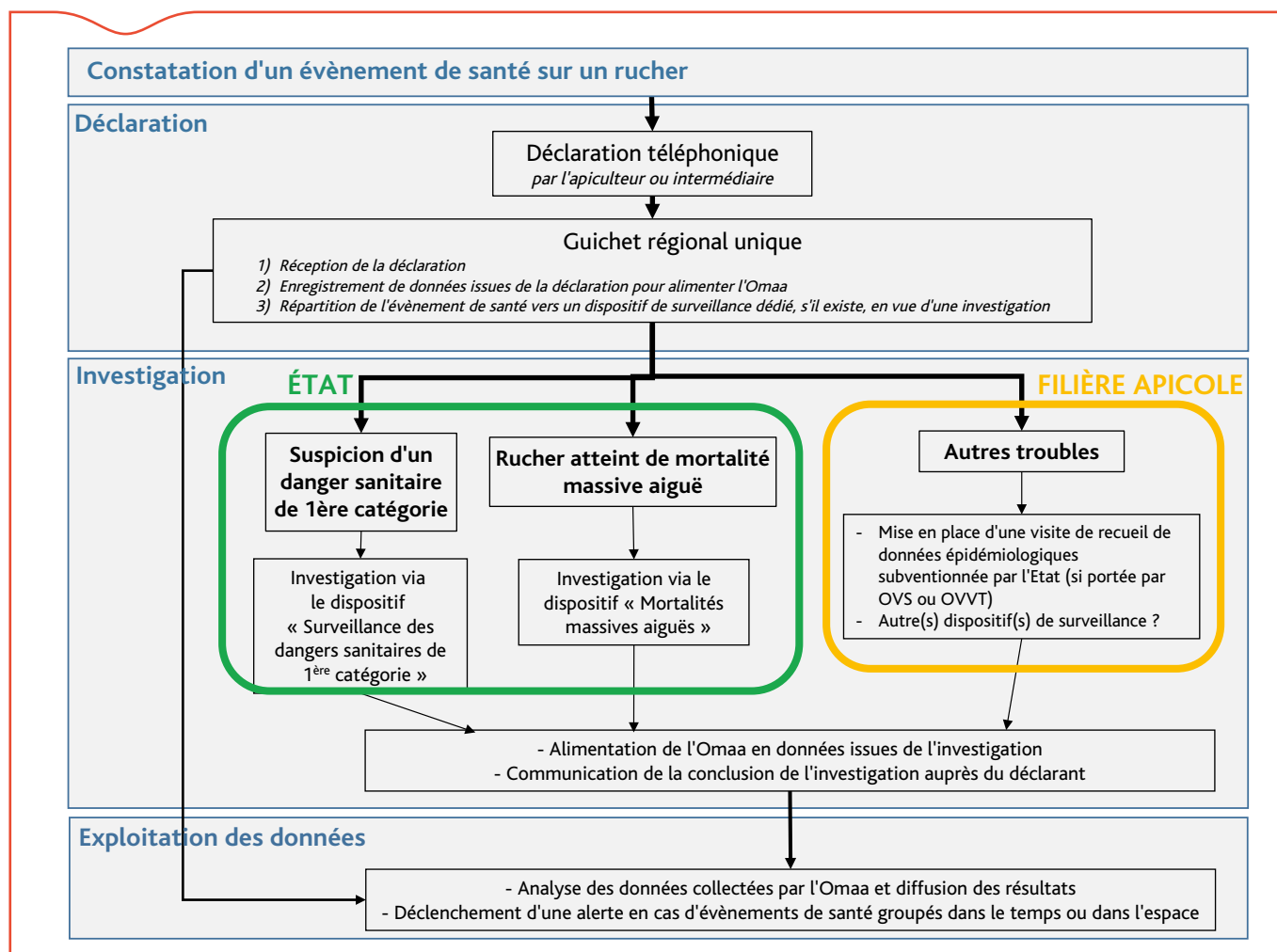


Figure 1. Organisation de la surveillance des mortalités et des affaiblissements des colonies d'abeilles mellifères (OVS = organisme à vocation sanitaire; OVVT = organisation vétérinaires à vocation technique)

événement de santé. Le répartiteur sera à l'écoute de l'apiculteur et en capacité de répondre à l'ensemble des questions relatives à l'Omaa,

- de recueillir des données concernant l'évènement de santé lors de la déclaration. Les répartiteurs seront amenés, à partir des échanges téléphoniques qu'ils auront avec les déclarants, à renseigner une fiche de déclaration constituant un socle commun de données à collecter. Cette fiche de déclaration est accompagnée d'une notice d'accompagnement. Ces deux documents ont pour vocation à standardiser le recueil des informations par les répartiteurs (ce qui permet de suivre notamment les recommandations de l'avis de l'Anses relatif aux co-expositions des abeilles aux facteurs de stress du 30 juin 2015 (Anses, 2015)). Certaines données recueillies lors de la déclaration feront l'objet d'une analyse populationnelle par l'Omaa,
- d'orienter les événements de santé vers un dispositif de surveillance dédié, en vue d'une investigation. Un arbre décisionnel sera mis à la disposition du répartiteur pour accomplir cette tâche. À l'issue de l'échange, si l'évènement de santé décrit entre dans le champ d'un dispositif de surveillance existant, le répartiteur proposera à l'apiculteur, après lui avoir présenté la nature du dispositif et la répartition des coûts liés à l'investigation, de le mettre en relation avec le gestionnaire du dispositif de surveillance dédié. Le cas échéant, c'est le gestionnaire du dispositif de surveillance (à qui le répartiteur aura transmis le dossier lié à l'évènement de santé) qui prendra contact avec l'apiculteur pour programmer et mettre en œuvre une investigation au rucher de l'évènement de santé, qui le tiendra informé de l'avancée de son dossier (notamment obtention des résultats des examens complémentaires) et qui lui communiquera les conclusions de l'investigation.

Les répartiteurs seront choisis sur la base de leurs connaissances en apiculture et en pathologie apicole pour assurer ces missions.

L'Omaa va ainsi pouvoir recueillir et compiler des données issues: i) des déclarations d'apiculteurs au guichet unique, et ii) des investigations mises en œuvre par les différents gestionnaires de dispositifs de surveillance. Ces données feront l'objet d'une analyse populationnelle par l'Omaa qui sera en capacité d'émettre des alertes précoces en cas de recrudescence d'évènements de santé dans le temps ou dans l'espace. Des synthèses de ces analyses seront régulièrement diffusées (Figure 1).

Dispositifs de surveillance susceptibles d'alimenter l'Omaa en données issues des investigations

L'Omaa n'est pas un dispositif de surveillance en lui-même: il s'appuie sur des dispositifs de surveillance existants, et permet la centralisation et la mutualisation des données recueillies dans le cadre de ces dispositifs lors des investigations.

Deux dispositifs de surveillance événementielle mis en œuvre par l'État sont susceptibles d'alimenter immédiatement l'Omaa en données issues des investigations:

- le dispositif de surveillance des dangers sanitaires de première catégorie (DS1). Quatre dangers sanitaires de l'Abeille domestique sont classés DS1: *Paenibacillus larvae*, *Nosema apis*, et les dangers sanitaires exotiques *Aethina tumida* et *Tropilaelaps spp.* (arrêté du 29 juillet 2013⁽¹³⁾). Tout apiculteur (ou toute autre personne) qui détecte ou suspecte l'apparition d'un DS1 est tenu d'en informer

(13) Arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales.

immédiatement l'autorité administrative (article L201-7 du code rural et de la pêche maritime). Le guichet unique de l'Omaa a pour vocation de recueillir ces déclarations. Lorsqu'un évènement de santé déclaré à l'Omaa correspond à une suspicion de DS1, l'apiculteur est informé par le répartiteur du guichet unique de la transmission du dossier de déclaration au gestionnaire du dispositif de surveillance des DS1 : la DDecPP, qui mettra en œuvre une visite du rucher visant à confirmer ou infirmer la présence d'un DS1 (arrêté du 23 décembre 2009⁽¹⁴⁾). Les visites mises en œuvre dans ce cadre sont conduites par des agents de l'État ou par des vétérinaires mandatés (note de service DGAL/SDSPA/2016-233⁽¹⁵⁾). Les frais de visites et d'analyses sont à la charge de l'État,

- le dispositif de surveillance des mortalités massives aiguës. Ce dispositif, défini par la note de service DGAL/SDQPV/2014-899⁽¹⁶⁾, a pour objectif de détecter d'éventuels DS1 ou des mésusages de produits phytosanitaires ou vétérinaires. Le répartiteur informera l'apiculteur que son dossier est transmis à la DDecPP, qui le recontactera dans les meilleurs délais pour programmer une investigation. Les investigateurs mobilisés dans le cadre de ce dispositif pour mener les visites de ruchers sont soit des agents de l'État, soit des vétérinaires compétents en apiculture et en pathologie apicole, soit des techniciens sanitaires apicoles (note de service DGAL/SDSPA/2016-233). Des agents de la Draaf peuvent par ailleurs être mobilisés en cas de suspicion d'intoxication pour la mise en œuvre d'une enquête phytosanitaire. Les coûts des analyses toxicologiques et de confirmation d'un danger sanitaire de première catégorie sont à la charge de l'État. Les éventuelles autres analyses sont à la charge de l'apiculteur. Ce dispositif de surveillance a fait l'objet d'une évaluation par l'Anses au premier semestre 2017 (voir l'article de Hendrikx et al., dans ce même numéro).

Il n'y a actuellement pas de dispositif de surveillance collectif couvrant les évènements de santé qualifiés d'« autres troubles » (Figure 1) (correspondant ni à des suspicions de DS1, ni à des mortalités massives aiguës). La mise en place de tels dispositifs est de la responsabilité de la filière apicole et reste à préciser; elle pourrait contribuer à alimenter l'Omaa en données sanitaires et répondre aux problématiques des apiculteurs en cas de troubles dans leurs ruchers. Des passerelles peuvent par ailleurs exister entre les différents dispositifs de surveillance pour aboutir à l'identification du problème sanitaire en cause.

Dans le but de standardiser le recueil d'informations, d'harmoniser les pratiques et d'obtenir des données de qualité, une fiche d'investigation accompagnée d'une notice a été produite par le groupe projet et a pour vocation à être proposée aux différents services instructeurs mettant en œuvre des investigations. Aussi, le groupe projet travaille actuellement à l'élaboration d'un document de préconisations, à destination des investigateurs, concernant les modalités de prélèvement de matrices apicoles, de conservation et d'acheminements vers les laboratoires d'analyses.

Collecte, analyse des données et diffusion des résultats

L'Omaa sera alimenté en données issues des déclarations d'apiculteurs aux guichets uniques et des investigations. La mise en place d'un système d'information est programmée pour faciliter la collecte, la transmission, la centralisation et l'exploitation des données. L'Omaa réalisera une analyse populationnelle de ces données et sera en capacité d'émettre des alertes, sous réserve de disposer d'un nombre suffisant de déclarations (à destination de l'État et

d'éventuels autres gestionnaires du risque), en cas de recrudescence d'évènements de santé dans le temps ou dans l'espace. Des synthèses seront régulièrement produites et diffusées (apiculteurs, vétérinaires, laboratoires, administrations, agences d'évaluation des risques sanitaires, instituts techniques et de recherche, etc.).

Mise en œuvre d'un déploiement pilote de l'Omaa

Objectif

L'objectif de la phase pilote de l'Omaa est de tester sur deux années le dispositif tel qu'il a été conçu par les groupes de travail nationaux dans deux à trois régions françaises (régions pilotes) sous plusieurs configurations organisationnelles afin de vérifier son opérationnalité, d'évaluer s'il répond aux objectifs qui lui ont été assignés, et d'identifier les voies d'amélioration en vue de son éventuel déploiement à l'échelle nationale.

Organisation et mise en place de la phase pilote

Les régions Bretagne et Pays de la Loire ont été choisies par la DGAL comme régions pilotes sur des critères à la fois de motivation des acteurs (secteur apicole, vétérinaires, État), de présence d'un OVS et/ou d'une OVVT engagés en filière apicole, et de l'implication des services de l'État (DDecPP et Sral) dans le domaine sanitaire apicole. La région Auvergne-Rhône-Alpes a également été identifiée comme une région pilote potentielle. La DGAL évalue actuellement avec le Sral les modalités de mise en place de l'Omaa dans cette région.

Au niveau national, la phase expérimentale suivra la même organisation que le développement méthodologique du projet : co-coordination par la DGAL et l'Itsap, suivi par le groupe projet et le groupe de suivi « abeilles » de la Plateforme ESA, échanges d'ordre stratégique dans le cadre du comité d'experts apicole du Cnopsav.

L'animation des activités de l'observatoire au niveau régional sera assurée par un coordinateur basé au niveau du Sral. Ce coordinateur assurera également le relai des informations (ascendantes et descendantes) entre les intervenants de terrain et les coordinateurs nationaux. Les guichets uniques seront placés sous la responsabilité de l'État pendant la durée de la phase expérimentale : ce sont soit des agents de l'État qui réaliseront les missions de guichet unique, soit des agents des OVS, soit des agents des OVVT dans le cadre de missions confiées (article L. 201-9 du code rural et de la pêche maritime). Pendant la phase pilote, que ce soit en région Bretagne ou en région Pays de la Loire, la mise en œuvre des guichets uniques régionaux de l'Omaa sera confiée à l'OVVT régional.

La phase préparatoire de la phase pilote de l'Omaa a consisté :

- en la présentation, par l'Itsap et la DGAL, du dispositif Omaa et des objectifs du déploiement pilote dans chacune des régions pressenties pour accueillir cette phase. Les acteurs apicoles, les vétérinaires et les administrations locales étaient conviés à ces réunions et ont pu exprimer leurs attentes et leurs questionnements. Ces réunions ont permis d'adapter le déploiement de la phase pilote au contexte apicole de chacune des régions,
- en la formation, par l'Itsap et la DGAL, des acteurs régionaux de l'Omaa que sont le coordinateur régional, les répartiteurs du guichet unique et les investigateurs susceptibles d'alimenter l'Omaa en données. Ces acteurs ont notamment été sensibilisés au fait qu'il est attendu d'eux qu'ils fassent des propositions pour améliorer le dispositif, en vue de son déploiement national.

De nombreuses interactions entre acteurs régionaux se sont tenues pour organiser les déploiements régionaux de l'Omaa.

L'ouverture des guichets uniques régionaux, qui devrait intervenir au cours du dernier trimestre 2017 en région Bretagne et Pays de la Loire, lancera la phase pilote.

(14) Arrêté du 23 décembre 2009 établissant les mesures de police sanitaire applicables aux maladies réputées contagieuses des abeilles et modifiant l'arrêté interministériel du 11 août 1980 relatif à la lutte contre les maladies réputées contagieuses des abeilles.

(15) Note de service DGAL/SDSPA/2016-233 du 15/03/2016 : Apiculture : missions des vétérinaires et des techniciens sanitaires apicoles (TSA).

(16) Note de service DGAL/SDQPV/2014-899 du 14/11/2014 : Surveillance des mortalités massives aiguës et des maladies, classées dangers sanitaires de première catégorie des abeilles.



Figure 2. Affiche de l'Omaa Pays de la Loire (le numéro de téléphone unique au niveau régional qui permet à tout apiculteur (ou à un intermédiaire) de réaliser une déclaration a été flouté dans le cadre de cet article)

Une campagne de communication à destination des apiculteurs sera lancée concomitamment à l'ouverture des guichets uniques. Les supports de communication constitués d'une affiche (Figure 2) et d'un article de presse ont été élaborés au niveau national. Les différentes organisations apicoles régionales ou départementales seront sollicitées pour relayer l'information le plus largement possible au sein de leur réseau. Il est également envisagé d'envoyer un courriel d'information à tous les apiculteurs des régions concernées, recensés via la déclaration de ruches⁽¹⁷⁾.

Financement de la phase pilote

Deux actions permettant la mise en œuvre de la phase pilote en région seront financées pour 50 % par des fonds nationaux versés par les Draaf, et pour 50 % par des fonds européens (Feaga) dans le cadre du programme apicole européen :

- la mise en œuvre des guichets uniques régionaux de l'Omaa (par les OVVT des régions Bretagne et Pays de la Loire),
- la mise en œuvre de visites de recueil de données épidémiologiques en appui à l'Omaa dans le cadre des affaiblissements. Cette visite a pour vocation d'alimenter l'Omaa en données épidémiologiques concernant les événements de santé de la catégorie « autres troubles » ayant fait l'objet d'une déclaration au guichet unique de l'Omaa et d'apporter des conseils aux apiculteurs. La visite mise en œuvre par une personne reconnue compétente en apiculture et en pathologie apicole, peut être subventionnée dans ce cadre,

(17) Tout apiculteur est tenu de réaliser une déclaration de ruches (article 33 de la loi 2009-967 du 3 août 2009 de programmation relative à la mise en œuvre du Grenelle de l'environnement et l'article 11 de l'arrêté du 11 août 1980 relatif au dispositif sanitaire de lutte contre les maladies des abeilles).

à raison d'une visite par an et par apiculteur. Le coût des analyses de laboratoire n'est cependant pas éligible. L'OVVS ou l'OVVT de chacune des régions menant la phase pilote (un bénéficiaire par région) peuvent déposer un dossier de candidature répondant à ce cadre selon les modalités définies par FranceAgriMer pour faire subventionner leur action.

Conclusion

L'Omaa est un dispositif novateur qui doit contribuer à améliorer la connaissance des événements de santé qui affectent les colonies d'abeilles mellifères. Pour que cet observatoire soit une réussite, une implication collective est nécessaire. L'apiculteur est en particulier un acteur majeur du dispositif, étant donné l'observation régulière qu'il peut réaliser sur ses colonies et sa capacité à déclarer en temps réel tout événement de santé rencontré au guichet unique de l'Omaa. L'Omaa devrait permettre de contribuer à renforcer les relations entre les différents acteurs locaux du sanitaire (agents des administrations, vétérinaires, techniciens sanitaires apicoles, personnels des laboratoires d'analyses, personnels des différentes organisations sanitaires,...) ce qui devrait mener au renforcement des investigations en cas d'événements de santé, source de données de qualité pour l'Omaa. Tous ces acteurs seront amenés à apporter leur contribution pour faire évoluer et améliorer le dispositif durant la phase pilote.

Enfin, l'Omaa est susceptible, à terme, d'établir des liens avec des dispositifs de surveillance non strictement apicoles, tel que le dispositif de phyto-pharmacovigilance mis en œuvre par l'Anses (Anses, 2017).

Remerciements

Nous remercions sincèrement les membres du groupe projet de l'Omaa: Quentin Bicego (GDS France), Anne Bronner (DGAL - coordinatrice adjointe de la Plateforme ESA), Axel Decourtye (Itsap-Institut de l'Abeille), Florentine Giraud (Fnosad), Marion Guinemer (ADA-AURA), Pascal Hendrixx (Anses), Marion Laurent (Anses), Muriel Orłowski (DDecPP de la Drôme), Cédric Sourdeau (Sral des Pays-de-la-Loire) et Gerald Tondreau Therville (SNGTV) pour leur investissement dans le projet.

Références bibliographiques

- AEEMA (2017) Surveillance syndromique. Terminologie en épidémiologie animale. <http://aeema.vet-alfort.fr/index.php/component/glossary/Glossaire-1/S/SURVEILLANCE-SYNDROMIQUE-316/> (accédé le 3/11/2017)
- Anses (2015) Co-exposition des abeilles aux facteurs de stress. Avis de l'Anses. Saisine n° 2012-SA-0176. Rapport d'expertise collective. Juillet 2015. 268 p.
- Anses (2017) La phytopharmacovigilance, un dispositif de surveillance des effets indésirables des produits phytopharmaceutiques. <https://www.anses.fr/fr/content/la-phytopharmacovigilance> (accédé le 3/11/2017)

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Le petit coléoptère des ruches (*Aethina tumida*): situation trois ans après sa détection en Italie en 2014

Stéphanie Franco (1)*, Marie-Pierre Chauzat (1,2), Marion Laurent (1), Véronique Duquesne (1), Pascal Hendrikx (2)

*Auteur correspondant: stephanie.franco@anses.fr

(1) Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis, Unité Pathologie de l'abeille, Sophia Antipolis, France

(2) Université de Lyon-Anses, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, Lyon, France

Résumé

Le petit coléoptère des ruches (*Aethina tumida*) est un agent ravageur des colonies d'abeilles, originaire d'Afrique sub-saharienne. Depuis une vingtaine d'années, il a été disséminé dans plusieurs pays à travers le monde, occasionnant des pertes importantes pour l'apiculture. *A. tumida* a été détecté dans le sud de l'Italie (région de Calabre) en 2014.

Les données de surveillance de 2016 et 2017 montrent qu'il circule toujours dans les zones infestées, après trois ans de mesures d'éradication et de contrôle. A la date du 5 septembre 2017, deux foyers ont en effet été détectés sur la côte ionienne, étendant de 10 km le rayon de la zone de protection mise en place en Calabre. Sa dispersion demeure cependant limitée à la Calabre. Les informations issues de la surveillance permettent de tirer des enseignements et d'entrevoir des perspectives quant à l'évolution du dispositif déployé par les autorités sanitaires face à cette introduction du petit coléoptère des ruches en Italie.

L'absence de nouveaux foyers en Sicile depuis le cas unique détecté en 2014 montre notamment l'efficacité d'une détection et d'un assainissement précoces en zone indemne.

Mots-clés

Aethina tumida, petit coléoptère des ruches, abeille mellifère, Italie

Abstract

The small hive beetle (*Aethina tumida*): situation three years after its first detection in Italy in 2014

*The small hive beetle (*Aethina tumida*) is a pest of honey bee colonies, originating from sub-Saharan Africa. Over the past two decades, it has spread to several countries around the world, causing major losses to beekeeping. *A. tumida* was detected in southern Italy (Calabria region) in 2014.*

Surveillance data for 2016 and 2017 show that it is still circulating in infested areas despite three years of eradication and control measures. As of September 5, 2017, two outbreaks have been detected on the Ionian coast, extending by 10 km the radius of the protection zone set up in Calabria. However, its dispersion remains limited to Calabria.

Surveillance results enable to draw lessons and to glimpse perspectives on the evolution of the control measures deployed by health authorities to face the introduction of the small hive beetle in Italy.

The absence of new outbreaks in Sicily since the single case detected in 2014 demonstrates the effectiveness of early detection and sanitation in a free area.

Keywords

Aethina tumida, Small hive beetle, Honey bee, Italy

Le petit coléoptère des ruches (*Aethina tumida*) est un agent ravageur des colonies d'abeilles mellifères. Originaire d'Afrique sub-Saharienne, il a été introduit dans différentes régions du monde au cours des vingt dernières années, probablement du fait des échanges internationaux. *A. tumida* cause des dégâts pour l'apiculture dans les régions où il a été introduit; il entraîne notamment des affaiblissements et mortalités de colonies d'abeilles, ainsi que des pertes de productions liées à la fermentation du miel.

Hormis dans sa zone d'origine, *A. tumida* a été détecté pour la première fois aux États-Unis en 1998 où il est actuellement bien établi (voir l'article de Kulhanek et vanEngelsdorp dans ce numéro). Il a également été introduit au Canada, dans plusieurs pays de la Caraïbe, d'Amérique Centrale et d'Amérique du Sud, en Asie (Corée du Sud et Philippines) et en Océanie (Australie) (Lee et al., 2017, Organisation mondiale de la santé animale (OIE) 2017) (Figure 1). Le petit coléoptère des ruches a par ailleurs été mis en évidence en Egypte en 2000, mais ne semble pas s'y être installé (Neumann et al., 2016). Il a aussi été détecté au Portugal en 2004 dans des cages à reines d'abeilles importées du Texas. Les mesures d'éradication mises en place très précocement, ainsi que le faible nombre de spécimens présents dans les lots, ont probablement permis alors d'éviter son implantation en Europe (Murilhas, 2005).

Jusqu'alors absent dans l'Union européenne, *A. tumida* a été détecté pour la première fois dans des ruchers en Calabre, au sud de l'Italie, en septembre 2014 (Palmeri et al., 2015). Depuis, plusieurs dizaines de foyers sont confirmés chaque année dans cette région, en dépit des mesures de prophylaxie déployées par les services officiels.

Bilan de la surveillance officielle mise en place en Italie en 2016 et 2017

Modalités de surveillance

En conformité avec la réglementation européenne, la découverte d'un cas d'infestation par le petit coléoptère des ruches entraîne la mise en place d'une zone de surveillance de 100 km de rayon autour du foyer. Une zone de protection, de taille inférieure, est également mise en place par les autorités sanitaires dans un but de confinement. Son rayon est notamment déterminé en fonction du contexte épidémiologique. Les modalités de surveillance sont différentes selon chacune de ces zones.

Ainsi en Italie, depuis 2014, la détection de nouveaux foyers a conduit à l'élargissement des zones de protection et de surveillance (Figure 2). Face à la découverte de nouveaux cas en 2015 dans la zone épizootique de 2014, les modalités et les objectifs de la surveillance ont évolué, *A. tumida* y étant considéré comme installé. D'une stratégie initiale visant à détecter l'ensemble des foyers dans les zones de protection dans un objectif d'éradication, le dispositif a été déployé à partir de 2016 dans le but d'objectiver la circulation du petit coléoptère des ruches dans ces zones et de limiter sa dispersion (Mutinelli et Maroni Ponti, 2017).

Comme les années précédentes, le dispositif mis en place en 2016 et 2017 a reposé en premier lieu sur une surveillance événementielle, basée sur la déclaration obligatoire des cas par les apiculteurs sur l'ensemble du territoire italien, quelle que soit la zone considérée.

Par ailleurs, la surveillance a reposé sur l'inspection programmée de ruchers dans les zones de protection et de surveillance instaurées en Calabre et en Sicile. Le dispositif comprenait également la visite de ruchers sur le reste du territoire italien. Contrairement aux années précédentes, la surveillance conduite dans les zones de protection en 2016 et en 2017 a été effectuée sur un échantillon de ruchers sélectionnés de façon aléatoire, et non plus systématique comme en 2014 et en 2015. Dans la zone de surveillance et dans le reste de l'Italie, les visites ont également été ciblées sur un échantillon de

ruchers. Les objectifs d'échantillonnage étaient différents selon les zones. Ainsi, le nombre de ruchers sélectionnés visait à détecter une prévalence supérieure à 5 % dans les zones de protection, de 2 % dans la zone de surveillance et de 2 % au niveau national (avec un niveau de confiance de 95 %) (Mutinelli, 2017).

En complément, des sites sentinelles ont été installés dans les zones de protection sur le site des foyers assainis, ainsi qu'à l'intérieur et en périphérie de ces zones. Ces sites étaient constitués de deux *nuclei*⁽¹⁾ et faisaient l'objet d'un suivi régulier tous les 15 jours par des vétérinaires officiels.

Enfin, en 2016, des investigations ont à nouveau été conduites en Calabre afin de mettre en évidence la présence éventuelle d'*A. tumida* dans des fruits en voie de pourrissement (citrons et kiwis), denrées pouvant être attractives pour le petit coléoptère.

Résultats

En 2016, 41 foyers infestés (ruchers appartenant à des apiculteurs) ont été détectés (Figure 3). Dans l'ensemble de ces foyers, des adultes d'*A. tumida* ont été mis en évidence. Trois de ces foyers présentaient également des larves. Parmi les foyers, cinq ont été détectés dans la province de Cosenza (région de Calabre), située à environ 100 km au nord de la zone de protection mise en place dans la province de Reggio di Calabria. Quatre des ruchers concernés ont été détectés à la fin du mois de juillet 2016, le cinquième en septembre. Ces ruchers appartenaient à un même apiculteur, non déclaré auprès des autorités officielles et se situaient dans une zone de quelques kilomètres de diamètre au sud de la province de Cosenza. Dans un de ces quatre ruchers, des centaines de larves d'*A. tumida* ont été mises en évidence lors de l'examen des colonies. Cet apiculteur avait transhumé ses ruches illégalement dans la zone de protection située dans la province de Calabre.

Les foyers identifiés dans la province de Reggio di Calabria en 2016 ont été principalement détectés en septembre et en octobre. L'ensemble des cas a été déclaré par les apiculteurs dans le cadre de la surveillance événementielle. Un essaim naturel infesté a été détecté au cours du mois de décembre dans la zone de protection de Reggio di Calabria. Six sites sentinelles se sont également révélés positifs dans cette province sur les 45 sites sentinelles de la région (Figure 3). La surveillance de ces ruchers a permis de détecter le premier cas le 21 avril. Le dernier site sentinelle trouvé positif a été détecté le 25 novembre 2016. Parmi ces sites, quatre d'entre eux se sont révélés deux fois positifs au cours de la saison, après avoir été détruits et repeuplés suite à la première infestation.

En 2017, le dispositif de surveillance a également permis de mettre en évidence de nouveaux cas. A la date du 5 septembre 2017, cinq foyers ont été confirmés, dont deux concernaient des essaims naturels, par ailleurs, cinq sites sentinelles ont été infestés. Des larves ont été mises en évidence dans deux cas, dont un dans un essaim naturel qui en comportait plusieurs centaines. Bien que l'ensemble des foyers reste confiné à la région de Calabre, deux foyers ont été mis en évidence à proximité de la côte ionienne, dont un situé à environ 10 km à l'Est de la zone de protection de Gioia Tauro (ville située sur la côte ouest de la Calabre, qui fut le lieu de détection du premier foyer en 2014) (Figure 3). Ce rucher appartient à un apiculteur détenant également des colonies dans la zone de protection de Gioia Tauro. Néanmoins, les enquêtes épidémiologiques n'ont pas permis d'identifier l'origine de la contamination (Mutinelli 2017).

A la date du 5 septembre 2017, aucun nouveau cas n'a été détecté en Sicile. Les résultats de la surveillance déployée dans le reste de l'Italie n'ont par ailleurs pas mis en évidence de cas en dehors de la région de Calabre. Enfin, *A. tumida* n'a pas été détecté dans les fruits en voie de pourrissement au travers des investigations conduites en 2016.

(1) Un *nucleus* est une petite colonie d'abeilles, ayant généralement de deux à cinq cadres de couvain. Les *nuclei* servent pour l'élevage, pour le stockage des reines ou pour démarrer une nouvelle colonie.

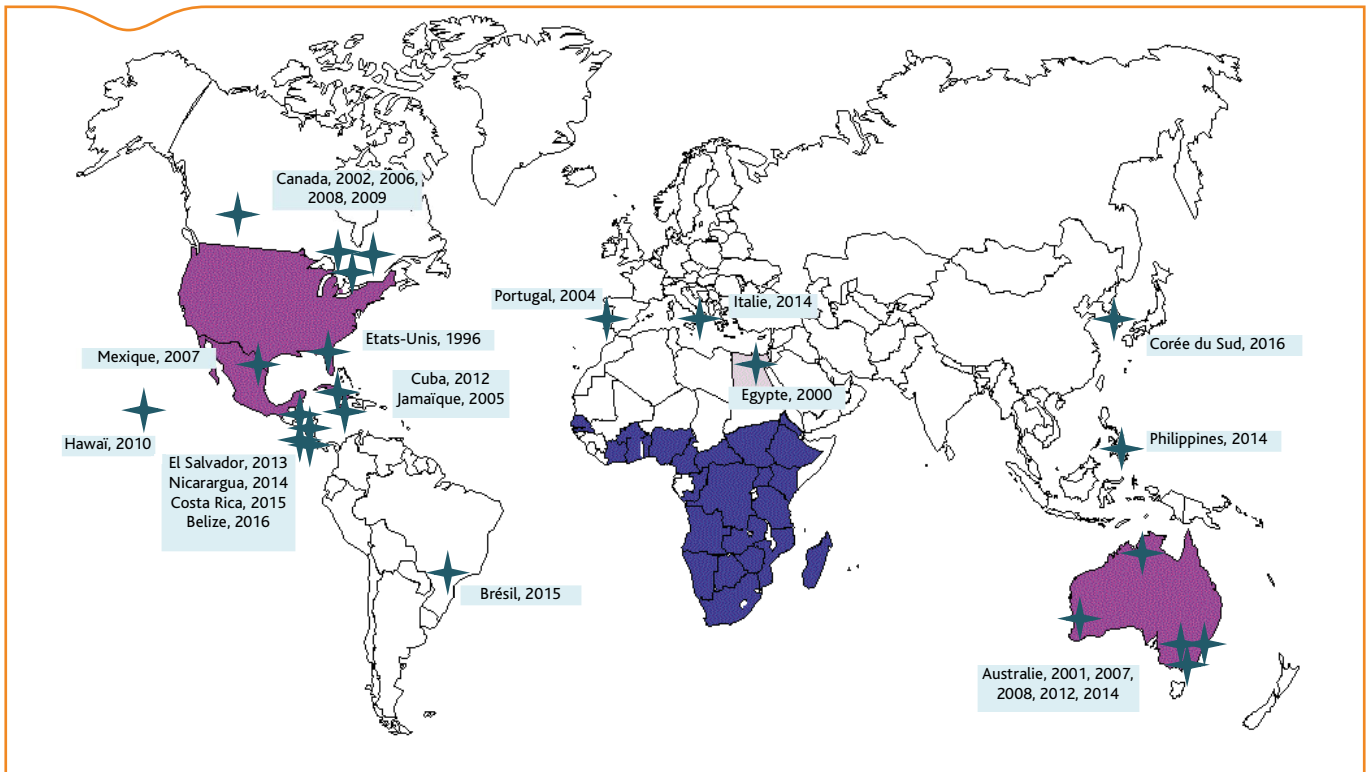


Figure 1. Distribution du petit coléoptère des ruches à travers le monde et cas d'introduction rapportés (au 18 septembre 2017) (Neumann, Pettis, and Schäfer 2016). En bleu foncé : zones de distribution endémique en Afrique sub-saharienne ; en violet : pays où des populations invasives d'*A. tumida* sont bien établies ; en violet clair : pays où des populations ne se sont pas établies (Egypte) ; étoiles bleues : cas d'introduction rapportés. (Organisation mondiale de la santé animale (OIE) 2017, Lee et al., 2017)

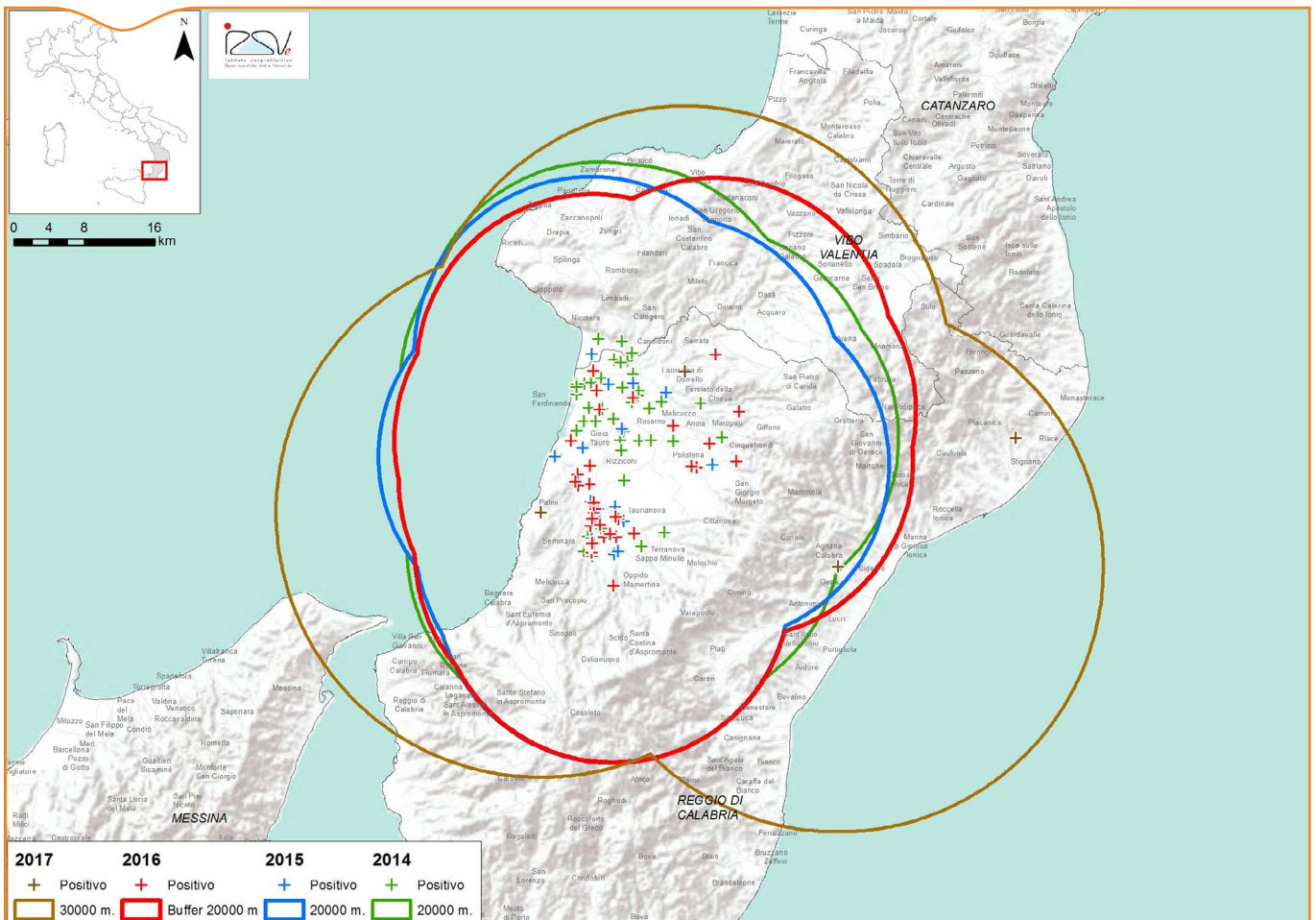


Figure 2. Localisation des foyers infestés dans la région de Calabre entre septembre 2014 et mai 2017. Zones de protection et foyers détectés pour l'année 2014 en vert, pour 2015 en bleu, pour 2016 en rouge et pour 2017 en jaune. En 2017, la zone de protection a été étendue à 30 km. (source: Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, 2017)

Bilan des mesures de gestion instaurées par les autorités officielles

En 2016 et en 2017, la stratégie d'assainissement des ruchers infestés mise en place par les autorités italiennes a été poursuivie. Toutes les colonies présentes sur les sites des foyers et sites sentinelles positifs ont été euthanasiées et détruites par incinération. Les mesures compensatoires instaurées par le ministère italien ont indemnisé les apiculteurs touchés.

Des mesures de restriction relatives aux mouvements d'abeilles, de matériel et de produits apicoles ont été mises en place et maintenues dans les zones de protection et de surveillance instaurées dans les zones infestées.

Des mesures permettant d'éviter l'essaimage des colonies ont également été mises en place afin de limiter la persistance d'*A. tumida* dans le milieu naturel.

Évolution de la réglementation européenne

Depuis le 12 décembre 2014, plusieurs décisions communautaires ont orienté les mesures de protection vis-à-vis du petit coléoptère des ruches détecté dans le sud de l'Italie. Ces mesures reposent d'une part sur l'interdiction d'importation d'abeilles mellifères, de bourdons, de sous-produits apicoles non transformés, d'équipement apicole et de miel en rayon destiné à la consommation humaine, en provenance des zones infestées en Italie vers les autres zones de l'Union européenne. Ces décisions imposent d'autre part la mise en œuvre d'investigations épidémiologiques dans les zones infestées.

La décision d'exécution (UE) 2017/370 du 1^{er} mars 2017⁽²⁾ a étendu la période d'application de ces mesures de protection jusqu'au 31 mars 2019. Elle a également modifié la liste des zones faisant l'objet de mesures de protection. Du fait de la situation épidémiologique favorable en Sicile (un foyer isolé détecté en novembre 2014 causé par le déplacement de ruches issues de Calabre et rapidement détruit) et suite aux résultats d'une mission conduite en juin 2016 par l'Office alimentaire et vétérinaire de l'Union européenne, le coléoptère a été considéré comme éradiqué. Seule la zone de Calabre reste soumise à restrictions.

Analyse de la situation sanitaire

L'analyse de l'occurrence des foyers en Calabre suite à la première détection du petit coléoptère des ruches en 2014 témoigne de la persistance des cas dans les zones infestées, malgré les mesures d'éradication mises en œuvre (Tableau 1). Par ailleurs, l'infestation des sites sentinelles, parfois répétée, et d'essaïms naturels en Calabre montre que le petit coléoptère des ruches est présent dans l'environnement.

Les zones de protection en place dans la province de Reggio di Calabria en 2014, 2015 et 2016 étaient globalement situées dans un même secteur géographique, indiquant, d'après les données officielles, que la zone d'infestation restait confinée à une même zone (Figure 2). Les données de surveillance de 2017 montrent, en revanche une extension de l'infestation sur la côte est de la Calabre, au-delà de la zone montagneuse située au centre de la province (la zone de protection a un rayon de 30 km à la date du 5 septembre 2017). Les mesures de restriction et de gestion mises en place ainsi que des facteurs géographiques et environnementaux ont probablement restreint pour l'instant la dispersion d'*A. tumida* sur le territoire.

(2) Décision d'exécution (UE) 2017/370 de la commission du 1^{er} mars 2017 modifiant la décision d'exécution 2014/909/UE de la Commission en étendant la période d'application de certaines mesures de protection et en modifiant la liste des zones faisant l'objet de mesures de protection relatives au petit coléoptère des ruches en Italie.

S'il est considéré que le petit coléoptère des ruches a de faibles capacités de dispersion par lui-même (EFSA AHAW Panel (Panel on Animal and Welfare) 2015), les cas mis en évidence dans la province de Cosenza en 2016 soulignent l'importance des mouvements apicoles dans la dissémination du petit coléoptère des ruches et l'enjeu sanitaire des mesures de restriction qui visent à les contrôler.

Les résultats de la surveillance montrent que des larves sont détectées à l'occasion d'un faible nombre d'inspections (Tableau 1). Si l'on admet que la détection de larves, plus facile que celle des coléoptères adultes, est bien systématiquement déclarée par les apiculteurs, une explication biologique pourrait être donnée à ce constat. Certaines études ont en effet révélé que le petit coléoptère des ruches pouvait se multiplier à bas bruit, de façon cryptique dans la ruche (Spiewok et Neumann, 2006), ce qui expliquerait que les larves ne soient pas mises en évidence dans ce cas, et donc que dans la majorité des cas, les inspections ne permettraient pas de détecter un faible nombre de larves.

Au vu de la situation épidémiologique en Sicile, les autorités sanitaires italiennes et européennes ont considéré que le ravageur introduit en Sicile avait été effectivement éradiqué. L'absence de nouveau foyer depuis l'unique cas découvert en 2014 montre ainsi l'efficacité d'une détection et d'un assainissement précoces en zone préalablement indemne.

Il est à noter enfin que des remontées informelles d'acteurs de la filière apicole en Calabre font état de nombreux cas qui ne seraient pas déclarés aux autorités sanitaires (cf. échanges lors du congrès apicole européen BEECOME à Piacenza, en Italie en mars 2017), et laissent entrevoir une vision plus pessimiste de la situation sanitaire dans le Sud de la Calabre. Au vu de ces informations, certaines organisations apicoles italiennes souhaitent que la Calabre soit reconnue comme zone enzootique, ce qui donnerait lieu à une évolution de la stratégie de lutte actuellement mise en œuvre.

Origine géographique des spécimens d'*A. tumida* détectés en Italie

Des travaux sur l'origine géographique de l'introduction du petit coléoptère des ruches en Italie ont été conduits sur la base d'analyses moléculaires reposant sur le séquençage du gène de la cytochrome oxydase I. Une étude (Granato et al. 2016) montre, par alignement avec les séquences génétiques disponibles dans la base de données internationale GenBank, que les spécimens détectés en Italie diffèrent des spécimens présents aux États-Unis, en Australie ou au Canada. En effet, les coléoptères présents en Italie appartiennent à deux sous-groupes distincts, dont l'un comprend un spécimen du Cameroun, jamais encore décrit en dehors de sa zone d'origine. Ceci pose l'hypothèse de deux introductions différentes en Calabre, indépendantes, contemporaines ou non, sans qu'il soit possible à ce jour de réunir plus d'éléments sur les circonstances de ces introductions. D'après cette même étude, le coléoptère détecté en Sicile en 2014 appartient à l'un des deux sous-groupes identifiés en Calabre et son introduction en Sicile serait liée à des échanges avec la Calabre.

Au regard de l'origine africaine des spécimens d'*A. tumida*, des sites sentinelles ont été mis en place en 2017 au voisinage des ports italiens où transitent des cargaisons de bois importé d'Afrique.

Retour d'expérience sur les modalités de surveillance

Dispositif indemnitaire et surveillance événementielle

En 2016, les 35 foyers détectés à l'automne ont été notifiés par les apiculteurs. Ces déclarations ont été probablement favorisées par l'indemnisation en place en cas de destruction des colonies. Elles

Tableau 1. Bilan en date du 5 septembre 2017 des cas d'infestation par *Aethina tumida* découverts depuis septembre 2014 dans le sud de l'Italie (source: Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, 2017)

	2014	2015	2016	2017 (à la date du 5/09/2017)
Nombre de foyers détectés	59 (dont 5 avec des larves et 1 avec une nymphe)	29 (dont 1 avec des larves)	40 (dont 3 avec des larves)	3 (dont 1 avec des larves)
Nombre d'essaims naturels infestés découverts	1	0	1	2 (dont 1 avec des larves)
Nombre de ruchers sentinelles infestés*	2	2	6 (dont 1 avec une larve)	5

* Le nombre indiqué dans le tableau correspond au nombre de ruchers différents infestés. Certaines années, des ruchers sentinelles se sont révélés plusieurs fois positifs au cours de la saison.

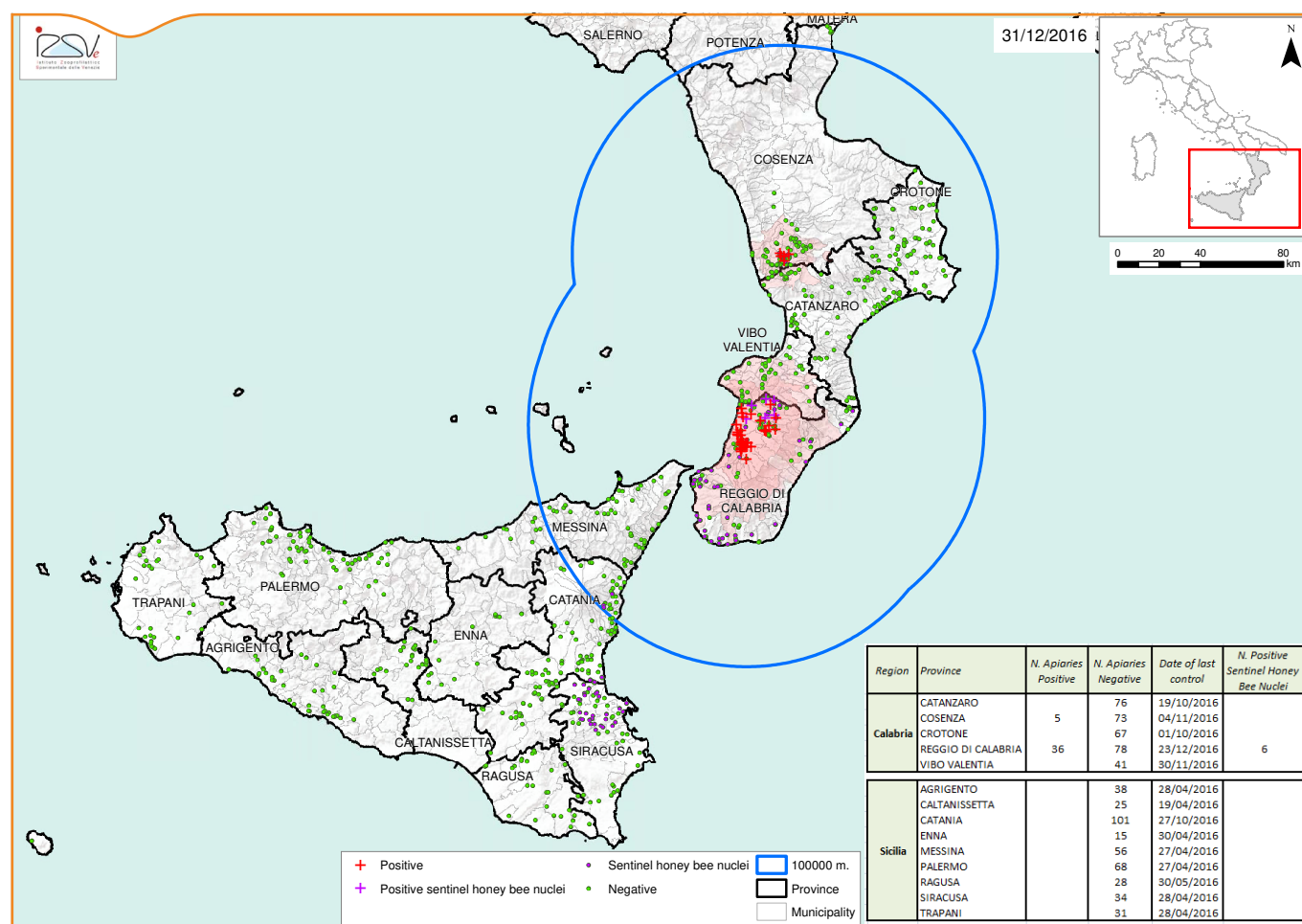


Figure 3. Zone de surveillance et foyers détectés en Calabre et en Sicile en 2016. En bleu : zone de surveillance de 100 km; croix rouges : ruchers positifs; points verts : ruchers négatifs; croix violettes : sites sentinelles positifs; points violets : sites sentinelles négatifs. (source: Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, 2017)

confirmer l'importance du dispositif indemnitaire dans l'efficacité de la surveillance événementielle.

Utilisation des pièges

Deux types de pièges ont été utilisés dans le cadre de la surveillance mise en place en Italie : des pièges en plastique alvéolé placés sur le plancher des ruches et insérés par le pas de vol (Schäfer et al., 2008) et des pièges à huile placés entre les têtes de cadres (pièges Beetle Blaster®). Ils ont notamment été disposés dans les ruchers négatifs suite aux inspections conduites dans les zones de protection.

Ces pièges se sont révélés peu efficaces dans le contexte italien (seuls quelques coléoptères adultes ont été détectés dans les pièges à huile), montrant que, dans le cadre de la surveillance, leur utilisation ne permet pas de s'affranchir de visites sanitaires reposant sur un examen visuel des colonies. En effet, des ruchers se sont révélés infestés à l'inspection visuelle alors qu'aucun coléoptère n'avait été détecté

par les pièges. Le faible niveau d'infestation des colonies pourrait expliquer ce défaut de détection. Les retours de terrain indiquent par ailleurs que les pièges ont été « propolisés » par les abeilles (colmatés à l'aide de propolis, une substance à base de résine végétale et de cire élaborée par les abeilles et qu'elles utilisent comme mortier et anti-infectieux), perdant de fait en efficacité (très rapidement pour ceux de type « Schäfer »). Les températures élevées rencontrées au cours de l'été en 2015 ont de plus sévèrement affecté les pièges alvéolés qui se sont déformés et n'adhéraient plus au plancher des ruches. Les pièges en plastique alvéolé ont également pour défaut de ne pas tuer les coléoptères qui peuvent aisément ressortir du dispositif.

L'utilisation d'autres modèles, permettant de tuer les petits coléoptères, pourrait améliorer la sensibilité de détection, en particulier dans le cadre de la surveillance des ruchers sentinelles. L'Apithor® est par exemple un piège utilisé en Australie à base d'une molécule insecticide (le fipronil). Il semble efficace et sans effets

déléteurs pour les colonies d'abeilles (Levot et al., 2015, Levot et Somerville 2012). Il est important cependant de noter que le fipronil est une molécule interdite d'utilisation dans l'Union européenne pour le traitement des abeilles (absence de LMR). Un nouveau type de piège, comportant une surface collante permettant d'immobiliser et de tuer les coléoptères, pourrait notamment constituer une alternative à l'utilisation de substances chimiques pour améliorer l'efficacité de la détection (Apis Small Hive Beetle Trap®).

La sensibilité des différents modèles de pièges dans le contexte particulier d'une introduction récente d'*A. tumida* (faible niveau d'infestation des ruchers et des colonies) reste néanmoins à évaluer.

Sites sentinelles

La surveillance programmée basée sur le suivi de sites sentinelles a permis une détection précoce d'*A. tumida* en Calabre en 2016 (dès la fin du mois d'avril) et apparaît intéressante face aux objectifs de suivi de l'infestation dans les zones du sud de l'Italie.

Détection d'*A. tumida* sur débris

Un outil de surveillance reposant sur la détection de l'ADN du petit coléoptère dans les débris recueillis sur le plancher de la ruche est en cours de validation (Ward et al. 2007). Des essais ont déjà été réalisés en Italie dans certains ruchers infestés. La sensibilité de cette méthode est un paramètre majeur à évaluer afin de connaître les performances de cette méthode qui présente l'intérêt d'être peu invasive face aux enjeux de la surveillance.

Perspectives: d'une stratégie d'éradication vers une stratégie de contrôle ?

Suite à la détection du premier foyer en 2014, les mesures de gestion des foyers instaurées par les autorités sanitaires italiennes se sont inscrites dans une stratégie drastique d'éradication.

Les résultats de la surveillance en Italie montrent, dans le contexte sanitaire spécifique d'*A. tumida* dans le sud de la Calabre, la persistance de l'infestation malgré le dispositif d'assainissement mis en place. Il est à noter que cette persistance est probablement en lien avec la détection tardive des foyers et, de fait, avec le délai de mise en œuvre des mesures de lutte. Ces résultats pourraient faire évoluer ces mesures vers une stratégie de contrôle, visant à diminuer le nombre de foyers dans les zones infestées afin, d'une part, de limiter l'impact sanitaire et économique de l'infestation et, d'autre part, de limiter la dispersion d'*A. tumida* dans le reste de l'Italie et, plus largement, dans l'Union européenne. En effet, le passage à une stratégie plus axée sur le contrôle qui suspendrait notamment les mesures de destruction totale des ruchers pourrait peut-être permettre d'identifier plus exhaustivement les foyers (du fait d'une meilleure acceptabilité par les apiculteurs) et de rendre le dispositif plus efficace.

Différents scénarii ont été envisagés par le ministère italien en fonction de l'évolution de la situation sanitaire et ont été présentés lors du congrès Beecome en mars 2017. Les organisations apicoles italiennes ont également travaillé sur un document destiné à être

soumis aux autorités sanitaires italiennes, visant à faire reconnaître la Calabre comme zone endémique. Ce document fait également état de propositions sur la stratégie de lutte à mettre en œuvre.

Références bibliographiques

- EFSA AHAW Panel (Panel on Animal, Health, and Welfare). 2015. « Survival, spread and establishment of the small hive beetle (*Aethina tumida*). » *EFSA Journal* 13 (12):4328-n/a. doi: 10.2903/j.efsa.2015.4328.
- Granato, Anna, Bianca Zecchin, Chiara Baratto, Véronique Duquesne, Enrico Negrisola, Marie-Pierre Chauzat, Magali Ribièrre-Chabert, Giovanni Cattoli, and Franco Mutinelli. 2016. « Introduction of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) in the regions of Calabria and Sicily (southern Italy). » *Apidologie*:1-10. doi: 10.1007/s13592-016-0465-3.
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie. 2017. *Aethina tumida* in Italy: updates. <http://www.izsvenezie.com/aethina-tumida-in-italy/>: Page consultée le 12/09/2017.
- Lee, Seunghyun, Ki-Jeong Hong, Yun Sang Cho, Yong Soo Choi, Mi-Sun Yoo, and Seunghwan Lee. 2017. « Review of the subgenus *Aethina* Erichson s. str. (Coleoptera: Nitidulidae: Nitidulinae) in Korea, reporting recent invasion of small hive beetle, *Aethina tumida*. » *Journal of Asia-Pacific Entomology* 20 (2):553-558. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.03.006>.
- Levot, G., D. Somerville, N. Annand, D. Collins, and I. Barchia. 2015. « A six-month-long assessment of the health of bee colonies treated with APITHOR™ hive beetle insecticide. » *Journal of Apicultural Research* 54 (4):386-393. doi: 10.1080/00218839.2016.1158962.
- Levot, Garry W., and Doug Somerville. 2012. « Efficacy and safety of the insecticidal small hive beetle refuge trap APITHOR™ in bee hives. » *Australian Journal of Entomology* 51 (3):198-204. doi: 10.1111/j.1440-6055.2011.00852.x.
- Murilhas, A. . 2005. « *Aethina tumida* arrives in Portugal. Will it be eradicated? » *EurBee Newsletter* 2:7-9.
- Mutinelli, Franco. 2017. « Small hive beetle in Italy: update, surveillance and constraints. » Expert Group on Bee Health, Bruxelles, 13 janvier 2017, https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/animals/docs/ah-expert_group-bee_20170113_co02.pdf.
- Mutinelli, Franco, and Andrea Maroni Ponti. 2017. Update on the occurrence of small hive beetle, *Aethina tumida* Murray, in Italy.
- Neumann, Peter, Jeff S. Pettis, and Marc O. Schäfer. 2016. « Quo vadis *Aethina tumida*? Biology and control of small hive beetles. » *Apidologie* 47 (3):427-466. doi: 10.1007/s13592-016-0426-x.
- Organisation mondiale de la santé animale (OIE). 2017. Base de données du système mondial d'information sanitaire (Interface WAHIS) http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home: Page consultée le 20/09/2017.
- Palmeri, V., G. Scirtò, A. Malacrino, F. Laudani, and O. Campolo. 2015. « A scientific note on a new pest for European honeybees: first report of small hive beetle *Aethina tumida*, (Coleoptera: Nitidulidae) in Italy. » *Apidologie* 46 (4):527-529. doi: 10.1007/s13592-014-0343-9.
- Schäfer, Marc, O., Jeff Pettis, S., Wolfgang Ritter, and Peter Neumann. 2008. « A scientific note on quantitative diagnosis of small hive beetles, *Aethina tumida*, in the field. » *Apidologie* 39 (5):564-565.
- Spiewok, S., and P. Neumann. 2006. « Cryptic low-level reproduction of small hive beetles in honey bee colonies. » *Journal of Apicultural Research* 45 (1):47-48.
- Ward, L., M. Brown, P. Neumann, S. Wilkins, J. Pettis, and N. Boonham. 2007. "A DNA method for screening hive debris for the presence of small hive beetle (*Aethina tumida*)." *Apidologie* 38 (3):272-280.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Le petit coléoptère des ruches (*Aethina tumida*) aux États-Unis, parasite ravageur des colonies d'*Apis mellifera*

Kelly Kulhanek & Dennis VanEngelsdorp

Auteur correspondant : dennis.vanengelsdorp@gmail.com
University of Maryland, Department of Entomology, College Park, Maryland, États-Unis

Résumé

Le petit coléoptère des ruches a été identifié pour la première fois en Floride en 1998 et il est maintenant établi dans tous les États américains, sauf en Alaska. Des introductions ont également eu lieu en Amérique du Sud, en Europe, en Australie et en Asie. On sait que les petits coléoptères des ruches ne causent pas de dégâts significatifs aux fortes colonies d'abeilles mellifères africaines dans leur aire d'enzootie, comme c'est le cas dans les sous-races européennes. Les adultes peuvent vivre, sans se reproduire, jusqu'à 16 mois dans une colonie et se reproduire rapidement plus tard, produisant un effondrement rapide des colonies. Les larves sont les plus destructrices. Les larves, comme les adultes, mangent du couvain, du pollen et du miel. Le petit coléoptère des ruches est mieux contrôlé en maintenant de fortes colonies. Les bonnes pratiques apicoles aident à réduire au minimum les larves de coléoptères qui s'établissent dans les colonies. Plusieurs méthodes ont été développées pour contrôler le SHB à la fois dans et en dehors des colonies. Placer des pièges à l'intérieur de la ruche est une méthode habituelle de contrôle. On s'inquiète également de la propagation du coléoptère à des hôtes non-*Apis*, tels que les bourdons et les abeilles sans dard (*Austroplebeia* et *Trigona*). Un autre risque est représenté par le grand coléoptère africain des ruches (*Oplostomus fuliginus*) qui pourrait potentiellement menacer les États-Unis ou l'Australie en raison de conditions environnementales appropriées.

Mots-clés

Petit coléoptère des ruches, *Aethina tumida*, États-Unis

Abstract

A review of american small hive beetle (aethina tumida) as pests in apis mellifera colonies

*Small hive beetle was first identified in Florida in 1998 and the beetles are now established in every US state except Alaska. Introductions have occurred also in South America, Europe, Australia, and Asia. Small hive beetles are not known to cause significant damage to strong African honey bee colonies in their endemic range as they do in European sub-races of honey bees. Adult SHB can live, without reproducing, for up to 16 months in a colony and reproduce quickly later on producing rapid colony collapse. SHB larvae are the most destructive stage. The larvae, like the adults, eat brood, pollen, and honey. SHB are best controlled by maintaining strong colonies. General good beekeeping practices will help minimize larval beetles from establishing in colonies. Several methods have been developed to control SHB both in and outside colonies. In hive traps is a common control method. There is also concern over SHB spreading to non-*Apis* hosts, such as bumble bees and stingless bees (*Austroplebeia* and *Trigona*). Another risk is represented by the large African hive beetle (*Oplostomus fuliginus*) that could potentially threaten US or Australia due to suitable environmental conditions.*

Keywords

Small hive beetle, Aethina tumida, USA

Le petit coléoptère des ruches, *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae), autrefois circonscrit à l'Afrique, est désormais introduit ou établi dans la plupart des régions où l'on élève des abeilles (*Apis mellifera* spp.) (Neumann et al., 2016). Dans les colonies d'abeilles mellifères africaines saines (*A. mellifera scutellata*), les coléoptères et leurs larves font peu de dégâts; leur population s'accroît uniquement si la colonie quitte la ruche ou devient si faible qu'elle ne parvient plus à assurer sa protection (Lundie, 1940; Neumann et al., 2016). Il y a une vingtaine d'années, lorsque le petit coléoptère des ruches (SHB, de l'anglais small hive beetle) a commencé à être disséminé au-delà de sa région d'enzootie originelle, il a rencontré les sous-espèces d'abeille mellifère européennes, beaucoup plus sensibles (Hood, 2000). La première année où les apiculteurs ont été attentifs aux infestations en Floride, le coléoptère a provoqué des pertes à hauteur de 3 millions de dollars américains, y compris chez les colonies fortes d'abeilles (Ellis et al., 2002). Bien que l'adoption de pratiques apicoles différentes, notamment la manipulation des rayons et la vitesse d'extraction, ait permis de réduire les dégâts causés par le SHB, il reste un nuisible important en élevage d'abeilles. Nous présentons dans cet article la biologie, l'étiologie du SHB, ainsi que les pratiques qui permettent de minimiser les dégâts causés par ce nuisible.

Histoire de la dissémination du petit coléoptère des ruches

Le SHB (Figure 1) a été identifié pour la première fois en dehors de sa région d'enzootie à St Lucie, en Floride, en juin 1998 (Hood, 2000). Par la suite, des coléoptères qui avaient été détectés dans une ruche près de Charleston, en Caroline du Sud en 1996, sans être identifiés, se sont avérés être des SHB. En 2003, cinq ans après sa première identification, le SHB s'était disséminé jusqu'au Dakota du Nord, et à l'ouest jusqu'au Texas (Hood, 2004). Bien qu'il soit enzootique dans des régions chaudes et tempérées, le coléoptère est désormais établi, tout au long de l'année, dans de nombreuses régions des États-Unis, y compris dans des états où les hivers sont longs (Neumann et al., 2016). Les SHB adultes sont capables d'hiverner au sein de la grappe que forment les abeilles en hiver, en se regroupant et en bénéficiant ainsi d'une enveloppe isolante que font la masse d'ouvrières produisant de la chaleur (Atkinson et Ellis, 2012; Schäfer et al., 2011). Actuellement, on retrouve le SHB dans tous les états des États-Unis, sauf en Alaska (Neumann et al., 2016).

Le SHB a d'abord été détecté dans le Sud-Est des États-Unis, haut lieu de la production de reines et paquets d'abeilles (Schiff et Sheppard, 1995), en plus d'être le lieu d'hivernage pour de nombreux apiculteurs professionnels transhumants (USDA-NASS, 2017). Ainsi, la rapide



Figure 1. Petit coléoptère des ruches adulte (*Aethina tumida*). Crédit photo: Sam Droege, USGS Patuxent Wildlife Research Center, Bee Inventory and Monitoring Lab

expansion du SHB a été facilitée par ces installations apicoles qui déplacent les abeilles dans différents états (Annand, 2011; Gordon et al., 2014; Neumann et Elzen, 2004).

Même sans le déplacement des abeilles et de matériel apicole, les études ont montré que le SHB pouvait survivre jusqu'à cinq jours sans se nourrir ni boire (Pettis et Shimanuki, 2000). Il semble également capable de survivre et d'achever un cycle de vie en se nourrissant uniquement de fruits, voire même de viande (Arbogast et al., 2010; Arbogast et al., 2009; Buchholz et al., 2008; Ellis et al., 2002; Keller, 2002; Neumann et Elzen, 2004; Neumann et al., 2016). Ces résultats sont inquiétants quant à la facilité avec laquelle ce nuisible peut se propager, car ils montrent qu'il est capable de voler et de se reproduire avec d'autres régimes alimentaires, ce qui constitue des voies possibles d'expansion de l'habitat du SHB (Arbogast et al., 2009).

Dégâts causés par le petit coléoptère des ruches

Le SHB n'est pas réputé pour causer d'importants dégâts aux fortes colonies d'abeilles africaines, dans ses régions d'enzootie (Neumann et Elzen, 2004). Les apiculteurs sud-africains ont, cependant, rencontré des problèmes, quand le SHB pénètre dans le miel stocké, ou lorsqu'il est présent dans les colonies faibles (Lundie, 1940). Les conséquences ne sont pas aussi dramatiques que les dégâts importants que le SHB provoque dans d'autres sous-espèces européennes d'abeilles mellifères. Les abeilles africaines sont plus agressives envers les intrus et plus susceptibles de désertir en conditions de stress. Ces deux comportements contribuent certainement à la tolérance de cette sous-espèce à ce nuisible (Hepburn et al., 1999; Neumann et Elzen, 2004). Plusieurs autres traits comportementaux peuvent contribuer à l'apparente tolérance des abeilles africaines, notamment une tendance accrue à collecter de la propolis et à l'utiliser pour rétrécir l'entrée de la ruche, afin d'en faciliter le gardiennage contre les intrus (Neumann et Elzen, 2004). Les sous-espèces africaines et européennes sont capables toutes deux d'emprisonner le SHB: les ouvrières rassemblent les coléoptères dans un coin de la ruche et le surveillent ou fabriquent une prison avec un mur en propolis. Les SHB ainsi rassemblés ou emprisonnés ne peuvent plus se reproduire (Neumann et al., 2016; Neumann et al., 2001). Les abeilles africaines sont plus enclines à adopter ce comportement unique et plus efficaces dans sa mise en œuvre (Ellis et al., 2003; Ellis et al., 2004; Ellis et al., 2003).

En dépit des comportements destinés à réduire le nombre des SHB, ceux-ci peuvent rapidement atteindre un nombre problématique. Cela



Figure 2. Larves de petit coléoptère des ruches infectant une pelote de pollen. Crédit photo: Dan Wyns, Bee Informed Partnership

s'explique par le fait que les SHB utilisent une approche « temporiser et attendre » (Neumann et al., 2016). Une petite population de SHB adultes peut vivre, sans se reproduire, jusqu'à seize mois dans une colonie, sans se faire repérer ou en étant emprisonnés. Même emprisonnés, les coléoptères sont capables continuer à s'alimenter en trompant les abeilles gardiennes pour qu'elles régurgitent le contenu de leur estomac, que les coléoptères peuvent alors consommer (Ellis, 2004; Hood, 2004). Le SHB vient tapoter le labium des abeilles avec ses antennes, imitant ainsi le comportement d'autres abeilles ouvrières pour stimuler l'échange de nourriture (Ellis et al., 2002). En augmentant ainsi leur durée de vie, ces SHB à longue vie ont une plus grande chance que leur colonie hôte s'affaiblisse, ce qui leur permet de se reproduire rapidement. En l'absence de mesure de contrôle, les populations de coléoptères peuvent se multiplier rapidement : 80 SHB adultes peuvent engendrer plus de 36 000 adultes en 63 jours (Murrle et Neumann, 2004).

Avec des infestations de SHB de cette ampleur, les colonies d'abeilles européennes peuvent s'effondrer en à peine dix jours (Neumann et al., 2010). C'est au stade larvaire que les SHB sont les plus destructeurs. Les larves, comme les adultes, mangent le couvain, le pollen et le miel (Hood, 2000). En se nourrissant, les larves détériorent les rayons de miel non extrait et le matériel apicole stocké car en plus de se nourrir à partir des produits de la ruche, elles défèquent et les excréments entraînent la fermentation du miel (Hood, 2000; Neumann et Elzen, 2004), ce qui le rend impropre à la consommation, tant pour les abeilles que pour l'Homme (Hood, 2000). Ainsi, les cadres de miel récolté, s'ils sont stockés trop longtemps avant extraction, sont rapidement altérés par le SHB. Il suffit de deux ou trois coléoptères pour produire suffisamment de larves capables de détruire un lot de hausses (Lundie, 1940). La destruction rapide des colonies faibles, l'altération de rayons mal stockés et l'altération des récoltes non-extraites sont autant de façons dont le SHB peut dévaster une exploitation apicole.

Contrôler les dégâts causés par le petit coléoptère des ruches

La meilleure façon de contrôler les SHB est de maintenir les colonies fortes en adaptant le volume de la ruche de sorte que les abeilles puissent parcourir et défendre l'ensemble des cadres, doit permettre de limiter les dégâts causés aux colonies sur le terrain. Un cadre qui n'a pas été suffisamment surveillé par les abeilles laisse la possibilité aux coléoptères de s'y cacher et d'y pondre des œufs, donnant ainsi naissance à une population larvaire délétère (Hood, 2004; Neumann et al., 2016). L'adoption de bonnes pratiques apicoles permettra de minimiser l'établissement de larves de coléoptères dans les colonies d'abeilles. Ces pratiques consistent notamment à maximiser la population d'abeilles adultes en contrôlant les parasites et les maladies du couvain, les problèmes liés à la reine (défaut de pointe, orphelinage, colonies bourdonneuses), et en évitant les pertes brutales de population adulte, comme par l'essaimage et l'exposition aux pesticides (Hood, 2000). Il ne faut pas fournir trop de nourriture aux colonies car les larves de SHB peuvent se rassembler et vivre dans les nourrisseurs à sirop, les pâtes sucrées, et en particulier les sources de protéines, notamment les suppléments alimentaires sous forme de pâtes protéinées (Figure 2) (Hood, 2004).

Le contrôle des coléoptères avant et après l'extraction du miel exige de bonnes pratiques en matière d'hygiène. Congeler les rayons permet de tuer les SHB, à tous les stades de développement, et peut empêcher ou arrêter une épidémie qui débute (Hood, 2004). Les œufs de SHB sont sensibles à la dessiccation ; par conséquent, conserver les cadres à une faible humidité peut minimiser les dégâts causés par les larves de SHB (Neumann et al., 2013).

Plusieurs méthodes ont été développées pour contrôler le SHB, tant à l'intérieur qu'à l'extérieur des colonies. (Hood, 2000; Hood,

2004; Neumann et Ellis, 2008; Neumann et al., 2016). À l'extérieur de la colonie, les populations de SHB sont limitées en traitant le sol devant les colonies avec de la perméthrine. (Hood, 2000). Les larves quittent la colonie pour se transformer en chrysalides dans le sol, ce qui les expose à l'insecticide (Neumann et Elzen, 2004). L'épandage de terre de diatomées sur le sol devant l'entrée des ruches a également été utilisé, mais cette méthode a une efficacité limitée (Buchholz et al., 2009). L'utilisation d'appâts, de pièges lumineux et d'ennemis naturels constituent d'autres moyens de contrôle utilisés à l'extérieur des colonies. Les appâts et les pièges lumineux sont faciles à mettre en œuvre et sont efficaces sur de grandes zones, mais les captures dépendent de la saisonnalité, de la température et du degré d'infection des colonies (Neumann et al., 2016). Les ennemis naturels, notamment les champignons et les nématodes qui tuent les larves dans la terre, sont également efficaces. En pratique, toutefois, ces traitements ne pas sont largement adoptés en raison de la nécessité de les mettre en œuvre au bon moment (Neumann et al., 2016; Pettis et Shimanuki, 2000; Spiewok et Neumann, 2006a).

Il existe actuellement sur le marché de nombreux pièges à placer dans la ruche. Pour beaucoup, leur fonctionnement repose sur la propension du SHB à se cacher au fond ou dans les coins de la colonie (Neumann et al 2016). Ils fournissent aux coléoptères un endroit obscur où se protéger des abeilles. Les pièges comportent souvent un matériau capable de tuer les coléoptères une fois piégés, comme des pesticides (coumaphos) ou de les maintenir à l'intérieur du piège, par exemple une huile végétale. L'inventivité des apiculteurs a également permis de développer des solutions alternatives, souvent non validées, notamment l'utilisation de lingettes à poussière non parfumées (par ex. Swiffer ND) ou des serviettes en papier. Lorsqu'on les place dans la colonie, les abeilles les mâchent, ce qui en fait une fine toile fibreuse dans laquelle les œufs de SHB restent piégés (Neumann et al 2016). Les apiculteurs ont également remarqué que le fait d'écraser les SHB avec un lève-cadres est un moyen efficace et plaisant de contrôle des nuisibles (Figure 3).

État des lieux à l'échelle mondiale

Au cours des vingt dernières années, le SHB a été disséminé dans le monde entier, depuis sa zone d'enzootie en l'Afrique sub-saharienne. Il a été introduit en Amérique du Nord et du Sud, en Europe, en Australie et en Asie (Figure 4). Le SHB a été découvert en dehors de sa zone d'enzootie pour la première fois en 1998 aux États-Unis et est désormais bien établi dans l'ensemble du pays, y compris à Hawaï (Neumann et al., 2016). Il a également été découvert en Égypte (2001) et en Australie (2002) où n a connaissance de cinq



Figure 3. Apiculteur utilisant un lève-cadres pour maîtriser une infestation sévère de SHB dans un nourrisseur. Crédit photo : Dan Reynolds, Bee Informed Partnership

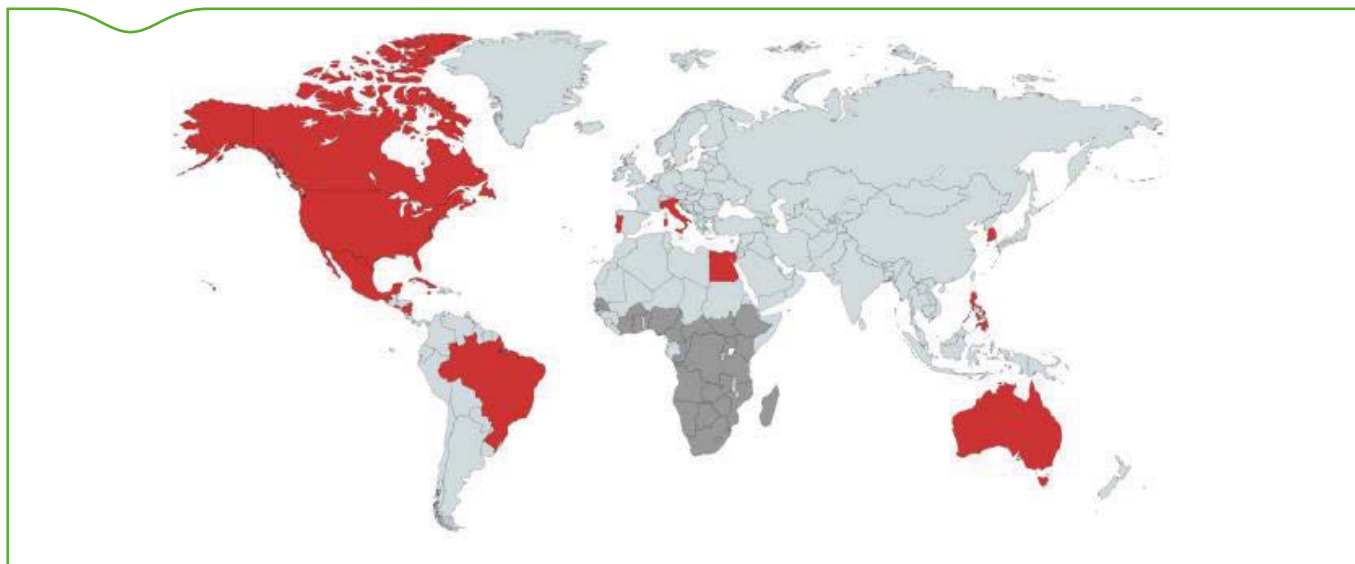


Figure 4. Carte des régions d'enzootie du SHB (gris foncé) et des pays dans lesquels il a été détecté (rouge). Toutes les introductions n'ont pas entraîné l'établissement de populations de SHB

épisodes d'introduction (Richmond, 2002; Kununurra, 2008; Perth, 2008, Naracoorte, 2012, Renmark, 2014).

Au Canada, la première détection de SHB date de 2002, et a été suivie de plusieurs autres introductions dans différentes régions du pays (Alberta et Manitoba, 2006; Québec, 2008, 2009; Ontario, 2008, 2013), mais ce n'est que depuis peu que le coléoptère est bien établi dans certaines régions, et sa dissémination est limitée par des zones de quarantaine (Dubuc, 2013; Neumann *et al.*, 2016).

Le SHB s'est récemment propagé à deux autres continents, via les Philippines (2014; Brion, 2015) et le Brésil (2015; Al Toufailya *et al.*, 2017). En Asie, après les Philippines, il a été détecté en Corée du Sud (2017; Lee *et al.*, 2017). En Amérique du Nord, on l'a récemment également détecté à Cuba (2012; Lóriga Peña *et al.*, 2014), au Salvador (2013) et au Nicaragua (2014) (Neumann *et al.*, 2016).

L'Europe a fait preuve d'une extrême prudence, au cours des vingt dernières années, afin de réduire au minimum le risque d'introduction du coléoptère sur le continent. En Europe, de nombreuses régions, en particulier le pourtour méditerranéen, ont un climat chaud et des sols secs et sablonneux, conditions optimales pour la croissance du SHB. Le SHB a été détecté à Lisbonne, au Portugal en 2004, mais les colonies ont été détruites, ce qui a empêché le coléoptère de se disséminer et de s'établir. En 2014, il a été détecté en Italie (Mutinelli, 2014; Palmeri *et al.*, 2015). Les colonies infectées, y compris celles en zone de quarantaine, ont été détruites. Depuis, il a été détecté ailleurs, y compris en Italie, mais les populations ne sont pas encore établies grâce à la surveillance et à la vigilance, aux protocoles de mise en quarantaine, et la destruction rapide des colonies infectées (Granato *et al.*, 2017).

Le SHB chez les autres espèces

On craint également que le SHB puisse se propager chez d'autres hôtes que les abeilles, comme les bourdons (*Bombus spp.*). Il peut en effet facilement infester les colonies de bourdons (Spiewok et Neumann, 2006b), et se reproduire dans les colonies sauvages de *Bombus impatiens* (Neumann et Elzen, 2004). Les bourdons ne montrent pas les mêmes comportements de défense face au SHB, et ces défenses pourraient être moins efficaces que celles des abeilles mellifères (Hoffmann *et al.*, 2008).

Les abeilles mélipones d'Australie (*Austroplebeia* et *Trigona*) sont une autre espèce d'abeilles sociales qui pourrait être un hôte potentiel du SHB (Halcroft *et al.*, 2011). Le SHB envahit naturellement les abeilles mélipones en Afrique de l'Ouest (*Dactylurina staudingerii*

(Mutsaers, 2006). Elles adoptent des comportements de défense au SHB, notamment la momification, la destruction des œufs et des larves et l'éjection des adultes (Halcroft *et al.*, 2011). Ces résultats montrent que ces abeilles pourraient être armées pour résister à une invasion de SHB, mais les véritables effets d'un changement d'hôte sont en réalité impossibles à prévoir.

Le grand coléoptère des ruches

Le grand coléoptère africain des ruches est un autre ravageur des colonies d'abeilles mellifères originaire d'Afrique (*Oplostomus fuliginosus*). Ce coléoptère, qui mesure en moyenne 2,1 cm de long, est plus grand que les abeilles (Oldroyd et Allsopp, 2017). Ces insectes parasites se rassemblent en groupes pouvant aller jusqu'à 700 adultes, dans une colonie où ils mangent les larves, les pupes, les rayons le miel et le pollen (Fombong *et al.*, 2013). Les abeilles africaines s'accommodent de ces atteintes en nettoyant les dégâts, mais il se peut que d'autres sous-espèces d'abeilles européennes puissent en souffrir (Oldroyd et Allsopp, 2017). Ces coléoptères pourraient aisément proliférer aux États-Unis et en Australie, où les types de sol et le climat sont très adaptés à leur développement. En outre, ils ont une longévité importante et hivernent dans du fumier, ce qui constitue de nombreuses voies de dissémination possibles à moyenne et grande distance, par exemple via le matériel agricole ou la terre, en plus du matériel apicole (Oldroyd et Allsopp, 2017). Le grand coléoptère africain des ruches doit faire l'objet d'une surveillance pour éviter sa propagation à grande échelle.

Conclusion

Le petit coléoptère des ruches est un insecte parasite délétère dans les colonies d'abeilles européennes, en particulier pour les apiculteurs aux États-Unis. Il peut gravement compromettre la survie des colonies, et exploiter ou affaiblir une colonie déjà touchée par les nombreuses autres causes de mortalité de l'Abeilles mellifère (pesticides, parasites, agents pathogènes, utilisation du territoire) (Kulhanek *et al.*, 2017). Malgré des mesures de contrôle strictes, le SHB devrait probablement se propager davantage, car de nombreuses régions où le climat est optimal pour le SHB ne sont, à ce jour, pas touchées. La rapide et large dissémination du petit coléoptère des ruches à travers le monde est le parfait exemple de ce qu'est une invasion biologique. Les apiculteurs et les scientifiques doivent continuer à rechercher des moyens de détection, de protection et de contrôle mieux adaptés pour lutter contre ce nuisible.

Références bibliographiques

- Al Toufalia, H., Alves, D. A., Bená, D. d. C., Bento, J. M., Iwanicki, N. S., Cline, A. R., Ratnieks, F. L. (2017). First record of small hive beetle, *Aethina tumida* Murray, in South America. *Journal of Apicultural Research*, 56(1), 76-80.
- Annand, N. (2011). Investigations on small hive beetle biology to develop better control options.
- Arbogast, R. T., Torto, B., & Teal, P. E. (2010). Potential for population growth of the small hive beetle *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) on diets of pollen dough and oranges. *Florida Entomologist*, 93(2), 224-230.
- Arbogast, R. T., Torto, B., Willms, S., & Teal, P. E. (2009). Trophic habits of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae): their adaptive significance and relevance to dispersal. *Environmental Entomology*, 38(3), 561-568.
- Atkinson, E. B., & Ellis, J. D. (2012). Temperature-dependent clustering behavior of *Aethina tumida* Murray in *Apis mellifera* L. colonies. *Journal of Insect Behavior*, 25(6), 604-611.
- Brion, A. (2015). Small hive beetle poses threat to bee industry. *The Philippine Star*, [online] <http://www.philstar.com/agriculture/2015/02/22/1426217/small-hive-beetle-poses-threat-bee-industry> (Accessed on 09 June 2015).
- Buchholz, S., Merkel, K., Spiewok, S., Pettis, J. S., Duncan, M., Spooner-Hart, R., & Neumann, P. (2009). Alternative control of *Aethina tumida* Murray (Coleoptera: Nitidulidae) with lime and diatomaceous earth. *Apidologie*, 40(5), 535-548.
- Buchholz, S., Schäfer, M. O., Spiewok, S., Pettis, J. S., Duncan, M., Ritter, W., & Neumann, P. (2008). Alternative food sources of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae). *Journal of Apicultural Research*, 47(3), 202-209.
- Dubuc, M. (2013). Small hive beetle infestation (*Aethina tumida*), Canada. Retrieved from http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreportwww.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport?page_refer=MapFullEventReport&reportid=14742
- Ellis, J., Hepburn, H., Ellis, A., & Elzen, P. (2003). Social encapsulation of the small hive beetle (*Aethina tumida* Murray) by European honeybees (*Apis mellifera* L.). *Insectes Sociaux*, 50(3), 286-291.
- Ellis, J., Pirk, C., Hepburn, H., Kastberger, G., & Elzen, P. (2002). Small hive beetles survive in honeybee prisons by behavioural mimicry. *Naturwissenschaften*, 89(7), 326-328.
- Ellis, J. D. (2004). The ecology and control of small hive beetles (*Aethina tumida* Murray).
- Ellis, J. D., Jr., Delaplane, K. S., & Hood, W. M. (2002). Small hive beetle (*Aethina tumida* Murray) weight, gross biometry, and sex proportion at three locations in the Southeastern United States. *American Bee Journal*, 142(7), 520-522.
- Ellis, J. D., Jr., Hepburn, R., & Elzen, P. J. (2004). Confinement of small hive beetles (*Aethina tumida*) by Cape honey bees (*Apis mellifera capensis*). *Apidologie*, 35(4), 389-396.
- Ellis, J. D., Jr., Neumann, P., Hepburn, R., & Elzen, P. J. (2002). Longevity and reproductive success of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) fed different natural diets. *Journal of Economic Entomology*, 95(5), 902-907.
- Ellis Jr, J. D., Holland, A. J., Hepburn, R., Neumann, P., & Elzen, P. J. (2003). Cape (*Apis mellifera capensis*) and European (*Apis mellifera*) honey bee guard age and duration of guarding small hive beetles (*Aethina tumida*). *Journal of Apicultural Research*, 42(3), 32-34.
- Fombong, A. T., Mumoki, F. N., Muli, E., Masiga, D. K., Arbogast, R. T., Teal, P. E., & Torto, B. (2013). Occurrence, diversity and pattern of damage of *Oplostomus* species (Coleoptera: Scarabaeidae), honey bee pests in Kenya. *Apidologie*, 44(1), 11-20.
- Gordon, R., Bresolin-Schott, N., & East, I. (2014). Nomadic beekeeper movements create the potential for widespread disease in the honeybee industry. *Australian Veterinary Journal*, 92(8), 283-290.
- Granato, A., Zecchin, B., Baratto, C., Duquesne, V., Negrisolo, E., Chauzat, M.-P., & Mutinelli, F. (2017). Introduction of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) in the regions of Calabria and Sicily (southern Italy). *Apidologie*, 48(2), 194-203.
- Halcroft, M., Spooner-Hart, R., & Neumann, P. (2011). Behavioral defense strategies of the stingless bee, *Austroplebeia australis*, against the small hive beetle, *Aethina tumida*. *Insectes Sociaux*, 58(2), 245-253.
- Hepburn, H. R., Reece, S. L., Neumann, P., Moritz, R. F. A., & Radloff, S. E. (1999). Abscinding in honeybees (*Apis mellifera*) in relation to queen status and mode of worker reproduction. *Insectes Sociaux*, 46(4), 323-326.
- Hoffmann, D., Pettis, J., & Neumann, P. (2008). Potential host shift of the small hive beetle (*Aethina tumida*) to bumblebee colonies (*Bombus impatiens*). *Insectes Sociaux*, 55(2), 153-162.
- Hood, W. M. (2000). Overview of the small hive beetle, *Aethina tumida*, in North America. *Bee World*, 81(3), 129-137.
- Hood, W. M. (2004). The small hive beetle, *Aethina tumida*: a review. *Bee World*, 85(3), 51-59.
- Keller, J. J. (2002). Testing effects of alternative diest on reproduction rates of the small hive beetle, *Aethina tumida*.
- Kulhanek, K., Steinhauer, N., Rennich, K., Caron, D. M., Sagili, R. R., Pettis, J. S., & Tarpy, D. R. (2017). A national survey of managed honey bee 2015–2016 annual colony losses in the USA. *Journal of Apicultural Research*, 1-13.
- Lee, S., Hong, K.-J., Cho, Y. S., Choi, Y. S., Yoo, M.-S., & Lee, S. (2017). Review of the subgenus *Aethina* Erichson s. str. (Coleoptera: Nitidulidae: Nitidulinae) in Korea, reporting recent invasion of small hive beetle, *Aethina tumida*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20(2), 553-558.
- Lóriga Peña, W., Fonte Carballo, L., & Demedio Lorenzo, J. (2014). Reporte de *Aethina tumida* Murray (Coleoptera, Nitidulidae) en colonias de la abeja sin aguijón *Melipona beecheii* Bennett de Matanzas y Mayabeque. *Revista de Salud Animal*, 36(3), 201-204.
- Lundie, A. (1940). The small hive beetle, *Aethina tumida*. *The Small Hive Beetle, Aethina tumida*. (220).
- Murrle, T., & Neumann, P. (2004). Mass production of small hive beetles (*Aethina tumida*, Coleoptera: Nitidulidae). *Journal of Apicultural Research*, 43(3), 144-145.
- Mutinelli, F. (2014). The 2014 outbreak of small hive beetle in Italy. *Bee World*, 91(4), 88-89.
- Mutsaers, M. (2006). Beekeepers' observations on the small hive beetle (*Aethina tumida*) and other pests in bee colonies in West and East Africa. Paper presented at the Proceedings of the 2nd EurBee Conference, Prague, Czech Republic.
- Neumann, P., & Ellis, J. D. (2008). The small hive beetle (*Aethina tumida* Murray, Coleoptera: Nitidulidae): distribution, biology and control of an invasive species. *Journal of Apicultural Research*, 47(3), 181-183.
- Neumann, P., & Elzen, P. J. (2004). The biology of the small hive beetle (*Aethina tumida*, Coleoptera: Nitidulidae): gaps in our knowledge of an invasive species. *Apidologie*, 35(3), 229-247.
- Neumann, P., Evans, J. D., Pettis, J. S., Pirk, C. W., Schäfer, M. O., Tanner, G., & Ellis, J. D. (2013). Standard methods for small hive beetle research. *Journal of Apicultural Research*, 52(4), 1-32.
- Neumann, P., Hoffmann, D., Duncan, M., & Spooner-Hart, R. (2010). High and rapid infestation of isolated commercial honey bee colonies with small hive beetles in Australia. *Journal of Apicultural Research*, 49(4), 343-344.
- Neumann, P., Pettis, J. S., & Schäfer, M. O. (2016). Quo vadis *Aethina tumida*. *Apidologie*, 47(3), 427-466.
- Neumann, P., Pirk, C. W. W., Hepburn, H. R., Solbrig, A. J., Ratnieks, F. L. W., Elzen, P. J., Baxter, J. R. (2001). Social encapsulation of beetle parasites by Cape honeybee colonies (*Apis mellifera capensis* Esch.). *Naturwissenschaften*, 88, 214-216.
- Oldroyd, B. P., & Allsopp, M. H. (2017). Risk assessment for large African hive beetles (*Oplostomus* spp.)—a review. *Apidologie*, 1-9.
- Palmeri, V., Scirtò, G., Malacrino, A., Laudani, F., & Campolo, O. (2015). A scientific note on a new pest for European honeybees: first report of small hive beetle *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) in Italy. *Apidologie*, 46(4), 527-529.
- Pettis, J., & Shimanuki, H. (2000). Observations on the small hive beetle, *Aethina tumida* Murray, in the United States. *American Bee Journal*, 140(2), 152-155.
- Pettis, J. S., & Shimanuki, H. (2000). Observations on the small hive beetle, *Aethina tumida* Murray, in the United States. *American Bee Journal*, 140, 152-155.
- Schäfer, M. O., Ritter, W., Pettis, J. S., & Neumann, P. (2011). Concurrent parasitism alters thermoregulation in honey bee (Hymenoptera: Apidae) winter clusters. *Annals of the Entomological Society of America*, 104(3), 476-482.
- Schiff, N. M., & Sheppard, W. S. (1995). Genetic analysis of commercial honey bees (Hymenoptera: Apidae) from the southeastern United States. *Journal of Economic Entomology*, 88(5), 1216-1220.
- USDA National Agricultural Statistics Service (2017). Honey Bee Colonies.
- Spiewok, S., & Neumann, P. (2006a). Cryptic low-level reproduction of small hive beetles in honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research*, 45(1), 47-48.
- Spiewok, S., & Neumann, P. (2006b). Infestation of commercial bumblebee (*Bombus impatiens*) field colonies by small hive beetles (*Aethina tumida*). *Ecological Entomology*, 31(6), 623-628.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Surveillance officielle du petit coléoptère des ruches *Aethina tumida* en France

Fayçal Meziani (1), Sébastien Wendling (2)

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

(1) Direction générale de l'Alimentation, Service des actions sanitaires en production primaire, Paris, France

(2) Direction générale de l'Alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France

Résumé

Le petit coléoptère des ruches *Aethina tumida* est un parasite ravageur des colonies d'abeilles et de bourdons, actuellement absent du territoire en France. La progression de son aire de répartition mondiale et sa découverte en 2014 dans le Sud de l'Italie où il se maintient font craindre une arrivée en France. Ce contexte sanitaire a conduit le ministère en charge de l'Agriculture à renforcer la surveillance de ce danger sanitaire de première catégorie dans l'objectif de détecter au plus tôt un éventuel premier foyer en vue de son éradication.

Mots-clés

Aethina tumida, petit coléoptère des ruches, *Apis mellifera*, éradication, surveillance, contrôle

Abstract

Official surveillance of the small hive beetle *Aethina tumida* in France

The small hive beetle *Aethina tumida* is a pest parasite of bee and bumblebee colonies currently absent from France. Its growing worldwide range and its detection in 2014 in southern Italy, where it has become established, have led to fears of its arrival in France. This health context has prompted the French Ministry of Agriculture to strengthen surveillance of this Category 1 health hazard, with the aim of detecting any possible initial outbreak as early as possible in view of its eradication.

Keywords

Aethina tumida, Small hive beetle, *Apis mellifera*, Eradication, Surveillance, Control

Le petit coléoptère des ruches « *Aethina tumida* » est un parasite originaire d'Afrique sub-Saharienne ravageur des colonies d'abeilles domestiques *Apis mellifera* et de bourdons *Bombus* spp. Son aire de répartition mondiale est actuellement en progression. Il est désormais installé dans certains pays d'Afrique, d'Amérique, d'Océanie et d'Asie (Neumann et al., 2016, Organisation mondiale de la santé animale (OIE), 2017). Il n'était, jusqu'à sa découverte dans un rucher du Sud de l'Italie en septembre 2014, pas présent en Europe. Suite à cette découverte, les autorités italiennes ont mis en place des mesures de lutte ayant pour objectifs d'éradiquer le parasite et de limiter sa propagation, et ont adapté la surveillance au contexte épidémiologique en conformité avec la décision d'exécution de la Commission européenne 2014/909/UE (voir l'article de Franco et al. dans ce numéro). Près de trois ans après son arrivée en Italie, *A. tumida* est considéré comme éradiqué de la Sicile (décision d'exécution (UE) 2017/370), mais se maintient en Calabre. Des informations actualisées concernant l'évolution de la surveillance épidémiologique sont disponibles sur les sites internet de l'Instituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie⁽¹⁾ et de la Plateforme nationale de surveillance épidémiologique en santé

animale (Plateforme ESA)⁽²⁾. La présence du coléoptère dans le Sud de l'Italie constitue une menace persistante pour les autres États européens dont la France qui se surajoute au risque d'arrivée en provenance des autres territoires infestés.

La France est actuellement officiellement indemne de ce ravageur classé danger sanitaire de première catégorie pour l'Abeille domestique (*Apis mellifera*).

Bilan de la surveillance officielle mise en place en France depuis 2014

Objectifs de la surveillance

La surveillance officielle mise en place en France par la Direction générale de l'Alimentation (DGAL) a pour objectifs de :

- détecter précocement toute apparition d'*A. tumida* sur le territoire national dans le but d'en favoriser l'éradication rapide,
- garantir et attester le statut indemne de la France vis-à-vis de ce danger sanitaire dans le cadre des échanges et des exportations.

(1) <http://www.izsvenezie.it/aethina-tumida-in-italia/>

(2) <https://www.plateforme-esa.fr/trouble-des-abeilles-aethina-tumida-actualites>

Modalités de surveillance et résultats

Surveillance événementielle

La surveillance d'*A. tumida* en France est avant tout événementielle, c'est-à-dire basée sur les déclarations réalisées par les apiculteurs ou tout autre acteur de la filière aux directions départementales en charge de la protection des populations (DDecPP) en cas de suspicion, en vertu de l'article L201-7 du code rural et de la pêche maritime [1].

La découverte d'*A. tumida* dans le Sud de l'Italie en septembre 2014 a conduit la DGAL à la mise œuvre d'actions discutées dans le cadre de Plateforme ESA visant au renforcement de la surveillance. La DGAL a ainsi demandé aux DDecPP [2] de sensibiliser localement les apiculteurs et leurs organisations au risque d'arrivée d'*A. tumida* en France, à la nécessité de renforcer la vigilance lors des visites de ruchers, et à l'obligation de déclarer rapidement toute suspicion. D'autre part, des sessions de formation portant sur la surveillance et les aspects réglementaires ont été organisées en 2015 par le laboratoire national de référence (LNR) sur la santé des abeilles et la DGAL à destination d'acteurs de terrain (vétérinaires, techniciens des services de l'État, techniciens sanitaires apicoles...) susceptibles d'intervenir dans le cadre des dispositifs de surveillance et de déployer des formations au niveau local. Environ 80 personnes ont été formées dans ce cadre. Enfin, une plaquette de sensibilisation élaborée par le laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE) sur la santé des abeilles présentant notamment les critères de suspicion et la conduite à suivre a été largement diffusée au niveau français⁽³⁾.

Le LNR a été sollicité à dix-sept, dix, six et six reprises respectivement au cours des années 2014, 2015, 2016 et 2017 (pour la période allant jusqu'au 07/11/17) pour, en accord avec les DDecPP concernées, conduire des analyses suite à des suspicions d'*A. tumida*. Tous les résultats de diagnose d'espèce se sont révélés négatifs.

Surveillance programmée

Suite à la découverte d'*A. tumida* en Italie, les DDecPP ont été mises à contribution pour recueillir toute information relative à des conduites sanitaires apicoles à risques (telles que des importations suspectées de reines, d'abeilles ou de produits apicoles en provenance d'Italie), et le cas échéant réaliser des inspections de ruchers [2]. D'autre part, la DGAL a missionné la Brigade nationale d'enquêtes vétérinaires et phytosanitaires (BNEVP) pour qu'elle identifie les apiculteurs français susceptibles de détenir des ruchers présentant un risque particulier d'être infestés suite à des échanges d'abeilles en provenance de pays de l'Union européenne. Les facteurs de risque visés étaient la zone de provenance des abeilles, la date d'introduction sur le territoire national, la présence d'un certificat sanitaire, le type de matériel biologique (essais sur cadres, essais nus, paquets d'abeilles, reines). Sur cette base, la DGAL a demandé à ses services la mise en œuvre d'inspections dans des ruchers de 291 apiculteurs identifiés par la BNEVP. Des ruchers de 235 apiculteurs ont ainsi pu être inspectés au cours des années 2015 et 2016. Cinquante-six apiculteurs n'ont pas pu être visités notamment, pour au moins 21 d'entre eux, en raison d'un arrêt d'activité. Aucun foyer d'*A. tumida* n'a été mis en évidence par ces contrôles.

L'examen systématique par des laboratoires agréés des cages de transport et des abeilles accompagnatrices dans le cadre des importations de reines d'abeilles en provenance de pays tiers [3] participe également à la surveillance du territoire. Aucune suspicion n'a émané de ce dispositif. Les échanges d'abeilles au sein de l'Union européenne sont quant à eux basés sur la reconnaissance mutuelle du statut indemne de chaque État membre; le transfert en provenance de zones soumises à des restrictions liées à l'apparition du petit coléoptère des ruches est donc interdite. Tout échange d'abeilles entre pays membres de l'Union européenne (ainsi qu'Andorre et la

Suisse) doit faire l'objet d'une certification notifiée dans le système d'information Trace par les services vétérinaires du pays d'origine.

Perspectives

Plusieurs actions visant à maintenir un haut niveau de vigilance vis-à-vis de ce parasite en France sont actuellement élaborées dans le cadre de la Plateforme ESA :

- une nouvelle campagne de sensibilisation à destination des apiculteurs et de leurs organisations afin d'assurer une détection précoce en cas d'introduction,
- un dispositif de surveillance programmée ayant pour objectif de s'assurer que des zones jugées particulièrement à risque en ce qui concerne l'introduction d'*A. tumida* sont toujours indemnes. Il est ainsi envisagé, sur la base des lignes directrices établies par le LRUE (Chauzat et al., 2015), la mise en œuvre de visites programmées dans des zones périphériques de certains ports, aéroports ou dans des territoires à forte activité apicole. Le déploiement expérimental au printemps 2018 sur quelques sites choisis servira à évaluer la pertinence de ce dispositif.

Conclusion

La surveillance événementielle est la modalité la plus à même de détecter précocement un premier foyer d'*A. tumida*, condition offrant les meilleures chances de réussite d'une éradication (exemple de la Sicile). Pour cela, la responsabilité et la vigilance de tous les acteurs de la filière apicole est requise, en particulier celle de l'ensemble des apiculteurs.

D'autre part, le respect des procédures réglementaires à visée sanitaire prévues dans le cadre des échanges et des importations d'abeilles ou de bourdons est impératif pour sécuriser sur le plan sanitaire l'introduction d'abeilles et de bourdons en France.

Références bibliographiques

Chauzat, M.-P., Laurent, M., Brown, M., Kryger, P., Mutinelli, F., Roelandt, S., Roels, S., van der Stede, Y., Schaefer, M., Franco, S., Duquesne, V., Riviere, M.-P., Ribière-Chabert, M., Hendrikx, P (2015). Guidelines for the surveillance of the small hive beetle (*Aethina tumida*) infestation. https://www.anses.fr/fr/system/files/Guidelines_SHB_surveillance_EURL.pdf (page consultée le 06/11/2017).

Neumann, P., Pettis, J. S., & Schäfer, M. O. (2016). Quo vadis *Aethina tumida*. *Apidologie*, 47(3), 427-466.

Organisation mondiale de la santé animale (OIE) (2017a). Base de données du système mondial d'information sanitaire (Interface WAHIS): http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/ (page consultée le 28/09/2017).

Références réglementaires

[1] Note de service DGAL/SDSPA/2015-406 du 28/04/2015 relative aux Modalités de surveillance de l'infestation des colonies d'abeilles *Apis mellifera* et de bourdons *Bombus spp.* par le petit coléoptère de la ruche *Aethina tumida*.

[2] Note de service DGAL/SDSPA/2014-770 du 23/09/2014 relative à la détection d'*Aethina tumida*; note de service DGAL/SDSPA/2014-842 du 20/10/2014 relative au renforcement de la vigilance vis-à-vis du risque d'infection par *Aethina tumida* (petit coléoptère de la ruche); note de service DGAL/SDSPA/2015-113 du 6/02/2015 relative au bilan des visites et actions effectuées dans le cadre des mesures de renforcement de la vigilance vis-à-vis du risque d'introduction d'*Aethina tumida*.

[3] Note de service DGAL/SDSPA/SDASEI/N2012-8128 du 20 juin 2012: Contrôles sanitaires à l'importation en France d'apidés en provenance des pays tiers.

(3) <https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES-Ft-Aethinatumida0415.pdf>.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Brève. Apinella, un programme national de détection précoce du petit coléoptère de la ruche en Suisse
Short item. Apinella, a national early detection program of the small hive beetle in Switzerland

Ruth Hauser*, Daniela Hadorn

* Auteur correspondant: ruth.hauser@blv.admin.ch

Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV), Santé animale, Détection précoce et surveillance, Berne, Suisse

Mots-clés: Abeilles, détection précoce, *Aethina tumida*/**Keywords:** Honey bee, Early detection, *Aethina tumida*

Depuis 2013, l'Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV) gère un système national de détection précoce des maladies animales en Suisse. Celui-ci doit accélérer la détection des épizooties et des agents pathogènes indésirables, et donc empêcher toute propagation. Apinella est un programme national de détection précoce du petit coléoptère de la ruche en Suisse. Des apiculteurs de toute la Suisse contrôlent leurs ruchers afin de déceler le plus tôt possible une éventuelle infestation par le parasite. Le petit coléoptère de la ruche⁽¹⁾ (*Aethina tumida*) est un parasite des abeilles, considéré en Suisse comme une épizootie à combattre⁽²⁾. Depuis 2014, il est régulièrement identifié dans le sud de l'Italie (Calabre), où il risque de ne plus pouvoir être éradiqué. Tôt ou tard, le petit coléoptère de la ruche pourrait se propager en Suisse. C'est pourquoi il est essentiel de détecter de manière précoce les premiers signes de sa présence car cela permettrait ensuite de prendre des mesures efficaces. Le programme de détection précoce Apinella a été lancé en 2015.

Caractéristiques de l'apiculture suisse

L'apiculture en Suisse connaît ces dernières années un nouvel essor. La grande majorité des quelque 19 000 apicultrices et apiculteurs en Suisse pratique cette activité à titre de loisir. Le nombre d'apiculteurs professionnels est très faible. Une exploitation apicole suisse comprend en moyenne dix colonies d'abeilles. L'âge moyen des apiculteurs est légèrement inférieur à 60 ans. La production globale de miel en Suisse s'élève en moyenne à environ 3 300 tonnes par an (environ un tiers de la consommation de miel en Suisse).

Dans le bilan économique de l'apiculture, il convient d'ajouter la valeur de la pollinisation effectuée par les abeilles mellifères. Les abeilles sont en effet indispensables à la pollinisation d'un grand nombre de cultures et de plantes sauvages.

(1) Site internet de l'OSAV: Le petit coléoptère de la ruche <https://www.blv.admin.ch/blv/fr/home/tiere/tierseuchen/uebersicht-seuchen/alle-tierseuchen/kleiner-beutenkaefer.html>

(2) Site internet de l'OSAV: Vue d'ensemble des épizooties <https://www.blv.admin.ch/blv/fr/home/tiere/tierseuchen/uebersicht-seuchen.html>

Programme de détection précoce

Le 12 septembre 2014, les autorités italiennes ont annoncé la découverte de petits coléoptères de la ruche en Calabre, dans le Sud de l'Italie. Afin de détecter le plus rapidement possible l'arrivée de cet insecte en Suisse, le programme de détection précoce Apinella a été officiellement lancé au printemps 2015. Étant donné que la situation en Italie ne s'est pas améliorée par la suite, le programme a été poursuivi en 2016 et 2017.

Recrutement des ruchers et des apiculteurs sentinelles

Les autorités cantonales recrutent au moins cinq ruchers sentinelles par canton. Le nombre de ruchers sentinelles est fixé en fonction de la situation géographique et de la densité des populations d'abeilles de chaque canton.

Les ruchers sentinelles doivent si possible être choisis en fonction des facteurs de risque suivants:

- régions dans lesquelles des abeilles/bourdons sont ou ont été importés,
- ruchers dans des endroits exposés:
- vallées ouvertes vers le Sud,
- autoroutes internationales,
- gares frontalières avec transbordement de marchandises,
- terminaux de conteneurs,
- installations portuaires avec transbordement de marchandises.

L'information et la formation des apiculteurs sentinelles incombent aux cantons. De même, le type et le montant de l'indemnisation des apiculteurs sentinelles pour le travail fourni sont du ressort des cantons.

Réalisation des contrôles

Les contrôles des ruches sont effectués du 1^{er} mai au 31 octobre. Les apiculteurs sentinelles doivent en principe contrôler leurs ruchers sentinelles toutes les deux semaines, soit deux fois par mois pour détecter, le cas échéant, une infestation par le petit coléoptère de la ruche. Toutes les colonies de chaque rucher sentinelle doivent être inspectées afin d'optimiser la sensibilité de la détection précoce. Les

colonies du rucher ne sont en effet pas toutes atteintes de la même manière par le petit coléoptère de la ruche.

Utilisation des pièges diagnostiques

Les contrôles sont effectués au moyen du piège diagnostique de Schäfer⁽³⁾, qui est constitué d'une bande de plastique présentant de petites cavités dans lesquelles les coléoptères peuvent se cacher. Selon les experts, ce piège se prête le mieux à la détection précoce de l'infestation d'une colonie d'abeilles par le petit coléoptère de la ruche.

Notification des contrôles

Après avoir effectué un contrôle, les apiculteurs sentinelles enregistrent les résultats de ce contrôle dans la base de données centrale de l'OSAV, via l'application mobile Apinella ou sur Internet. Ces plateformes de notification ont été développées spécialement pour permettre de saisir et d'évaluer les données de façon centralisée. L'enregistrement comprend les données suivantes : coordonnées du rucher sentinelle, date du contrôle et découverte de coléoptères suspects « OUI/NON » ; si OUI, nombre de colonies atteintes dans le rucher sentinelle. Chaque apiculteur sentinelle peut consulter la liste des contrôles qu'il a déjà réalisés.

En cas de suspicion d'infestation par le petit coléoptère de la ruche, l'apiculteur sentinelle doit en informer immédiatement l'inspecteur cantonal des ruchers, conformément à l'obligation fixée par l'Ordonnance sur les épizooties (OFE). Si l'infestation du rucher par le petit coléoptère de la ruche est confirmée, l'apiculteur est indemnisé, qu'il soit ou non sentinelle.

Évaluation des données au niveau national et communication

Les données mises à jour sont à la disposition de l'OSAV aux fins d'évaluation de la situation sanitaire. L'OSAV envoie toutes les deux semaines aux cantons un mail d'information donnant un aperçu des ruchers sentinelles contrôlés. Les cantons ont ainsi une vue d'ensemble des apiculteurs qui exercent l'activité de sentinelle sur leur territoire et communiquent les données conformément au programme. Durant le programme, les cantons informent les apiculteurs sentinelles des contrôles sur leur territoire et demandent aux apiculteurs retardataires de notifier leurs données. La situation des ruchers sentinelles contrôlés sur le territoire est également

(3) Schäfer, Marc O., Jeff S. Pettis, Wolfgang Ritter and Peter Neumann. 2008. *A scientific note on quantitative diagnosis of small hive beetles, *Aethina tumida*, in the field*. *Apidologie*, 39 5 (2008) 564-565. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:2008038>.

publiée sur le site de l'OSAV. Un rapport final sur le programme est mis annuellement à la disposition des services vétérinaires et du public par un bulletin d'information et sur le site de l'OSAV.

Résultats Apinella

En 2015 et 2016, 140 et 145 apiculteurs sentinelles ont respectivement notifié à l'OSAV, via l'application mobile Apinella ou par Internet les résultats et les dates de contrôle, ainsi que le nombre de colonies contrôlées. Ils ont transmis au total 1 125 et 1 328 notifications valables respectivement pour 2015 et 2016, qui ont pu être utilisées pour l'évaluation du programme de détection précoce Apinella.

Constats épidémiologiques

Le laboratoire de référence de l'Union européenne pour la santé des abeilles a publié un document-guide pour la surveillance du petit coléoptère de la ruche. Les programmes de surveillance proposés doivent permettre de détecter une infestation des ruchers à un niveau minimal de prévalence de 2 %. Afin d'atteindre ce niveau de fiabilité, il est nécessaire de contrôler 146 ruchers. La période durant laquelle ce nombre de ruchers doit être examiné n'est pas définie. Si l'on tient compte des deux contrôles par mois, Apinella a été conforme à ces exigences durant chacun des mois de mai à octobre. Le programme de détection précoce Apinella a permis de montrer que les abeilles suisses étaient indemnes du petit coléoptère de la ruche à l'automne 2016.

Résultats préliminaires pour Apinella en 2017

En 2016, la région de Calabre a annoncé de nouveaux cas. De plus, le coléoptère s'est propagé 200 km vers le nord, dans la province de Cosenza. Par conséquent, le programme de détection précoce Apinella a été reconduit pour l'année apicole 2017. Au total, 152 apiculteurs sentinelles ont notifié à l'OSAV les résultats de leurs contrôles entre mai et octobre 2017. Aucun petit coléoptère de la ruche n'a été décelé lors de ces contrôles.

Remerciements

Le programme de détection précoce Apinella a pu être mis en place en quelques mois grâce à l'engagement de tous les acteurs impliqués. L'Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires remercie les apiculteurs sentinelles, les services vétérinaires cantonaux, le Centre de recherche apicole, le Service sanitaire apicole et les experts en santé des abeilles pour leur travail.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

De la surveillance individuelle à la surveillance collective : connaître le niveau d'infestation des colonies d'abeilles mellifères par *Varroa destructor* pour optimiser et rationaliser la lutte

Julien Vallon (1, 2), Sébastien Wendling (3)

Auteur correspondant : julien.vallon@itsap.asso.fr

(1) Itsap-Institut de l'Abeille, Avignon, France

(2) Unité mixte technologique Protection des abeilles dans l'environnement, Avignon, France

(3) Direction générale de l'Alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France

Résumé

Les apiculteurs disposent de différents moyens de lutte contre *Varroa* : prophylaxie, moyens biotechniques et traitements mais la maîtrise du parasite n'est pas acquise dans la plupart des ruchers. Du fait de la diversité des facteurs influant le développement de *varroa* conjugué à l'efficacité aléatoire des traitements, l'infestation est variable entre ruchers et entre ruches. La surveillance individuelle de l'infestation du cheptel est un outil incontournable de gestion : elle permet d'objectiver les besoins en traitement et de raisonner les interventions selon les moyens de lutte disponibles, la saison et le devenir des colonies. Pour cela, il est nécessaire d'évaluer l'infestation d'un cheptel, de déterminer le caractère prédictif des indicateurs et de disposer de seuils d'intervention. Au niveau collectif, la surveillance permet de caractériser l'état de l'infestation et son évolution au cours du temps. Elle peut être contextualisée afin de répondre à des attentes spécifiques : caractériser l'efficacité de programmes de lutte, acquérir des références pour l'interprétation des suivis individuels et la documentation de dossiers de pharmacovigilance, améliorer la compréhension des facteurs de variation de l'infestation et établir des seuils d'intervention affinés permettant d'alerter les apiculteurs. La diversité des objectifs exprimés n'a pas permis la définition des objectifs d'un outil de surveillance collectif qui reste à construire au sein de la Plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale Plateforme ESA).

Mots-clés

Varroa destructor, *Apis mellifera* L., outil d'aide à la décision, épidémiosurveillance

Abstract

From individual monitoring to collective surveillance: evaluating the infestation of colonies by *Varroa* to optimise and rationalise control efforts
Various control methods against *Varroa* are available to beekeepers: prophylaxis, biotechnical methods, and treatment, but control of the parasite is not achieved in most apiaries. Due to the wide range of factors affecting the development of *Varroa*, associated with the variable efficacy of treatments, infestation is variable between apiaries and even between hives. Individual monitoring of infestation of populations is an essential management tool: it can be used to objectively determine treatment needs and rationalise interventions depending on the available means, the season, and the fate of the colonies. To do this, it is necessary to assess infestation of a population, to determine the predictive nature of the indicators, and to develop intervention thresholds. At the collective level, surveillance can be used to characterise the state of infestation and changes over time. It can be placed in context to address specific needs: characterising the effectiveness of control programmes, developing references for the interpretation of individual follow-up and to document pharmacovigilance dossiers, improving our understanding of the factors affecting the variability of infestation, and establishing fine-tuned intervention thresholds to alert beekeepers. The diversity of objectives expressed did not make it possible to define the objectives of a collective surveillance tool that remains to be set up within the National epidemiological surveillance platform for animal health (ESA Platform).

Keywords

Varroa destructor, *Apis mellifera*, Infestation level, Decision-making tools, Epidemiological surveillance

Une dégradation de l'état de santé des colonies d'abeilles mellifères *Apis mellifera* est observée depuis plusieurs décennies. L'acarien *Varroa destructor* est considéré par la communauté scientifique, par son action propre ou en association avec d'autres facteurs de stress, comme un des principaux responsables des mortalités et affaiblissements des colonies (Rosenkranz et al., 2010). Originaire d'Asie du Sud-Est et parasite d'*Apis cerana*, cet acarien est passé sur un nouvel hôte, *Apis mellifera*, dans le milieu du 20ème siècle et s'est rapidement propagé sur quasiment tous les territoires où *A. mellifera* est implantée. *Varroa* représente aujourd'hui une menace majeure pour les colonies d'abeilles mellifères à l'échelle mondiale. Depuis sa découverte sur l'île de la Réunion en mai 2017 (Esnault et al., 2017), le parasite infeste quasiment toutes les colonies d'abeilles présentes en France, à l'exception de quelques centaines de colonies de certains territoires insulaires toujours indemnes comme l'île d'Ouessant (voir article de L'Hostis dans ce même numéro). Il faut cependant distinguer la présence du parasite et l'apparition des signes cliniques de la varroose, pathologie due à *varroa*. Dans le cadre du réseau de surveillance Résabeilles, la proportion de ruchers en France présentant des signes cliniques évocateurs de la varroose était de 4,70 % des ruchers au printemps et de 12,35 % en été (Hendrikx et al., 2015).

Après avoir rappelé les principales caractéristiques épidémiologiques de l'infestation des colonies d'abeilles par *V. destructor* en lien avec son impact sanitaire, nous présentons l'intérêt et les contraintes de la mise en œuvre d'un suivi de l'apiculteur du niveau d'infestation. Nous terminons par un point d'étape des réflexions techniques mises en œuvre dans le cadre de la Plateforme d'épidémiosurveillance en santé animale (Plateforme ESA) concernant la mise en place d'une surveillance collective concernant ce parasite.

Principales caractéristiques épidémiologiques de l'infestation des colonies d'abeilles par *Varroa*

Le développement de la population de *varroa* au sein d'une colonie d'abeilles est intrinsèquement lié au cycle de développement de la colonie de laquelle il dépend pour sa nutrition et sa reproduction. Il se reproduit exclusivement dans des cellules de couvain operculé renfermant des formes immatures de l'abeille au stade larvaire puis

nymphal. La présence de couvain operculé est donc indispensable pour permettre la croissance d'une population de *varroa* au sein d'une colonie d'abeilles.

Plusieurs modèles mathématiques de dynamique de population ont été développés afin de connaître l'évolution de la population de *V. destructor* dans une colonie. Deux facteurs principaux influent sur la capacité de développement des parasites : la durée de présence du couvain et le niveau initial d'infestation. Ainsi, par modélisation, on estime une multiplication par douze de la population de *V. destructor* dans une colonie possédant du couvain pendant 128 jours (soit une augmentation journalière de 2,1 %) et par 800 quand le couvain est continuellement présent (Martin, 1998). Une différence de population initiale de quelques dizaines d'acariens peut avoir des conséquences importantes sur le taux d'accroissement et la population totale de parasites atteinte après un certain délai. Ainsi, une population de *varroas* dépassant 50 individus dans une colonie en début de saison a toutes les chances d'évoluer par croissance naturelle vers des niveaux critiques impactant la santé de la colonie en cinq à six mois, c'est-à-dire avant la mise en place du traitement de fin de saison apicole (Figure 1).

Cette dynamique de développement de la population d'acariens par croissance naturelle peut être amplifiée par un apport de *varroas* en provenance d'autres colonies d'abeilles présentes dans l'aire de butinage. Ces transferts se produisent lorsque des abeilles parasitées changent de ruche (phénomène de dérive des butineuses), lorsque des abeilles de colonies fortes rentrent infestées à la ruche après avoir pillé les réserves de colonies affaiblies et fortement parasitées (cas des colonies de ruchers abandonnés, de ruchers non traités ou en défaut de maîtrise de l'infestation), ou lorsque des faux-boudons parasités visitent une colonie. Ce phénomène peut concerner plusieurs centaines à plusieurs milliers de *V. destructor* au cours de l'année pour une même colonie (Imdorf et al., 2003) et est difficile à objectiver : l'importance et l'impact de ces transferts entre colonies pourrait ainsi être sous-estimé. Le nombre de *varroas* transféré est fortement corrélé avec le taux d'infestation des colonies voisines (Sakofski et al., 1990). Inversement, des arrêts de ponte sont parfois observés de façon naturelle, en période hivernale ou durant la saison apicole (essaimage, supersédure, périodes de disette ou miellée bloquante,...) et ralentissent la croissance de la population du parasite.

L'acarien a un impact à la fois direct sur les abeilles via les lésions cutanées et les ponctions régulières d'hémolymphe qu'il réalise sur

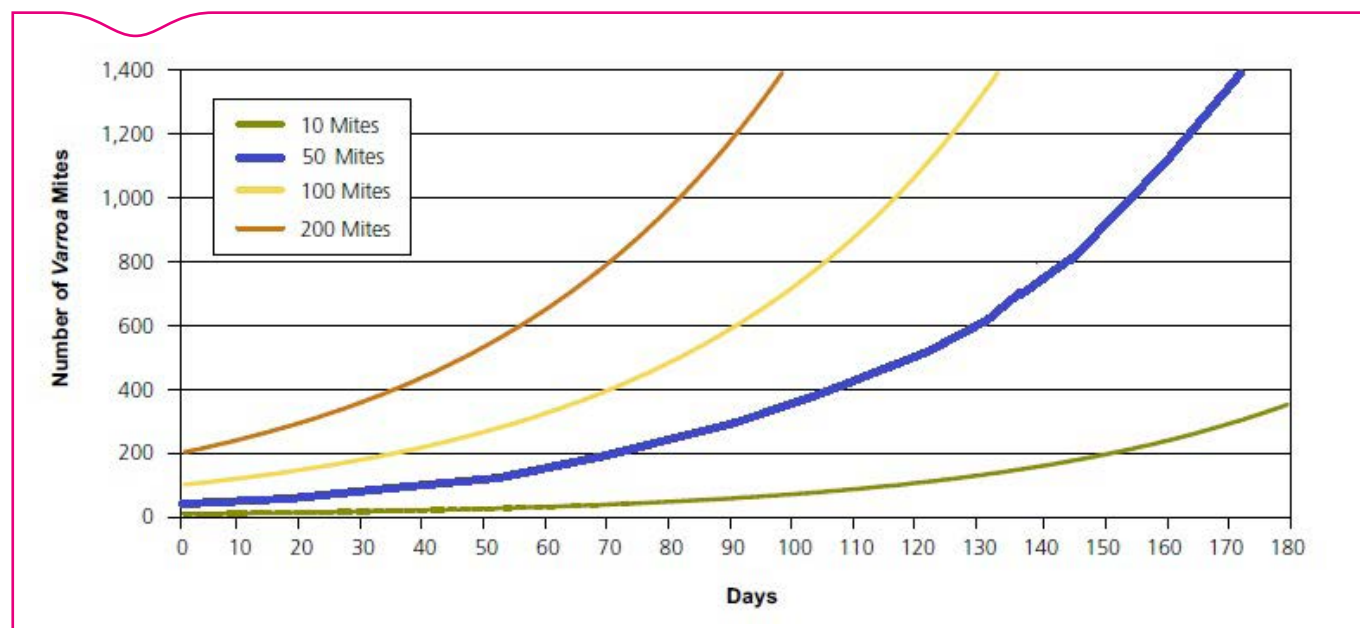


Figure 1. Modélisation de l'évolution du nombre de *V. destructor* en présence de couvain pour différents niveaux d'infestation en début de la saison (complété, d'après The National Bee Unit, 2017). (Number of Varroa Mites = Nombre de *V. destructor*; Days = Jours; Mites = Acariens)

son hôte, et un impact indirect en tant que vecteur de plusieurs virus. Le syndrome qui s'exprime lorsque la colonie est fortement infestée est nommé varroose. Les signes cliniques les plus fréquemment relevés à l'échelle individuelle sont des abeilles présentant des malformations, en particulier des ailes déformées et un abdomen raccourci, des poids des stades larvaire, nymphal et adulte inférieurs à la normale et une capacité réduite à revenir à la ruche pour les butineuses. Des lésions internes comme une réduction de taille des glandes hypopharyngiennes peuvent être observées à l'autopsie. Les principaux signes généraux sont à l'échelle individuelle : une baisse des défenses immunitaires et une augmentation de la sensibilité à d'autres facteurs de stress, une réduction de la capacité de vol, une réduction de l'espérance de vie et une baisse de capacité de la reproduction des faux-bourçons, et à l'échelle de la colonie un affaiblissement pouvant aboutir dans les cas graves à sa mort. Plusieurs études récentes ont établi un lien entre le parasitisme par *V. destructor* et la prévalence des virus dans les colonies d'abeilles (Mondet et al., 2014) et ont montré l'augmentation de la charge virale des abeilles infestées (Khongphinitbunjong et al., 2014). Les suivis de charges virales de plusieurs virus réalisés sur des colonies se trouvant sur le front d'extension de *V. destructor* ont montré que le virus des ailes déformées (DWV) était l'agent infectieux le plus impacté par l'arrivée du parasite puisqu'il voit sa prévalence augmentée fortement. D'autre part, une réduction de la diversité génétique du virus est observée au cours du temps avec sélection de certaines souches, ce qui pourrait expliquer la diminution de la population d'acarien nécessaire pour impacter une colonie d'abeilles (Martin et al., 2012).

Les colonies fortement parasitées voient leurs capacités de développement et de production réduites : l'observatoire de la miellée de lavandes (Kretzschmar et al., 2017) a permis de déterminer un seuil de pression parasitaire de trois varroas phorétiques pour 100 abeilles à partir duquel les colonies présentent un déficit de prise de poids de cinq kilogrammes en moyenne par rapport aux colonies moins infestées. Dans une étude allemande, *V. destructor* est le premier facteur de risque identifié de la mortalité hivernale des colonies (Genersch et al., 2010), devant la prévalence élevée du DWV et du virus de la paralysie aiguë (ABPV), l'âge de la reine et la faiblesse de la colonie à la mise en hivernage. Le lien entre l'infestation en *V. destructor* et les capacités d'hivernage des colonies a été mis en évidence plus largement dans l'étude européenne Epilabee (voir l'article dédié dans ce numéro). De plus, de nombreux auteurs s'interrogent sur le rôle joué par ce parasite dans les surmortalités de colonies d'abeilles (interaction avec d'autres facteurs de risque dans le phénomène du « colony collapse disorder » et les affaiblissements récurrents de colonies). En 2009, un rapport de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) traitant des 'Mortalités, effondrements et affaiblissements des colonies d'abeilles' conclut qu'en France « les facteurs identifiés à l'origine de mortalité importante de colonies ont été essentiellement biologiques, en particulier, l'agent de la varroose » (Toma et al., 2009).

Du fait de la diversité des facteurs influant le développement de *V. destructor* conjugué à l'efficacité imparfaite et inégale des traitements, les niveaux d'infestation s'avèrent être variables entre ruchers et entre colonies d'un même rucher. De plus, toutes les colonies ne sont pas « égales » devant le *Varroa* : certaines supportent des niveaux d'infestation élevés sans signes cliniques ou défaillance, quand d'autres se sont déjà effondrées pour un même niveau d'infestation. On peut cependant considérer que sans intervention contre le parasite, une colonie meurt dans les trois ans dans la plupart des cas. L'infestation est insidieuse : le niveau d'infestation peut rester bas pendant une longue période, avant d'exploser en quelques semaines. L'observation d'un cadre de ruche comportant des abeilles adultes et du couvain est insuffisante pour évaluer l'infestation. En effet, les varroas se trouvent majoritairement enfermés dans les alvéoles de couvain operculé et ceux présents

sur les abeilles adultes (en phase de phorésie) se cachent sous les écailles abdominales des abeilles. De plus, les signes cliniques chez les abeilles et dans le couvain n'apparaissent que tardivement, et lorsque le niveau d'infestation est élevé. Ainsi, une surveillance continue et régulière de l'infestation des colonies est indispensable afin de pouvoir anticiper le développement de la population de parasites, prévoir les interventions et adapter les moyens à mettre en œuvre selon l'urgence de la situation, le moment dans la saison et le devenir des colonies (production en saison ou préparation à l'hivernage).

Les moyens de lutte contre *V. destructor*

Selon l'Agence nationale du médicament vétérinaire (ANMV, 2017), il existait au 8 octobre 2017 douze médicaments disposant d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour le traitement de la varroose chez l'abeille domestique en France (Tableau 1).

Les médicaments Apistan® (tau-fluvalinate) et Apivar® (amitrazé) montrent de bons niveaux moyens d'efficacité, qui peuvent toutefois s'avérer insuffisants dans le cadre d'un unique traitement annuel en cas d'infestation très élevée. Depuis 1995 et l'apparition de populations de *V. destructor* résistantes au tau-fluvalinate, l'Apivar® a été employé par beaucoup d'apiculteurs sans alternance. Le temps d'application a été augmenté à dix semaines en présence de couvain selon les indications du résumé des caractéristiques du produit défini dans le cadre de l'AMM afin d'atteindre un niveau d'efficacité satisfaisant. La fluméthrine, molécule active du Polyvar yellow® et du Bayvarol®, étant, comme la molécule active de l'Apistan®, un pyréthrianoïde, une attention particulière doit être portée pour son emploi à l'apparition d'une résistance ou à la préexistence d'une résistance croisée entre pyréthrianoïdes dans les populations d'acariens.

Les traitements à base de thymol (Apiguard®, Apilife var® et Thymovar®) ou d'acide formique (MAQS®) reposent sur une vaporisation de la substance active dans l'atmosphère de la ruche. L'emploi de ces traitements est conditionné par la température ambiante : il est préconisé entre 10°C (minimum permettant la vaporisation de la substance active) et 29°C (au-delà la vaporisation est trop brutale, ce qui engendre des effets non intentionnels chez la colonie, pouvant aboutir à sa mort dans les cas extrêmes). L'efficacité de ces traitements dépend de conditions climatiques adéquates durant la période de mise en œuvre des traitements et est généralement variable. La plupart du temps, un traitement complémentaire, réalisé à l'occasion d'une période hors couvain pendant l'hiver, est nécessaire afin de réduire l'infestation en *V. destructor* à un niveau satisfaisant.

L'utilisation d'Api-bioxal® (acide oxalique) est quant à elle conditionnée par l'absence totale de couvain operculé, car l'acide oxalique n'est efficace que sur les varroas phorétiques. Ainsi, malgré une forte réduction de la ponte en hiver, la présence de quelques décimètres carrés de couvain operculé peut abriter suffisamment de varroas pour débiter la saison au-delà du seuil de 50 varroas conseillé (Willener et al., 2016).

Enfin, différentes mesures biotechniques peuvent être mises en œuvre dans le cadre d'une lutte intégrée vis-à-vis de *V. destructor*. Elles ont pour effets soit de ralentir la croissance de la population parasitaire au sein des colonies d'abeilles (encagement de reines, découpe de couvain de faux-bourçons, fractionnement de la colonie), soit d'améliorer l'efficacité des traitements acaricides en mettant tous les acariens en phase phorétique (encagement de reines) pour permettre à la molécule acaricide d'atteindre sa cible.

Les apiculteurs doivent avoir conscience que les niveaux d'efficacité permis par les différents médicaments autorisés pour la lutte contre *V. destructor* ne permettent pas la plupart du temps de gérer de façon suffisante le niveau de parasitisme grâce à un unique traitement de fin de saison apicole. En effet, bien que l'application du médicament

Tableau 1. Liste et caractéristiques des médicaments vétérinaires disposant d'une AMM en France. Les efficacités moyennes présentées sont issues de différentes expérimentations réalisées par les associations de développement de l'apiculture (ADA) entre 2005 et 2016 sous la coordination de l'Itsap-Institut de l'abeille, en utilisant un protocole d'estimation d'efficacité basé sur les lignes guides de l'European Medicines Agency (CVMP, 2010)

Préparations commerciales	Substance(s) active(s)	Date de l'AMM	Besoin d'une ordonnance vétérinaire	Efficacité (résultats obtenus lors d'expérimentations)
Apistan®	Tau-fluvalinate	15/02/1989	Non	De l'ordre de 98 % en moyenne, mais risque de résistance chez les acariens
Apivar®	Amitraze 500 mg/lanière	21/04/1995	Oui	De l'ordre de 99 % en moyenne, mais des cas individuels d'échec de traitement
Apitraz®	Amitraze 500 mg/lanière	05/11/2015	Oui	Manque de références
Apiguard®	Thymol	21/12/2001	Non	Variable de 75 à 95 % en moyenne
Thymovar®	Thymol 15 g par plaquette	12/01/2007	Non	Variable de 70 à 90 % en moyenne
Apilife var®	Thymol lévomenthol, huile essentielle d'eucalyptus, camphre	28/01/2010	Non	Variable de 65 à 95 % en moyenne
MAQS®	Acide formique 68,2 g par bande	15/05/2014	Non	Variable de 70 à 90 % en moyenne
Api-bioxal®	Acide oxalique	14/08/2015	Oui	95 à 100 % en absence de couvain
Varromed®	Acide oxalique et acide formique 5 mg/ml et 44 mg/ml	02/02/2017	Non	Manque de références
Varromed®	Acide oxalique et acide formique 75 mg/ml et 660 mg	02/02/2017	Non	Manque de références
Polyvar yellow®	Fluméthrine 275 mg/lanière	27/02/2017	Non	De l'ordre de 99 % en moyenne mais risque de résistance chez les acariens
Bayvarol®	Fluméthrine 3,6 mg/lanière	17/05/2017	Non	Manque de références et risque de résistance chez les acariens

vétérinaire de fin de saison ait été réalisé selon les préconisations du fabricant et du vétérinaire prescripteur, un nombre trop important de varroas peut persister dans les colonies ou des réinfestations peuvent se produire en cours ou à l'issue du traitement. Ainsi, en l'absence d'intervention complémentaire, les colonies vont se voir impactées par l'infestation avant la mise en œuvre du traitement de fin de saison apicole suivante.

Cependant, tous les apiculteurs n'ont pas accès aux mêmes moyens de lutte contre ce parasite: le cahier des charges de l'Agriculture biologique (AB) pour l'apiculture restreint les médicaments utilisables à ceux dont les molécules actives sont des acides organiques (acides oxalique, formique) ou des huiles essentielles (thymol, menthol, eucalyptol). Cette limitation rend plus difficile la maîtrise des populations de *V. destructor* en apiculture AB, la multiplication des interventions ne permettant pas forcément de compenser l'efficacité non totale et inégale des traitements.

Certains apiculteurs argumentent du manque d'efficacité des médicaments, de leur accessibilité difficile ou de leur prix trop élevé pour recourir à des traitements qui ne sont pas des médicaments avec AMM. Cependant ces pratiques ne sont pas autorisées. Par ailleurs, les défauts de praticité ou d'efficacité des médicaments doivent être signalés dans le cadre de la pharmacovigilance⁽¹⁾.

Ainsi, l'évaluation de l'efficacité des traitements utilisés permet d'identifier leurs limites, ce qui contribue à éclairer sur la meilleure stratégie à adopter selon les moyens de lutte disponibles (traitements et mesures biotechniques). D'autre part, un suivi régulier de la pression parasitaire au sein d'un rucher peut permettre de déceler l'insuffisance des traitements mis en œuvre et le risque de mise en péril du potentiel de production des colonies ou de leur devenir.

Enfin, la lutte médicamenteuse connaissant des limites significatives (résistance de l'acarien, qualité des produits de la ruche, santé de l'utilisateur), une sélection génétique des abeilles résistantes à varroa est envisagée (Encadré).

(1) <https://pharmacovigilance-anmv.anses.fr/>

Méthodes d'évaluation de l'infestation d'une colonie

Pour évaluer le niveau d'infestation d'une colonie par *V. destructor*, deux méthodes sont couramment utilisées: le suivi des chutes naturelles du parasite et l'estimation de la proportion d'abeilles ouvrières parasitées (nombre de varroas phorétiques pour cent abeilles).

Le comptage des chutes naturelles se base sur le phénomène de chute des varroas résultant de la mortalité des acariens ou de l'épouillage des abeilles. Le niveau de chute est lié à la population d'acariens présente dans la colonie. Les varroas sont récoltés sur un linge rigide, encollé ou graissé, placé sous un plancher de ruche entièrement grillagé. Afin de limiter l'accumulation de débris sur le linge, le

Encadré. Une solution pour améliorer la lutte à moyen ou long terme: orienter la sélection vers l'obtention d'abeilles résistantes à *Varroa destructor*

Différentes populations d'abeilles *A. mellifera* survivent en l'absence de traitement contre *V. destructor*. Des caractères de tolérance et de résistance à *V. destructor* sont donc présents. Une sélection des colonies d'abeilles dans l'objectif de limiter les populations de *V. destructor* en leur sein est envisageable.

Différents comportements de résistance ralentissent la croissance de la population du parasite et permettent une diminution de la pression parasitaire sur les colonies. L'élimination par épouillage des *V. destructor* adultes est un comportement décrit depuis de nombreuses années, mais la sélection sur ce trait apparaît complexe à mettre en œuvre. En revanche, plusieurs expériences montrent l'efficacité d'une sélection du contrôle par les abeilles de la reproduction des acariens. Cette limitation du succès reproductif de *V. destructor* peut s'expliquer par différentes adaptations, comme la réduction de l'attractivité des larves au parasite, le contrôle de la fertilité des *V. destructor* ou le nettoyage des alvéoles contenant des femelles *V. destructor* en succès reproducteur.

La principale limitation pour le développement à grand échelle d'une sélection basée sur ces critères demeure la difficulté d'évaluer la valeur d'une colonie sur ce caractère et d'allier une sélection efficace à la fois sur des critères sanitaires et zootechniques.

comptage est réalisé au minimum une fois par semaine. Seuls les varroas matures (pigmentés) sont dénombrés et lorsque leur nombre est trop important, le comptage peut être facilité par un quadrillage préalable du lange ou l'emploi d'une grille d'échantillonnage Vareval® (Kretzschmar et al., 2015). Il est recommandé de prendre en compte les comptages pendant deux semaines consécutives. Cette méthode présente l'avantage de permettre une détection précoce d'un faible niveau de parasitisme et peut être employée tout au long de l'année par l'apiculteur sans ouvrir les ruches. Le nombre moyen journalier de chutes obtenu permet de faire des projections du nombre total de varroas présents dans les colonies uniquement lorsque ces dernières présentent du couvain et qu'elles ne sont pas en cours d'effondrement du fait de la varroose. Cette projection n'est toutefois pas précise : la mortalité naturelle quotidienne des acariens doit être multipliée par un facteur allant de vingt à 40 (Branco et al., 2006). En effet, les chutes de *V. destructor* pouvant varier selon de nombreux facteurs (en particulier le comportement des abeilles vis-à-vis du parasite et la durée de vie des parasites selon la saison), il n'existe pas de coefficient de correction commun à toutes les colonies.

L'estimation de la proportion d'abeilles ouvrières parasitées par des varroas phorétiques est réalisée sur un échantillon de 300 abeilles minimum pour être significative (Lee et al., 2010). Les abeilles sont prélevées en secouant le cadre ou, en cas de miellée, en frottant de haut en bas un gobelet sur le cadre pour les faire tomber dans le récipient. Les acariens peuvent être décrochés des abeilles au moyen soit d'une solution détergente ou d'éther (méthode destructrice), soit d'une matière pulvérulente (principalement le sucre glace) ou du dioxyde de carbone, afin de préserver les abeilles et pouvoir les replacer dans leur colonie d'origine. Abeilles et varroas sont ensuite séparés par un moyen mécanique (grille dont la maille mesure 3 mm). Le mode opératoire et le matériel nécessaire sont détaillés dans plusieurs fiches techniques disponibles sur internet⁽²⁾, ou encore décrits dans des tutoriels vidéo⁽³⁾. Le nombre de parasites contenus dans l'échantillon peut être rapporté soit au poids, soit au nombre d'abeilles. Il est d'usage d'exprimer le résultat obtenu en nombre de varroas phorétiques pour 100 abeilles (VP/100 ab). Le nombre d'abeilles est obtenu par une pesée préalable de l'échantillon (en considérant qu'une abeille pèse en moyenne 0,14 g) ou par l'emploi d'un doseur volumétrique étalonné selon la quantité d'abeilles désirée (mais cette méthode reste très imprécise). Selon la composition de l'échantillon, le résultat peut varier pour une même colonie, ainsi, il est parfois recommandé de réaliser le prélèvement sur trois cadres différents pour améliorer la précision de l'estimation. Cependant, pour un suivi de la pression parasitaire par l'apiculteur lui-même, la précision obtenue à partir d'un unique prélèvement est suffisante (Lee et al., 2010). Cette méthode ne permet pas à elle seule de faire de projection sur le nombre total d'acariens infestant la colonie. Pour arriver à cette fin, elle doit être complétée par l'estimation du nombre d'abeilles de la colonie ainsi que la quantité de couvain et son niveau d'infestation. La méthode d'estimation de la proportion d'abeilles ouvrières parasitées par des varroas phorétiques permet toutefois d'obtenir directement un indicateur du niveau de pression parasitaire (ratio parasite/hôte) plus facilement interprétable.

Parce que le nombre de ruches détenues par l'apiculteur peut être important, le travail d'évaluation peut être chronophage, ainsi une méthode d'échantillonnage d'un rucher a été développée afin d'en évaluer son niveau d'infestation moyen. Elle consiste en l'estimation du niveau d'infestation d'un nombre significatif de colonies au sein d'un rucher puis d'en faire la moyenne pour obtenir un indicateur global du niveau d'infestation du rucher. On considère qu'une précision satisfaisante pour l'apiculteur est obtenue en prenant au moins huit colonies pour les ruchers de plus de vingt ruches (et respectivement six, cinq ou trois colonies pour des ruchers de vingt,

dix et quatre colonies) (Lee et al., 2010). Les valeurs d'infestation obtenues sont ensuite moyennées pour calculer un indicateur global du niveau d'infestation du rucher.

Du fait de sa facilité de réalisation, de l'immédiateté de la réponse (Tableau 2) et de l'interprétation directe du résultat en termes de pression parasitaire, l'estimation de la proportion d'abeilles parasitées par des varroas phorétiques est souvent préférée au suivi des chutes naturelles et à l'estimation de l'infestation totale de la colonie. Elle est donc souvent préconisée aux apiculteurs pour réaliser leurs suivis d'infestation en saison apicole, et fréquemment utilisée dans le cadre d'études visant à l'acquisition de données de référence en matière d'infestation et lors de suivis expérimentaux de la dynamique de population de varroas. En période hivernale, la méthode de suivi des chutes naturelles est privilégiée, vu qu'elle ne nécessite pas d'ouverture de ruches et qu'elle est plus sensible que la méthode d'estimation de la proportion d'abeilles parasitées pour évaluer de faibles niveaux d'infestations.

La surveillance comme outil de gestion du parasitisme

La lutte raisonnée vis-à-vis de *Varroa* fait intervenir la notion de seuils au-delà desquels il est préconisé de mettre en œuvre un traitement. La littérature fait mention de différents types de seuils pour orienter les décisions de lutte : seuils « économique », « dommageable », « critique », « d'intervention »,... Certains sont établis sur des aspects économiques et d'autres sur des critères sanitaires. Il conviendrait d'établir au niveau national une définition harmonisée de ces seuils apparaissant comme étant pertinents en précisant leurs objectifs, ainsi qu'un protocole permettant de les fixer expérimentalement, sur la base des données bibliographiques disponibles.

Une fois ces définitions établies, une première grille d'aide à la décision utilisant le ou les seuils pertinents, et prenant en compte la période et la méthode utilisée pour évaluer le niveau de parasitisme pourrait être constituée au niveau national, sur la base de données bibliographiques ou définie arbitrairement par des experts. Ces niveaux pourraient être adaptés localement, ou en fonction du contexte ou des pratiques, et affinés suite à l'acquisition de nouvelles données relatives à l'infestation.

Les limites de chacun des seuils définis devront être précisées. En effet, plusieurs facteurs influent sur le niveau de ces seuils. Certains sont liés : i) aux colonies d'abeilles elles-mêmes comme leur génétique, leur dynamique de population ou des aspects comportementaux, ii) aux parasites comme leur virulence ou les résistances à certaines molécules, iii) à l'environnement de la ruche comme la pression exercée par divers facteurs de stress (ex : pression virale, exposition à des toxiques,...) ou à l'environnement extérieur à la ruche comme les facteurs climatiques locaux et en particulier la durée de la phase hivernale, ou encore iv) aux pratiques apicoles (changements de reines, circuits de transhumance, pratique de renouvellement des colonies...).

Concernant les méthodes, le niveau d'infestation total de la colonie (estimation du nombre total de varroas) n'est pas un indicateur facile à interpréter, car la dangerosité d'un niveau d'infestation donné dépend du nombre d'abeilles constituant la colonie (ou force de la colonie). Ainsi, l'estimation de la pression parasitaire semble plus appropriée. La littérature propose des seuils d'intervention différents selon les saisons : de l'ordre de 1 VP/100 abeilles au printemps, de 3 VP/100 abeilles en été et de 1 VP/100 abeilles en fin de saison et à la mise en hivernage.

La capacité prédictive des indicateurs de pression de prédation reste cependant limitée. Par exemple, les valeurs de l'indicateur « chutes journalières » sont corrélées entre elles sur une durée d'environ un mois (Figure 2) et ceci quelle que soit la période de l'année, alors que

(2) Par exemple : http://adaaq.adafrance.org/downloads/methodes_lavage_abeilles_fiche_finale.pdf

(3) <http://adapi.adafrance.org/infos/varroa.php>.

Tableau 2. Avantages et inconvénients des méthodes d'estimation de l'infestation d'une colonie par *V. destructor* (source : modifié de Vallon et al., 2016a)

Méthode	Avantages	Inconvénients
Suivi des chutes naturelles sur linge	<ul style="list-style-type: none"> Sensibilité en cas d'infestation faible Grille d'échantillonnage Vareval® utilisable en cas de chutes importantes (> 50 varroas) Méthode non intrusive (pas d'ouverture de la ruche) pouvant être employée tout au long de l'année 	<ul style="list-style-type: none"> Équipement nécessaire des ruches en planchers entièrement grillagés et en langes Nécessite de fréquents déplacements (accumulation de débris sur langes) Lecture différée (délai de quinze jours)
Estimation de la proportion d'abeilles parasitées	<ul style="list-style-type: none"> Résultat obtenu après une unique visite du rucher Lecture immédiate sur le terrain avec certains dispositifs Possibilité de replacer les abeilles dans la colonie lors de l'emploi de sucre glace ou de CO₂ 	<ul style="list-style-type: none"> Réponse variable selon l'échantillon d'abeilles prélevé Peu sensible en cas d'infestation faible Risque en conditions climatiques défavorables (nécessite l'ouverture de la ruche et la manipulation de cadres) Risque de prendre la reine

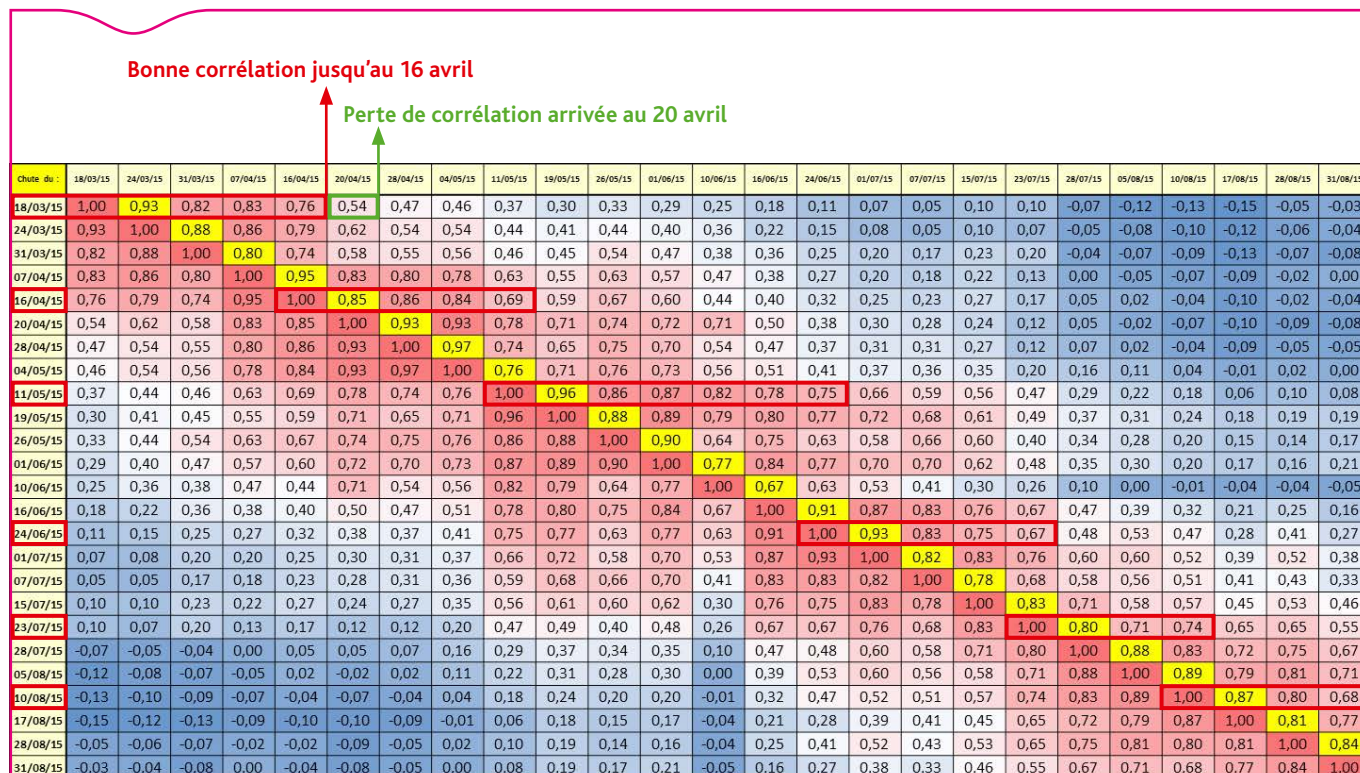


Figure 2. Corrélation dans le temps des chutes de varroas sur linge observées sur 80 colonies (d'après Deniot et al., 2015)
Les chutes sur langes sont corrélées entre elles sur une période donnée (encadrée en rouge) lorsque le coefficient est supérieur à 0,7 pour chaque date de la période

les valeurs de proportion d'abeilles parasitées (VP/100 ab) ont une corrélation plus faible sur cette même durée (Deniot et al., 2015). De même, à partir des chutes moyennes journalières, il n'est pas possible d'évaluer le niveau d'infestation de fin de saison (chutes totales dénombrées sur une durée de quatre mois de septembre à décembre pendant un traitement Apivar®) au-delà d'une période de quelques semaines. L'évaluation précoce de l'infestation attendue en fin d'année n'est pas réalisable mais la surveillance peut être pratiquée régulièrement au cours de la saison selon une fréquence ne dépassant pas plus d'un mois. Ces résultats permettent de construire un protocole de surveillance au niveau individuel, mais restent à valider par le suivi et le retour d'expérience, tout en prenant en compte la charge de travail que représente l'évaluation mensuelle des niveaux d'infestation des ruchers par l'apiculteur.

Face aux besoins en références concernant les indicateurs de pression parasitaire, en particulier selon les traitements employés, des suivis d'infestation contextualisés sont réalisés depuis quelques années par des associations de développement de l'apiculture (ADA Aura en région Auvergne-Rhône-Alpes, Adapi en Provence, ADAAQ en Aquitaine) afin de produire localement des références utiles aux apiculteurs. Ces suivis permettent d'une part de sensibiliser les apiculteurs à la réalisation de suivis d'infestation des colonies à titre individuel et d'autre part fournissent des éléments de comparaison du niveau d'infestation entre apiculteurs ou entre ruchers selon le

traitement appliqué. La prise en compte de cofacteurs comme les niveaux de production ou le succès d'hivernage des colonies suivies, ainsi que d'autres variables d'intérêt (parcours réalisé, occurrence de virus) permettra d'une part de déterminer et valider des seuils selon des situations locales spécifiques, et d'autre part de pouvoir moduler les références produites et les seuils définis. Ainsi, des seuils spécifiques d'infestation par *Varroa* restent encore à déterminer pour prendre en compte certaines situations spécifiques comme par exemple pour les colonies amenées à réaliser des miellées tardives (bruyères en Aquitaine ou arbousier dans le Sud-Est).

Adaptation de la lutte grâce au suivi de l'infestation

L'apiculteur peut agir sur le niveau initial d'infestation (considéré en début de saison ou à la création de la colonie) avec les différents moyens de lutte à sa disposition : par la réalisation d'un ou plusieurs traitements des colonies en fin de saison apicole, puis par la mise en œuvre de mesures de prophylaxie afin de limiter le développement du parasite dans la colonie et sa propagation entre colonies d'un même rucher ou de ruchers voisins (Laroche et al., 2017).

Les traitements sont réalisés principalement en fin de saison de production (entre août et septembre selon les régions), après la

dernière récolte, afin que les substances acaricides ne contaminent pas le miel récolté. Cette période correspond aussi à la préparation de la colonie à l'hivernage (les abeilles d'hiver ont une durée de vie supérieure permettant à la colonie de survivre malgré l'absence de renouvellement de sa population) : la mise en œuvre d'un traitement précocement en fin de saison apicole permet d'avoir des abeilles d'hiver saines. À cette période, la population d'abeilles régresse naturellement pendant que celle des varroas continue de s'accroître ce qui augmente rapidement la pression parasitaire sur les formes adultes et immatures (larves et nymphes) des abeilles destinées à passer l'hiver. L'objectif de la gestion du parasitisme est de maintenir tout au long de l'année une population de varroas dans la colonie en dessous du seuil dommageable. En particulier, l'objectif du/des traitements de fin de saison apicole n'est pas d'éradiquer les parasites, mais de réduire leur population afin de permettre à la colonie de passer l'hiver, se développer normalement au printemps et réaliser une saison apicole sans risque.

Cependant, face à la variabilité d'infestation (selon les années, les ruchers et les colonies d'un même rucher), la maîtrise du parasite basée uniquement sur la mise en œuvre d'un ou plusieurs traitements de fin de saison apicole reste aléatoire. Certaines colonies débutent la saison apicole avec un niveau d'infestation élevé, d'autres voient leur niveau d'infestation atteindre des niveaux inattendus en cours de saison. Ce constat est permis par les suivis d'infestation réalisés dans le cadre d'expérimentations ou de suivis individuels qui doivent être poursuivis pour mieux documenter les différents profils d'infestation. Au printemps, il est possible de recourir à des méthodes biotechniques comme le piégeage des varroas dans le couvain de mâles. Cette méthode permet de retarder l'accroissement de la population du parasite. Sa mise en œuvre nécessite une organisation adaptée qui peut s'intégrer dans le cadre de la conduite globale du rucher (Delamarque, 2017), mais nécessite aussi une logistique, une attention et un temps de travail importants pour la gestion d'un cheptel conséquent. Par ailleurs, des expérimentations ont été réalisées pour évaluer la faisabilité et l'intérêt de traitements de printemps avec l'acide formique ou l'application répétée d'acide oxalique en présence de couvain (Vallon et al., 2016b). Cependant les premiers résultats (Figure 3) montrent que si certaines interventions avec l'acide formique permettent de diminuer la pression parasitaire et de rétablir, dans certains cas, la capacité de production des colonies, l'effet reste temporaire (de l'ordre de deux à trois mois) et ne persiste pas jusqu'à la fin de la saison : l'infestation des colonies traitées atteint un niveau équivalent à celui des colonies non traitées

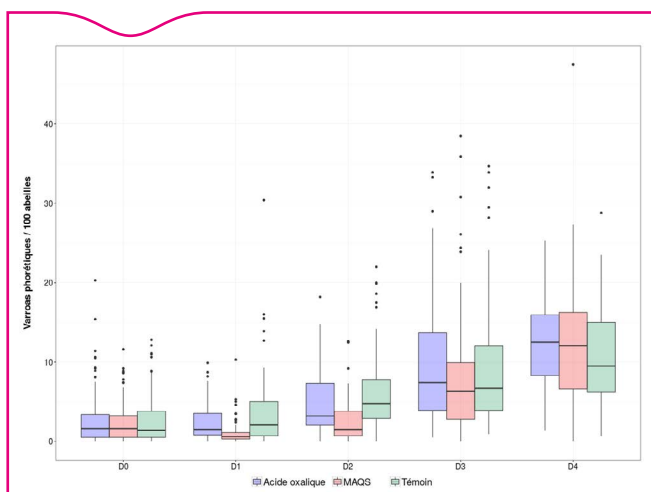


Figure 3. Evolution de la pression parasitaire des colonies selon le traitement de printemps réalisé

Trois sublimations d'acide oxalique réalisées à 5 jours d'intervalle ou MAQS®, en comparaison avec des colonies non traitées (témoin). Les suivis sont réalisés chaque mois de D0 (mars) à D4 (juillet) sur des lots de 120 colonies réparties sur sept ruchers expérimentaux. Les valeurs moyennes sont indiquées au-dessus des box-plot ; DS : différence significative lorsque les intervalles de confiance IC95 % des moyennes ne se recouvrent pas (Vallon et al., 2016)

à la fin de la saison apicole. Par ailleurs, l'augmentation de la teneur en acide formique des miels ainsi obtenus en saison relativise l'intérêt de ce type d'intervention dans le cadre de colonies en circuit de production.

La surveillance individuelle permettant d'anticiper une situation critique exceptionnelle (propre à un cheptel ou à un rucher) pour décider des interventions nécessaires, le suivi de la pression parasitaire est un outil indispensable pour une meilleure connaissance du résultat des actions de lutte employées.

Vers une surveillance collective de l'infestation des colonies en France

Dans le cadre des travaux engagés en 2016 de définition d'une stratégie nationale de prévention, surveillance et lutte contre *V. destructor* pour les prochaines années, la Direction générale de l'Alimentation (DGAL) a souhaité mobiliser le groupe de suivi « abeilles » de la Plateforme ESA pour engager des réflexions techniques sur la construction d'un dispositif de surveillance collective vis-à-vis de varroa en France.

Le premier point abordé a été la définition des objectifs de surveillance, qui peuvent être résumés de la manière suivante :

- caractériser en temps réel la situation de l'infestation en France et son évolution dans le temps (au cours d'une saison, d'une saison à l'autre) et chercher à caractériser les conditions principales pour lesquelles le développement du parasite suit les mêmes tendances,
- évaluer l'efficacité du déploiement de la stratégie nationale de prévention, surveillance et lutte qui aura été définie.

L'atteinte de ces objectifs permettrait par ailleurs en collectant à l'échelle nationale des données de référence sur les profils d'infestation selon les différents contextes apicoles rencontrés d'alimenter des études d'épidémiologie analytique pour avancer dans la définition des seuils d'intervention et la compréhension de l'impact des co-facteurs de stress des abeilles.

Les modalités de cette surveillance collective restent encore à définir et devront nécessairement reposer sur le développement de protocoles standardisés à l'échelon national, la formation des acteurs chargés de produire et collecter les données d'infestation et une sensibilisation large des apiculteurs qui pourraient être appelés à réaliser un suivi de l'infestation dans leur propre rucher.

Mais avant cela, il conviendra d'assurer une réelle adhésion de l'ensemble des acteurs de la filière à ces objectifs collectifs et à l'utilisation qui pourrait être faite des résultats de la surveillance, seul gage d'un réel intérêt à la conduire à l'échelon national.

Remerciements

Les auteurs remercient les partenaires représentés dans le cadre du groupe de travail « Surveillance *Varroa* » de la Plateforme ESA : l'Anses, GDS France, la Fnosad (Fédération nationale des organismes sanitaires apicoles départementaux), la SNGTV, les DDecPP, les SRAL, ainsi que les ADA pour les résultats d'expérimentations, et FranceAgriMer et le Casdar (Compte d'affectation spéciale développement agricole et rural) pour le soutien financier de l'Itsap-Institut de l'Abeille.

Références bibliographiques

- Agence nationale du médicament vétérinaire. 2017. Index des médicaments vétérinaires autorisés en France. Anses. <http://www.ircp.anmv.anses.fr/results.aspx> (page consultée le 08/11/2017).
- Branco, Manuela R., Neil A.C. Kidd, and Robert S. Pickard. 2006. A Comparative Evaluation Of Sampling Methods For *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) Population Estimation. *Apidologie* 37 (4): 452-461.
- CVMP Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. 2010. Guideline on veterinary medicinal products controlling *Varroa destructor* parasitosis in bees. European Medicines Agency. <http://www.ema>

- europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/11/WC500099137.pdf.
- Delamarche G. 2017. L'intérêt économique pour les exploitations du couvain de mâles comme lutte complémentaire contre le *Varroa*. La Santé de l'Abeille 277: 81-91.
- Deniot, C., P. Basselet, A.L. Douteau, M. Beguin et B. Basso. 2015. Suivi d'infestation : varroa phorétiques ou chutes naturelles ? Itsap-Institut de l'abeille. <http://blog-itsap.fr/suivi-dinfestation-de-varroa/>
- Esnault O, Garcia P, Chauzat M-P, Méziani F, Franco S. 2017. Détection de *Varroa* spp. à la Réunion. *Bull. Epid. Santé Anim. Alim*, 79, 35.
- Genersch, E., von der Ohe, W., Kaatz, H., Schroeder, A., Otten, C., & Büchler, R. et al. 2010. The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie*, 41(3), 332-352. <http://dx.doi.org/10.1051/apido/2010014>.
- Hendrikx P., Saussac M., Méziani F., Wendling S., Franco S., Chauzat M.P., 2015. Résabeilles : résultats de deux campagnes de surveillance programmée de la mortalité des abeilles en France. *Bull. Epid. Santé Anim. Alim.*, 70, 19-23.
- Imdorf A, J.-D. Charrière, V. Kilchenmann, S. Bogdanov, P. Fluri. 2003. Alternative strategy in central Europe for the control of *Varroa destructor* in honey bee colonies. *Apiacta* 38: 258-285.
- Khongphinitbunjong, K., L. de Guzman, M. Tarver, T. Rinderer, Y. Chen & P. Chantawannakul. 2015. « Differential viral levels and immune gene expression in three stocks of *Apis mellifera* induced by different numbers of *Varroa destructor* ». *J Insect Physiol* 72: 28-34.
- Kretzschmar, A., E. Durand, A. Maisonnasse, J. Vallon & Y. Le Conte. 2015. A New Stratified Sampling Procedure which Decreases Error Estimation of *Varroa* Mite Number on Sticky Boards. *J Econ Entomol* 108(3): 1435-1443.
- Laroche, Anne-Laure and Cécile Ferrus. 2017. Guide des bonnes pratiques apicoles. ITSAP-Institut de l'abeille. <http://bonnes-pratiques.itsap.asso.fr/>.
- Lee K.V., R.D. Moon, E.C. Burkness, W.D. Hutchison, M. Spivak. 2010. Practical sampling plans for *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies and apiaries. *J Econ Entomol* 103: 1039-1050. <http://dx.doi.org/10.1603/EC10037>.
- Martin, S., A. Highfield, L. Brettell, E. Villalobos, G. Budge, M. Powell et al. 2012. Global Honey Bee Viral Landscape Altered by a Parasitic Mite. *Science* 336(6086): 1304-1306.
- Martin, Stephen. 1998. A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecoll Model* 109(3): 267-281.
- Mondet, F., J. de Miranda, A. Kretzschmar, Y. Le Conte & A. Mercet. 2014. On the Front Line: Quantitative Virus Dynamics in Honeybee (*Apis mellifera* L.) Colonies along a New Expansion Front of the Parasite *Varroa destructor*. *Plos Pathogens* 10(8), e1004323.
- Rosenkranz, P., P. Aumeier, & B. Ziegelmann. 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *J Of Invert Pathol* 103: S96-S119. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016>.
- Sakofski, F. 1990. Quantitative investigations on transfer of *Varroa jacobsoni* Oud. In Proceedings of the International symposium on recent research on bee pathology, edited by FAO, 70-72.
- Toma, B., A. Alix, M. Brown, P. Carpentier, M. Chabert-Ribière, M.-P. Chauzat, R. Delorme et al. 2009. Mortalités, effondrements et affaiblissements des colonies d'abeilles. Maisons-Alfort: Afssa. <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT-Ra-MortaliteAbeillesEN.pdf>.
- Vallon, J., F. Mondet, M. Beguin, A. Kretzschmar & Y. Le Conte. 2016a. Principes de mise en œuvre des outils de suivi de l'infestation en *Varroa* dans les colonies d'abeilles. Avignon: CIAG - Innovations agronomiques.
- Vallon, J., L. Frontero, A. Maisonnasse, L. Caron, A. Dangleant. 2016b. Renforcer la lutte contre *Varroa*: comment réguler l'infestation en cours de saison ? Itsap-Institut de l'abeille. http://itsap.asso.fr/pages_thematiques/ravageurs-maladies/renforcer-lutte-contre-varroa-reguler-linfestation-cours-de-saison/
- Willener, A., V. Diemann, J. Grosjean, J.-D. Charrière. 2016. « Présence de varroa dans le couvain d'hiver et impact sur les traitements ». *Revue Suisse d'Apiculture* 10 : 25-28.
- The National Bee Unit. 2017. « Managing *Varroa* ». The Animal and Plant Health Agency. <http://www.nationalbeeunit.com/index.cfm?pageid=167>.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Situation sanitaire et surveillance vis-à-vis de *Varroa destructor* sur l'île d'Ouessant

Monique L'Hostis*

* Auteur correspondant : monique.lhostis@gmail.com

Docteur vétérinaire, Professeur de parasitologie, Maladies parasitaires et zoologie appliquée, Nantes, France

Résumé

L'île d'Ouessant est située à l'extrême ouest de la France au large du Finistère. Cette île, d'une superficie de 15,58 km², héberge un cheptel d'abeilles *Apis mellifera mellifera*, écotype breton, depuis 1978, date à laquelle un apiculteur ouessant a décidé de réintroduire des abeilles sur l'île dans le but de préserver d'une pollution génétique et biologique. A ce jour, cinq apiculteurs sont présents sur l'île, avec un total de 232 colonies réparties sur onze emplacements.

Devant la menace d'invasion par l'acarien *Varroa destructor*, les apiculteurs ont pris des mesures de protection en s'appuyant sur un arrêté municipal de 1991, ainsi que des mesures de biosécurité. Cependant la situation est fragile du fait de l'intérêt croissant du public pour les abeilles et de l'introduction d'abeilles du continent dans l'Archipel de Molène, proche d'Ouessant. Une surveillance événementielle lors de visites sanitaires permet de contrôler l'absence de l'acarien sur l'île. Par ailleurs, une surveillance programmée spécifique de *Varroa destructor* a été mise en place en 2014 et 2016 dans les ruchers afin d'appuyer la demande de déclaration en zone indemne.

Jusqu'à présent, aucun spécimen de *Varroa destructor* n'a été mis en évidence sur l'île d'Ouessant. Il est cependant urgent d'assurer une protection réglementaire spécifique pour cette situation unique et fragile du territoire français.

Mots-clés

île d'Ouessant, zone indemne, *Varroa destructor*

Abstract

Health situation and surveillance of *Varroa destructor* on the Isle of Ushant (Ouessant, France)

The Isle of Ushant (Ouessant, France) is located at the extreme west of France off the coast of Finistère and covers an area of 15.58 km². Honey bee apiaries (*Apis mellifera mellifera*) have colonies has been installed present on the island since 1978, when a beekeeper decided to reintroduce bees on this island in order to preserve them from genetic and biological pollution. To date, five beekeepers (scattered sites on the island) occupy are present on have 11 apiaries distributed occupy over the island and with have a total of 232 hives. Facing invasion by the *Varroa destructor* mite on mainland, beekeepers took protective measures based on a 1991 municipal order and biosecurity measures. However, the situation is unstable because of the growing interest of the public for bees and the introduction of bees from the continent in Molène Island. Passive surveillance during health visits makes possible to confirm the absence of the mite on the island. In addition, active surveillance of *Varroa destructor* was performed in apiaries in 2014 and 2016 to support the request for declaration as official *Varroa*-free area. Until now, no specimen of *Varroa destructor* has been found on the Isle of Ushant. However, it is urgent to ensure specific regulatory protection for this unique and unstable situation in this French territory.

Keywords

Isle of Ushant, *Varroa*-free area, *Varroa destructor*

Depuis 1978, des apiculteurs bretons ont réintroduit des colonies d'*Apis mellifera mellifera* sur l'île d'Ouessant et ont mis en œuvre un travail de préservation du patrimoine génétique et sanitaire de l'Abeille noire écotype breton sur cette île. Jusqu'à présent, ils ont réussi à maintenir cette situation d'exception.

Suite au classement par la Commission européenne des îles Åland (JOE, 2013) et de l'île de Man (JOE, 2015) en zones officiellement indemnes de *Varroa destructor*, des apiculteurs d'Ouessant ont souhaité déposer un dossier pour le classement de l'île comme zone indemne de *V. destructor* (JOE, 1992). Pour ce faire, en plus de la surveillance événementielle des ruchers, il a été mis en place une surveillance programmée spécifique de *V. destructor* sur l'île.

Cet article retrace les particularités d'Ouessant et de son cheptel apicole, rapporte la situation sanitaire des abeilles sur l'île et argumente des propositions de protection de cette « pépite apicole » dans le territoire français.

Présentation générale de l'île et du cheptel apicole

L'île d'Ouessant

L'île d'Ouessant occupe la position la plus à l'ouest de la Bretagne (France), en limite de l'océan Atlantique et de la Manche (48° 28' N 5° 06' O), à l'extrémité d'un archipel d'îles et d'îlots, l'île habitée la plus proche étant l'île de Molène à 7 km des côtes d'Ouessant (Figure 1). Ouessant mesure 8 km de longueur sur 4 km de largeur dans sa partie la plus importante. Sa surface occupe 15,58 km². L'île d'Ouessant est située à l'extrême ouest du continent (Nord-Iroise) à 20 km des côtes continentales du département du Finistère, au cœur du parc naturel régional d'Armorique (PNRA). Depuis 1988, l'île est également intégrée dans le périmètre de la réserve de biosphère des îles et de la mer d'Iroise, désignation proposée par l'Unesco dans le cadre du programme international « *Man and biosphere* »⁽¹⁾.

Les prairies pâturées qui occupaient plus de la moitié de la surface de l'île il y a un siècle, sont bien souvent remplacées par des friches en raison de l'abandon progressif de l'élevage ovin ; de même, le bocage, constitué d'enclos entourés de murets de pierre sèches consacrés à de la polyculture, a disparu depuis plus de 50 ans. Aujourd'hui, le milieu se referme et les fougères envahissent une bonne partie de l'île. Sur le plan écologique, l'île présente cependant une importante diversité de milieux naturels terrestres (landes et bruyères) et marins caractéristiques de la région bio-géographique atlantique, constituant pour l'essentiel des habitats d'intérêt communautaire au titre de la directive européenne Habitats-Faune-Flore.

Les ruchers et les colonies de l'île

À Ouessant, l'activité apicole existait au XIX^e siècle, elle a repris en 1978 par la réintroduction de deux colonies d'abeilles de l'écotype régional. En 1987, devant l'arrivée imminente du front d'invasion par *V. destructor* en Bretagne, il est décidé de protéger l'écotype breton d'*Apis mellifera mellifera*. Des colonies furent sélectionnées dans le département du Finistère et transportées sur Ouessant.

Le Conservatoire de l'Abeille noire bretonne fut créé en 1989 (Association Conservatoire de l'Abeille noire bretonne (Acanb) Kevredigezh Gwenan du Breizh). La principale mission de l'Acanb est de préserver l'héritage génétique de l'écotype « Abeille noire bretonne », *Apis mellifera mellifera*, dont les particularités génétiques ont été clairement définies pour la première fois en 1995. Un travail de sélection a été alors mis en place par élimination des colonies ne correspondant pas aux critères de l'écotype régional. En 1991, un arrêté municipal a reconnu ce travail de sélection et a renforcé

la protection de cet héritage par l'interdiction d'introduction de matériel génétique exogène pour éviter toute hybridation (arrêté municipal du 18 juin 1991). En 1995, un protocole de mesures a été établi par une équipe scientifique du CNRS (Centre national de la recherche scientifique, Dr Garnery, Gif-sur-Yvette, France), pour réaliser la carte d'identité de cet écotype breton d'abeille noire. En 2006, ces chercheurs ont spécifié que l'écotype d'Ouessant est la seule lignée pure en France.

Depuis quelques années, d'autres personnes ont souhaité acquérir des abeilles sur l'île. Leur cheptel a été constitué à partir des essaims naturels d'Ouessant. À ce jour, deux types d'apiculteurs sont présents sur l'île : l'Acanb et quatre apiculteurs de loisir. Un total de 232 colonies (ruches, ruchettes, nuclei) ont été déclarées sur l'île en 2017 (198 à l'Acanb et 34 chez les autres détenteurs, données DDecPP du Finistère). L'aire de butinage étant réduite à l'île et les ruchers étant dispersés sur le territoire, on peut supposer que les abeilles issues des différents ruchers (11 ruchers à ce jour) se rencontrent sur l'île (Figure 2).

Par ailleurs, sur l'île de Molène, situé à 7 km d'Ouessant, un particulier a souhaité installer des colonies. Après avoir acquis des abeilles d'Ouessant dans un premier temps, il a ensuite fait venir des abeilles du continent en 2015 (4 colonies à ce jour), contre la volonté de l'ensemble des structures apicoles et sanitaires. Nul doute que ces abeilles continentales soient porteuses de *V. destructor*. Aucune vérification n'a pu être réalisée à ce jour par les services vétérinaires.

Historique sanitaire du cheptel apicole de l'île d'Ouessant

Importation d'abeilles

Depuis 1987, aucune importation connue d'abeilles n'a été réalisée à Ouessant. En 1991, l'arrêté municipal interdit l'introduction de colonies, reines ou essaims du continent. Cette prise de position du maire de l'île a permis à *A. m. mellifera* de subsister sans croisement avec d'autres écotypes, ni contamination extérieure (parasites tel que *V. destructor*, souches exogènes de virus et bactéries, etc.).

Importation d'équipement apicole

Dans le règlement intérieur de l'Acanb, il existe une clause de biosécurité quant à l'utilisation de l'équipement : celui utilisé au sein de l'Acanb doit provenir directement de commerces d'équipement apicole. Ces mesures complémentaires ont été organisées pour éviter l'importation accidentelle de matériel biologique provenant du continent. Ainsi, tout équipement entrant sur l'île est neuf, et le stock d'équipement permet de vêtir (vêtements, chaussures, gants, voile,

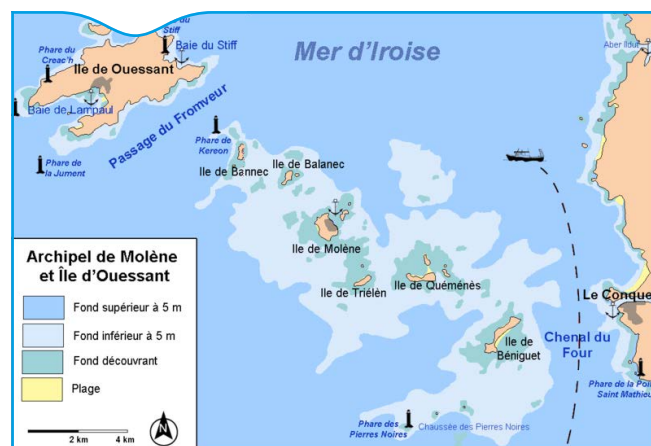


Figure 1. Cartographie de l'Archipel de Molène et de l'île d'Ouessant. Source : https://fr.wikipedia.org/wiki/Archipel_de_Mol%C3%A8ne

(1) <http://www.unesco.org/new/fr/natural-sciences/environment/ecological-sciences/man-and-biosphere-programme/>

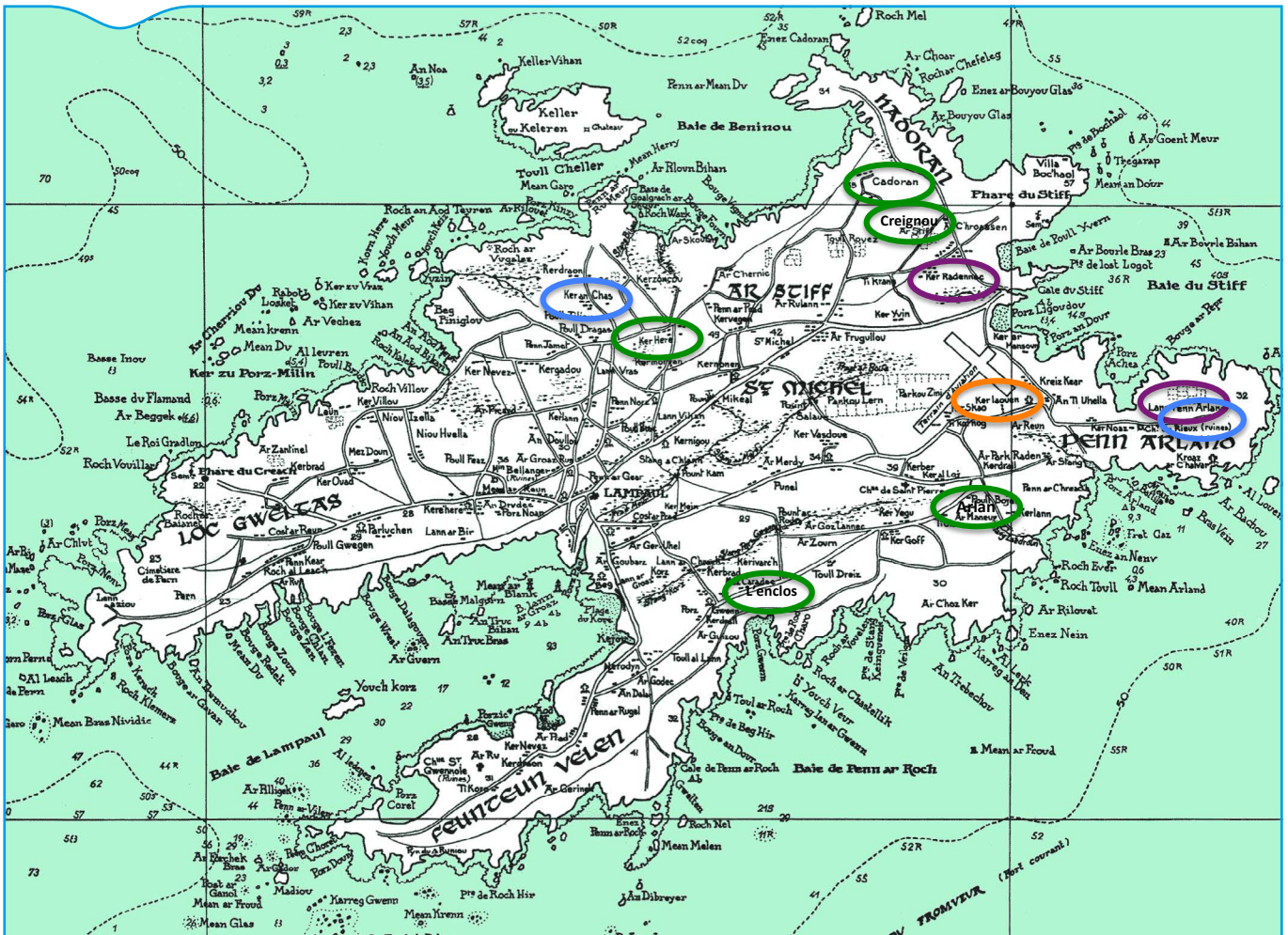


Figure 2. Cartographie des emplacements des ruchers d'Ouessant (les ellipses de couleur correspondent aux différents apiculteurs).
Fond de carte: http://seawatch.free.fr/ouessant/ouessant_verte.gif

etc.) les potentiels participants extérieurs dans le rucher (bénévoles, visiteurs...). Aucun matériel usagé ne doit rentrer dans les locaux, ni dans les ruchers.

Par ailleurs, la commune d'Ouessant a proposé en 2010 par délibération de son conseil municipal une charte apicole, rappelant au respect des colonies de l'île et rappelant les mêmes règles concernant le matériel apicole et l'importation d'abeilles.

Surveillance du cheptel

La surveillance de l'infestation par *V. destructor* combine une surveillance événementielle réalisée depuis de nombreuses années et une surveillance programmée initiée en 2014 pour documenter le statut indemne de *Varroa* de l'île d'Ouessant.

Surveillance événementielle de la varroose

Objectif de la surveillance

L'objectif de la surveillance événementielle est de détecter la présence de *Varroa* à l'occasion de visites réalisées dans les ruchers, que ce soit des visites de vérification du bon état sanitaire des colonies, et qui sont réalisées de manière régulière, ou des visites dans le cadre d'études scientifiques spécifiques.

Suivis et visites

L'île d'Ouessant a bénéficié des services des agents sanitaires apicoles (ASA) et des services vétérinaires depuis 1978 pour conseiller les apiculteurs et mettre en œuvre les mesures et contrôles réglementaires. Ces contrôles ont été conduits principalement pour

protéger les abeilles de l'île contre l'importation et la diffusion ultérieure de microorganismes (virus, bactéries, champignons, etc.) et de parasites non encore présents sur l'île (*V. destructor*). Il n'y a jamais eu de suspicion de varroose par les apiculteurs de l'île. Aucun acarien du genre *Varroa* n'a été signalé lors des diverses manipulations sur les colonies.

Les contrôles sont effectués au quotidien par les apiculteurs, mais aussi régulièrement par des scientifiques dans le cadre de leurs projets de recherche, considérant les colonies d'Ouessant comme des « témoins biologiques négatifs » (Tentcheva et al., 2004; Mouret et al., 2014; Piroux, 2014). Par ailleurs, des visites sanitaires ont été effectuées dans tous les ruchers de l'Acanb par des vétérinaires compétents en apiculture lors de stages (mai 2009 à avril 2015).

Résultats et interprétation

Aucun spécimen de *V. destructor* n'a été signalé durant les visites effectuées au cours de la période mentionnée. Étant donné que la reproduction de l'acarien est rapide et importante, et que la contagiosité du parasite intra et inter ruchers est forte, ceci autorise en conséquence à interpréter ce résultat négatif. La présence du pou des abeilles *Braula coeca*, un insecte commensal, notamment sur les reines d'abeilles d'Ouessant est un signe de non-utilisation de traitements acaricides dans les ruches, traitements qui auraient pu masquer ou diminuer la sensibilité de la détection de *Varroa*.

L'absence de *Varroa* sur les abeilles, dans le couvain et dans les débris de fond de ruche est conforme avec l'absence de *V. destructor* sur l'île. Tous ces prélèvements permettent de renforcer la documentation de la situation sanitaire sur l'île.

Surveillance programmée de la varroose

Surveillance programmée de l'automne 2014

Cette surveillance a été mise en place et financée par l'Acanb sous le contrôle de la DDecPP du Finistère, dans le but de documenter l'absence de *Varroa* dans les ruchers de l'île.

Le protocole défini par le LNR Anses (Stéphanie Franco) et Oniris (Ecole nationale vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation de Nantes, Pr Monique L'Hostis), validé par les services de l'État (direction générale de l'Alimentation, DGAL, ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt MAAF) et appliqué par les services vétérinaires départementaux du Finistère consistait en un comptage des chutes naturelles de *V. destructor* sur 90 % des colonies d'Ouessant. Les échantillons constitués sur des langes graissés ont été analysés par les laboratoires Labéo Orne (Alençon, France).

La population apicole de l'île était constituée de 166 colonies appartenant à quatre propriétaires et distribuée sur dix emplacements (Tableau 1). Considérant la taille de l'île (8 x 4 km), la distribution des ruchers (Figure 2) et la répartition des ressources florales disponibles, chaque colonie de l'île partage, de manière partielle ou totale, l'aire de butinage de toutes les autres colonies de l'île. Ainsi, toutes les colonies de l'île présentent un risque homogène d'infestation par *Varroa* et aucune colonie ni rucher n'est susceptible de pouvoir maintenir l'infestation sans permettre sa diffusion à d'autres colonies de l'île, notamment celles situées sur d'autres emplacements.

La surveillance a permis de réaliser la recherche de *Varroa* sur 150 des 166 colonies présentes sur l'île à savoir toutes les colonies de huit des dix emplacements appartenant à trois des quatre propriétaires d'abeilles de l'île. Aucun spécimen de *V. destructor* n'a été observé sur les langes graissés des 150 colonies inspectées.

Si l'on considère que les langes graissés assurent une bonne sensibilité de détection de *Varroa* des colonies inspectées, et si l'on considère la population de colonies soumise à un risque homogène, les résultats négatifs sur 150 des 166 colonies présentes permettraient d'assurer avec une probabilité de 95 % l'absence de l'infestation au seuil de 0,76 %. Considérant la forte contagiosité de l'acarien, ces résultats sont conformes avec un statut indemne de *Varroa* de l'île d'Ouessant.

Le refus d'un apiculteur (16 colonies) de participer au programme de surveillance est susceptible de modifier légèrement les seuils indiqués mais ne modifie pas l'interprétation sur le statut indemne de *Varroa* d'Ouessant. En effet, les deux emplacements de cet apiculteur étaient à proximité immédiate (quelques dizaines de mètres) d'un autre emplacement inspecté. Etant donné cette proximité ainsi que le partage global des aires de butinage, il peut être considéré comme impossible qu'une éventuelle infestation chez cet apiculteur n'ait pu passer à un autre emplacement.

Surveillance programmée de l'été 2016

Cette surveillance a été mise en place et financée par le PNRA sous l'égide du Comité de gestion et d'orientation de l'Abeille noire bretonne sur Ouessant et Molène et effectuée par un vétérinaire stagiaire de l'ENSV (Ecole nationale des services vétérinaires).

Comme précédemment, ce suivi a été réalisé grâce à la technique des chutes naturelles sur plateaux et une lecture des langes 48 h plus tard (en juin-juillet). Quatre apiculteurs ont accepté ce protocole (l'Acanb, et trois apiculteurs de loisirs), un apiculteur a de nouveau refusé le comptage sur son cheptel (Tableau 1).

Au total, 158 colonies ont bénéficié de ce comptage et aucun spécimen de *Varroa destructor* n'a été mis en évidence. Comme lors de la surveillance réalisée en 2014, le nombre de colonies contrôlées (158 sur l'ensemble du cheptel ouessantin, qui devait comporter de 168 à 173 colonies) et la proximité des emplacements des ruchers sur l'île font que le cheptel apicole d'Ouessant a été considéré indemne de *V. destructor* à l'été 2016.

Tableau 1. Composition du cheptel apicole à Ouessant et nombre de colonies contrôlées pour *Varroa destructor*

Ruchers	Surveillance 2014, colonies contrôlées (non contrôlées)	Surveillance 2016, colonies contrôlées (non contrôlées)	Composition du cheptel en 2017
Acanb	140	139	133 + 77*
Apiculteur A	(15)	(?)	10
Apiculteur B	9	14	13
Apiculteur C	2	4	8
Apiculteur D	-	1	3
Total	151/166	158/168-173	167 + 77*

* 210 colonies, dont 77 colonies en ruchettes ou nuclei (en attente de transfert sur le continent)

Visites sanitaires

Suite à la découverte d'un cas de loque américaine en juillet 2016, lors du contrôle de *V. destructor*, une opération de police sanitaire a été diligentée par la DDecPP du Finistère sur tous les ruchers en 2016 et en 2017 (Tableau 1). Pour exemple, en mai 2017, lors des visites sanitaires conduites dans le cadre de l'APDI (arrêté préfectoral portant déclaration d'infection), toutes les colonies déclarées d'Ouessant et de Molène ont été contrôlées par un vétérinaire mandaté et la DDecPP. Lors de ces visites sanitaires (sans mise en œuvre spécifique de diagnostic de *V. destructor*), aucun signe de varroose, ni de *V. destructor* phorétique n'a été mis en évidence.

Conclusions sur la surveillance de *V. destructor* sur l'île d'Ouessant

Les résultats de la surveillance événementielle comme de la surveillance programmée indiquent que *V. destructor* n'a probablement jamais été introduit sur l'île d'Ouessant et qu'en été 2016, l'île était indemne. Le maintien de cette situation requiert la poursuite d'une surveillance événementielle efficace, la mise en place d'un protocole de surveillance programmée adapté à la vérification régulière de ce statut et le maintien, voire le renforcement, de mesures de protection de la zone. En revanche, la présence de colonies sans doute infestées sur l'île de Molène, proche de 7 km, inquiète les responsables sanitaires, car le risque de passage d'abeilles de Molène vers Ouessant n'est pas nul.

Bénéfices attendus du maintien d'un conservatoire de l'abeille noire bretonne sur ouessant

Les abeilles d'Ouessant vivent en harmonie dans un climat rude, et dans un paysage botanique sauvage. Les reines d'abeilles d'Ouessant vivent et produisent un couvain de qualité durant un minimum de cinq ans, alors que dans un milieu anthropisé tel que la France continentale, les reines ne sont en production que durant un à trois ans en fonction des situations.

A l'heure où les scientifiques prônent le retour à des écotypes locaux pour maintenir une apiculture durable, les conservatoires de l'Abeille noire, isolés de toute possibilité de « pollution génétique », sont devenus indispensables. L'Abeille noire d'Ouessant étant qualifiée d'écotype breton pur, elle devient une référence quant à la réintroduction de souches ouessantines dans les élevages continentaux. Plus globalement, cette action répond à un engagement général en matière de conservation et de relance de races domestiques bretonnes appuyé par la région Bretagne.

Depuis plus de dix ans, les abeilles d'Ouessant constituent un témoin pour la communauté scientifique nationale, voire internationale, pour deux raisons principales: 1) la faible anthropisation de l'île depuis quelques décennies du fait de la désertion agricole permet d'assurer un espace quasi dénué de pesticides (industriels, agricoles...), seul le rail

d'Ouessant (passage maritime emprunté par 47 000 navires/an, situé à 24 milles à l'ouest de l'île) est à l'origine de pics d'hydrocarbures décelés sur les abeilles et le pollen (Lambert et al., 2012), 2) l'absence de *V. destructor* fait d'Ouessant un sanctuaire biologique, car les abeilles vivent en équilibre avec leur environnement comme il y a plus de 30 ans. Ce « témoin blanc » permet à de nombreuses équipes scientifiques d'effectuer des études éco-toxicologiques et éco-pathologiques.

En cas d'introduction, la diffusion de l'acarien sur cette île de 15 km² se ferait probablement en quelques jours ou semaines, étant donné que les abeilles se côtoient non seulement dans les ruchers, mais également entre les ruchers (dérive et pillage) et lors du butinage. Le cheptel apicole insulaire subirait rapidement le même fléau que celui du continent et exprimerait rapidement un « syndrome varroose » (varroose au sens strict et viroses cliniques associées) (Annoscia et al., 2012; Vetharianiam et al., 2012).

En résumé, l'introduction de colonies infestées par *Varroa destructor* sur l'île d'Ouessant impacterait rapidement la force et la vie des colonies d'abeilles mellifères, *Apis mellifera mellifera*. Ceci aboutirait à une enzootie non réversible provoquant une productivité réduite en miel, la disparition d'un réservoir génétique rare et inestimable, la perte des « témoins blancs » au plan scientifique et un déséquilibre environnemental non réversible sur la faune et flore endémique de cet espace encore « quasi naturel ».

Conclusion

Les abeilles d'Ouessant étaient encore indemnes de *V. destructor* à l'été 2016. A ce jour, les examens cliniques effectués ne permettent pas de mettre en évidence de signes cliniques ou de *Varroa* phorétique. Aucune surveillance programmée n'est envisagée, car le financement de l'opération serait à la charge des apiculteurs et aucune réglementation n'en permet l'obligation.

Étant donné l'augmentation de l'engouement du public pour l'apiculture et la présence d'abeilles mellifères (probablement infestées) sur Molène, la situation indemne d'Ouessant se fragilise d'année en année. Plusieurs essais de concertation entre les apiculteurs (à Ouessant, et entre Molène et Ouessant) ont été réalisés par les services vétérinaires du Finistère, le PRNA, les vétérinaires, etc., pour mettre en place une charte des bonnes pratiques apicoles dans les îles d'Ouessant et l'Archipel de Molène.

Des précautions sont d'ores et déjà en place sur l'île, mais le système reste fragile sans réglementation nationale et communautaire. Au plan réglementaire, il est proposé de classer l'île d'Ouessant comme officiellement indemne de varroose au niveau communautaire, en accord avec la directive 92/65/EEC, puis de pouvoir bénéficier d'un classement « protection de zone » au niveau national, et mettre en place un plan de contrôle annuel. Toute implantation de nouvelles colonies dans les îles de Nord-Iroise ne pourra être réalisée que par des abeilles provenant directement d'Ouessant, sous réserve d'études d'impacts (ressources nutritionnelles, pollinisateurs sauvages, analyse du risque de dérive des abeilles entre le continent et les îles) réalisées en amont qui démontreraient la possibilité d'implantation de ruchers sur l'archipel de Molène.

Seule une instance ayant autorité pour imposer des bonnes pratiques et une réglementation de zone indemne pourrait permettre de protéger ce sanctuaire génétique et sanitaire français. Il est urgent de créer un conservatoire qui devrait intégrer la totalité des îles de Nord-Iroise et devenir ainsi un projet national.

Remerciements

Nous tenons à remercier la DDecPP du Finistère (M. Petit et J. Allain), les vétérinaires (A. Ménage et A.-F. Mougenot) et le parc régional naturel d'Armorique pour la mise à disposition des résultats d'investigation ainsi que les apiculteurs pour le travail de protection réalisé depuis 1978.

Références bibliographiques

- Annoscia, D., Del Poccolo, F., Nazi, F. 2012 How does the mite *Varroa destructor* kill the honey bee *Apis mellifera*? Alteration of cuticular hydrocarbons and water loss in infested honey bees. *Journal of Insect Physiology*: 58, 1548-1555.
- Arrêté municipal du 18 juin 1991 (Mairie d'Ouessant) concernant la protection des abeilles d'Ouessant.
- Données DDPP du Finistère concernant le cheptel apicole et les résultats de la surveillance programmée.
- JOE, 1992. Directive européenne 92/65/EEC du 13 juillet 1992. O L 268 du 14.9.1992, p. 54. http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do;jsessionid=026823E04D42626FF3011ECD14095EF3.tpdila20v_2?cidTexte=JORFTEXT000000705712&dateTexte.
- JOE, 2013. Décision d'exécution 2013/503/UE de la Commission du 11 octobre 2013 reconnaissant certaines parties de l'Union indemnes de la varroose des abeilles et fixant les garanties complémentaires obligatoires dans le cadre des échanges à l'intérieur de l'Union et des importations pour la protection du statut officiellement indemne de varroose (JO L 273 du 15.10.2013, p. 38).
- JOE, 2015. Décision d'exécution (UE) 2015/266 de la Commission du 16 février 2015 reconnaissant l'île de Man indemne de la varroose et modifiant l'annexe de la décision d'exécution 2013/503/UE (JO L 45 du 19.2.2015, p.16).
- Lambert, O., Veyrand, B., Durand, S., Marchand, P., Le Bizec, B., Piroux, M., Puyo, S., Thorin, C., Delbac, F., Pouliquen, H., 2012 Polycyclic aromatic hydrocarbons: bees, honey and pollen as sentinels for environmental chemical contaminants. *Chemosphere*: 86, 98_104.
- Mouret, C., Lambert, O., Piroux, M., Beaudeau, F., Provost, B., Benet, P., Colin, M.E., L'Hostis, M. 2013 Prevalence of 12 infectious agents in field colonies of 18 apiaries in Western France. *Revue Médecine Vétérinaire*. 164, 12, 577-582.
- Piroux, M. 2014 Ressources pollinifères et mellifères de l'Abeille domestique, *Apis Mellifera*, en paysage rural du nord-ouest de la France. Agricultural sciences. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. <https://hal-clermont-univ.archives-ouvertes.fr/tel-01135137/document>.
- Tentcheva, D., Gauthier, L., Zappulla, N., Dainat, B., Cousserans, F., Colin, M.E., Bergoin, M. 2004 Prevalence and Seasonal Variations of Six Bee Viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* Mite Populations in France. *Applied and Environmental Microbiology*, Dec. 2004, p. 7185-7191.
- Vetharianiam, I. 2012 Predicting reproduction rate of varroa. *Ecological Modelling*. 224, 11-17.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Loque américaine: une maladie bactérienne du couvain de l'Abeille mellifère

Eva Forsgren*

* Auteur correspondant : eva.forsgren@slu.se

Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Ecology, Uppsala, Suède

Résumé

La loque américaine, due à *Paenibacillus larvae*, est une maladie bactérienne sévère du couvain de l'Abeille mellifère. La loque américaine n'est pas seulement létale pour les larves individuellement, mais potentiellement aussi pour les colonies infectées. La bactérie est globalement enzootique chez l'Abeille mellifère et est transmise par les mouvements des matériels de la ruche et des abeilles. Dans de nombreux pays européens, la maladie est contrôlée par la destruction par le feu des colonies symptomatiques et la mise en place de pratiques apicoles pour éviter la dissémination de l'agent infectieux aux ruches saines. Cet article traite de certaines stratégies de contrôle et de prévention de cette maladie dévastatrice.

Mots-clés

Loque américaine, *Paenibacillus larvae*, abeille mellifère, quarantaine

Abstract

American foulbrood – a bacterial disease in honeybee brood

American foulbrood (AFB), caused by Paenibacillus larvae, is a severe bacterial brood disease of honeybees. AFB is lethal not only to individual larvae but also potentially lethal to infected colonies. The pathogen is enzootic to honeybees world-wide and is readily transmitted via the movement of hive equipment or bees. In many European countries, the disease is controlled through burning of symptomatic colonies and the use of beekeeping management techniques to avoid the spread of the infectious agent to uninfected hives. This text discuss some key points of the control and prevention strategies of this devastating disease.

Keywords

American foulbrood, Paenibacillus larvae, Honeybee, Quarantine

La loque américaine (AFB, de l'anglais American foulbrood) de l'Abeille mellifère est une maladie bactérienne contagieuse très largement répandue à travers le monde, qui cause des pertes économiques considérables dans le monde apicole (Genersch, 2008). La maladie est classée à déclaration obligatoire dans la quasi-totalité des pays du monde. La maladie n'affecte que les stades larvaires de l'Abeille mellifère (*Apis* spp). La loque américaine est très infectieuse, létale pour la larve d'abeille au niveau individuel, et potentiellement létale pour la colonie infectée. Dans l'Union européenne (UE), la loque américaine est une maladie à déclaration obligatoire, dans le cadre des obligations commerciales et d'exportation (directive 92/65/CEE). Dans de nombreux pays européens, la maladie est contrôlée par la destruction par le feu des colonies symptomatiques et la mise en place de pratiques apicoles pour la dissémination de l'agent infectieux aux ruches saines. La législation actuelle ne permet pas aux apiculteurs européens d'utiliser des antibiotiques, car il n'y a pas de limite maximale de résidus (LMR) fixée pour les antibiotiques utilisés dans le contrôle de l'AFB (oxytétracycline et tylosine). Par conséquent, aucun antibiotique ne peut être légalement utilisé, car il y a une tolérance zéro pour les résidus d'antibiotiques dans le miel (Anonymous, 2010a).

Biologie

La maladie est due à la bactérie sporulée *Paenibacillus larvae*, qui produit des exospores extrêmement résistantes à la déshydratation, à la chaleur, au froid et aux agents désinfectants. Les spores sont la seule forme de la bactérie qui peut rester infectieuse sur un matériel contaminé pendant des dizaines d'années (Genersch, 2010). Les jeunes larves sont infectées lorsqu'elles sont nourries avec des aliments contaminés par des spores de *P. larvae*. Les spores pénètrent dans la lumière de l'intestin moyen et y germent, puis elles se multiplient avant d'atteindre l'épithélium de l'intestin moyen, de l'envahir et de tuer la larve (Yue et al., 2008). Les bactéries continuent à se multiplier dans le tissu de la larve morte jusqu'à ce que son cadavre soit intégralement décomposé en une masse brunâtre, filandreuse et collante (Figure 1). Lorsqu'elle a consommé l'essentiel des nutriments du cadavre de la larve, *P. larvae* sporule et la masse collante se dessèche jusqu'à n'être plus qu'une écaille au fond de la cellule du couvain. Une écaille desséchée contient plus de deux milliards de spores bactériennes contagieuses. La production massive de spores extrêmement persistantes dans les colonies infectées rend très difficile le contrôle de la maladie.



Figure 1. Test de l'allumette. Larve infectée retirée avec une allumette. Photo: S Camazine

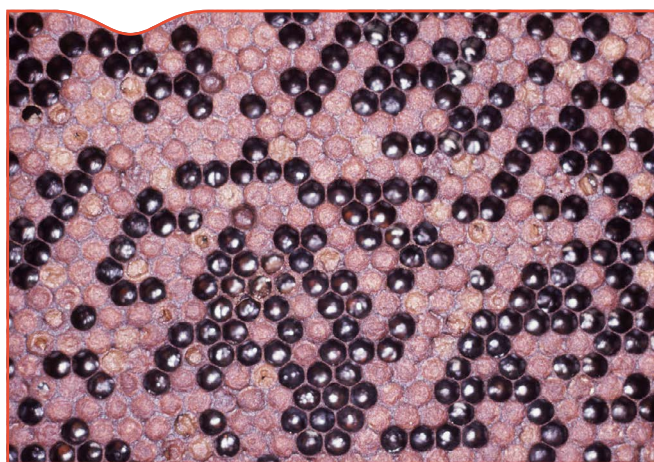


Figure 2. Couvain inégal ou dit « en mosaïque » Photo: H. Hansen



Figure 3. Écailles séchées de loque américaine. Photo: P. Kristiansen

Seules les jeunes larves sont infectées et elles sont plus sensibles à l'infection au cours des douze à 36 heures suivant l'éclosion. Une larve infectée meurt dans un délai de sept à douze jours et, le plus souvent, les larves meurent après que la cellule a été operculée, ce qui rend plus difficile pour les abeilles la détection et l'élimination du couvain malade (Genersch, 2010).

La quantité de spores nécessaire pour causer une maladie clinique dans une colonie d'abeilles est très variable. On peut retrouver un grand nombre de spores dans le miel, les débris de la ruche ou sur les abeilles adultes sans qu'il n'y ait de signe clinique d'infection. Il n'existe pas de corrélation simple entre la quantité de spores de *P. larvae* présentes dans les colonies d'abeilles adultes et la déclaration clinique de la loque américaine (Hansen & Brødsgaard, 1999). Il peut y avoir plusieurs raisons expliquant que certaines colonies succombent à l'infection, tandis que d'autres non, mais ces différences reposent principalement sur la capacité des abeilles à éliminer les larves malades. Il s'agit d'un trait génétique qui, dans une certaine mesure, peut être développé en élevage. D'autres facteurs influent sur la diffusion de la maladie, notamment les pratiques apicoles, comme l'utilisation d'anciens cadres de cire ou d'autres matériels usagés, potentiellement contaminés. Les facteurs de stress, tels que l'altération de la répartition des âges (changements de la proportion d'abeilles adultes par rapport au couvain) ou un manque de nectar et de pollen, peuvent contribuer à l'apparition des signes cliniques de la maladie dans les ruches ayant un risque élevé d'infection (par ex. charges élevées de spores bactériennes).

Diagnostic

Inspection visuelle et diagnostic sur le terrain

L'inspection des cadres nécessite de rechercher visuellement des signes de loque américaine sur tous les cadres de la ruche. Dans les colonies malades, le couvain est inégalement réparti, avec des opercules enfoncés, perforés ou plus foncés (Figure 2). La consistance des larves et des pupes tuées par la loque est flasque, collante, de plus en plus filandreuse et brunâtre. Le diagnostic des cellules suspectes peut se faire à l'aide du test de l'allumette. Pour réaliser le test, il faut introduire un petit bâton (par ex. le bout d'une allumette) dans la larve ou la pupa suspecte, mélanger et retirer délicatement l'allumette. Si le couvain est malade, les tissus retirés auront l'aspect d'un fil fin (Figure 1). Le cadavre de larve collant finira pas se dessécher en écailles foncées, qui adhèrent aux parois de la cellule et qui sont difficiles à éliminer pour les abeilles (Figure 3). Pour cette raison, il vaut toujours mieux rechercher également la maladie dans les cellules operculées, lorsque l'on est alerté par l'aspect des cellules voisines plus anciennes.

Diagnostic en laboratoire

Le diagnostic de la loque américaine en laboratoire repose normalement sur l'examen d'échantillons de cadre de couvain. Dans les cellules du cadre de couvain, on recherche les signes à l'examen visuel, et dans les restes de larves suspects, on recherche la présence des spores bactériennes au microscope. Pour confirmer la présence de *P. larvae*, l'échantillon de larves/pupes suspectes peut être mis en culture dans un milieu de culture artificiel et les colonies bactériennes suspectées peuvent être identifiées par des techniques biochimiques ou moléculaires. Il est également possible de déterminer si *P. larvae* est présent dans une colonie, sans couvain. La bactérie peut être mise en culture à partir d'échantillons d'abeilles adultes, de miel, de cire et de débris de la ruche. Il convient de souligner que la présence de spores bactériennes dans la colonie n'entraîne pas nécessairement chez les larves la présence de signes cliniques. Ce type d'infection, non détectable visuellement, est appelé infection infraclinique ou inapparente. À des niveaux infra-cliniques, la présence de *P. larvae* peut être détectée par culture bactérienne ou par des méthodes

moléculaires à partir d'échantillons de miel, d'abeilles adultes et de débris de la ruche. Par exemple, en République Tchèque et en Finlande, on utilise la mise en culture de la bactérie, à partir de miel et de débris, pour la surveillance programmée de la loque américaine. Les résultats chez des colonies malades au stade clinique montrent que la valeur pronostique de la numération bactérienne dans des échantillons d'abeilles est plus fiable que la numération bactérienne à partir des débris et du miel, et que les méthodes de mise en culture sont plus précises pour détecter les colonies malades que les méthodes moléculaires ayant récemment fait l'objet de publications. Cependant, si l'objectif est de surveiller la présence de la bactérie, quels que soient les signes, la meilleure méthode est clairement de réaliser des recherches moléculaires sur des débris de ruche accumulés pendant l'hiver (Nordström et al., 1995; Forsgren et al., 2014).

Dissémination

Au sein de la colonie

La dissémination de *P. larvae* au sein de la colonie d'abeilles se fait principalement via les abeilles nourricières qui nourrissent les larves avec des aliments contaminés. Ces abeilles non seulement alimentent les larves, mais éliminent également le couvain, dont la mort a été causée par la loque américaine, et contaminent ainsi les aliments des larves avec des spores bactériennes provenant de leur région buccale. Les cellules de couvain vides qui ont contenu des larves mortes de la maladie peuvent réinfecter une nouvelle larve, même si les abeilles ont nettoyé la cellule.

Entre les colonies

La propagation naturelle de *P. larvae* entre les colonies se produit par la dérive et le vol d'abeilles porteuses de spores bactériennes. La transmission entre les colonies est plus fréquente dans les zones où la densité de ruches est importante, car les pratiques apicoles facilitent la propagation de l'agent pathogène entre les colonies. En plus de ces voies « naturelles » de transmission, les pratiques apicoles courantes, comme le transport et la réutilisation de matériel apicole contaminé et le transfert d'abeilles, représentent des voies de transmission beaucoup plus importantes. Tout le matériel qui a été en contact avec des colonies malades est potentiellement infectieux s'il n'a pas été correctement décontaminé. Les hausses extraites sont les parties le plus souvent échangées entre les ruches et sont probablement l'une des principales sources de propagation de la maladie. Le miel peut contenir un grand nombre de spores bactériennes et représente une source d'infection bien connue. Le miel et le pollen provenant d'une colonie malade peuvent être une source d'infection s'ils sont donnés à d'autres colonies. Les abeilles dans les essaims de colonies infectées sont également porteuses de spores de *P. larvae*, mais le risque de développer des signes de la maladie est faible si les abeilles sont transférées sur de la cire gaufrée propre (Fries et al., 2006).

Il est important, pour les apiculteurs, de garder à l'esprit que l'agent infectieux, les spores bactériennes, peut être présent dans une colonie d'abeilles sans qu'il n'y ait aucun signe visible de la maladie. Toutefois, cela ne signifie pas pour autant que des spores bactériennes sont présentes dans toutes les colonies ou tous les ruchers. Les résultats d'une étude nationale récente menée en Suède sur des échantillons composites d'abeilles adultes provenant de ruchers sélectionnés de façon aléatoire ont montré que *P. larvae* pouvait être détecté dans 6 % des ruchers sélectionnés (Forsgren et al., 2017; Figure 4). La prévalence de la loque américaine au stade clinique au cours des dix dernières années est restée stable, à 0,5-1,0 % du nombre total estimé de ruchers, d'après les rapports des inspecteurs apicoles en Suède. La prévalence totale de la loque américaine au stade clinique observée dans les pays participant au programme pan-européen de surveillance Epilobee était également faible, soit 2,36 et 1,88 %,

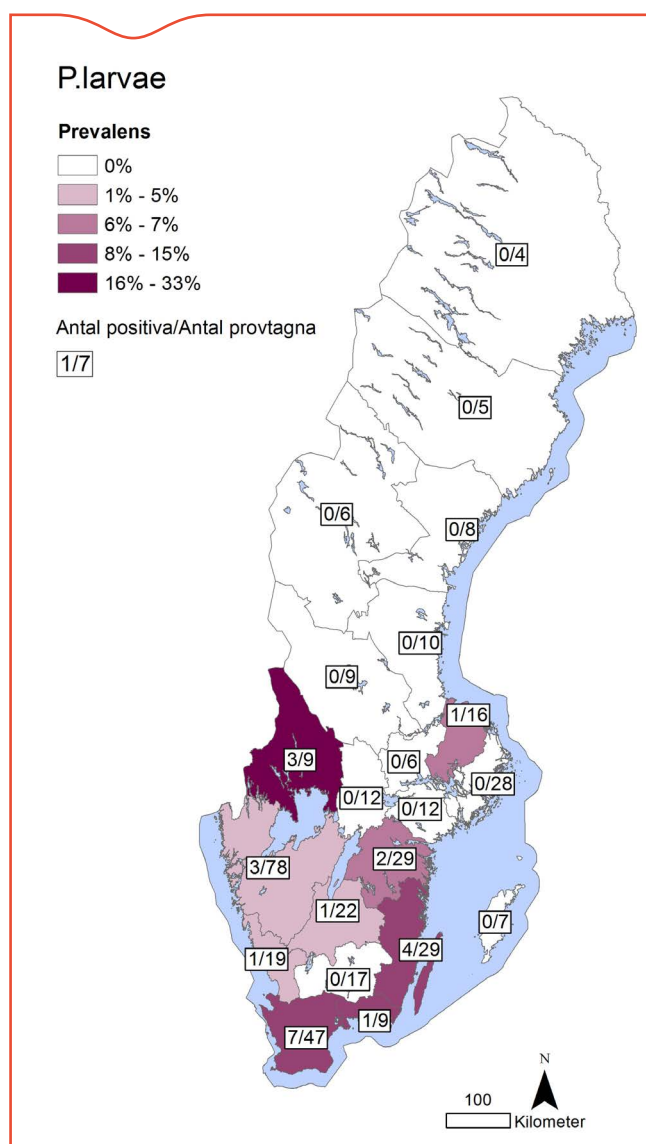


Figure 4. Prévalence de *Paenibacillus larvae* dans les ruchers en Suède (loque américaine au stade infraclinique). Illustration: Linda Svensson, National Veterinary Institute

respectivement au printemps et en été (Chauzat et al., 2016). Cependant, la Suède, tout comme la France, ne met en œuvre qu'une surveillance clinique fondée sur la déclaration des cas par les apiculteurs, ce qui entraîne inévitablement une sous-estimation de la véritable incidence. En France, une étude en 2012 a montré que plus de 10 % des ruchers inspectés étaient touchés par la loque américaine (Chauzat et al., 2015).

Lutte

La loque américaine est une maladie à déclaration obligatoire dans l'UE, et à ce titre, doit être signalée aux autorités compétentes; des mesures de lutte doivent également être mises en œuvre, conformément à la législation du pays. Ces mesures sont notamment la destruction par le feu des colonies infectées et du matériel de la ruche. En Suède, la destruction par le feu des abeilles et des cadres provenant des colonies infectées se fait sous la supervision d'inspecteurs apicoles nommés par les conseils régionaux. Cette procédure a permis de réduire considérablement l'incidence de la loque américaine depuis qu'elle a été mise en place au milieu des années 1970. Conformément à la législation européenne (Anonymous 1992), toutes les colonies présentant des signes visibles doivent être brûlées et toutes les ruches dans un rayon de trois kilomètres doivent être inspectées. En Suède, le matériel apicole, comme par exemple

le matériel de la ruche, peut être retiré pour être correctement désinfecté, mais il est interdit de déplacer les abeilles du rucher. L'autorisation de déplacer les abeilles peut être accordée au bout de deux mois au plus tôt, et après une nouvelle vérification de l'absence de la maladie.

Destruction des colonies atteintes de loque américaine

L'entrée d'une ruche malade doit être condamnée, de préférence la nuit, avant de tuer les abeilles de la colonie. Une fois l'ouverture hermétiquement fermée, il suffit de verser de l'essence sur les têtes de cadres pour tuer les abeilles. Il faut attendre 10 à 15 minutes afin que les vapeurs d'essence tuent toutes les abeilles, mêmes celles qui ne sont pas en contact avec l'essence. En Belgique et en France, ainsi que dans d'autres pays de l'UE, les abeilles sont généralement tuées avec des vapeurs de dioxyde de soufre à l'aide de mèches soufrées ou d'aérosols (Anonymous, 2010b). Les abeilles doivent ensuite être brûlées avec le couvain et les cadres de miel de la colonie malade.

Stérilisation du matériel de la ruche

Il est primordial que l'équipement de la ruche des colonies malades soit soigneusement nettoyé, car les spores de *P. larvae* sont extrêmement résistantes et peuvent rester infectieuses pendant des dizaines d'années. Dans de nombreux pays, il est pratique courante de noircir le bois de la ruche au chalumeau. Le matériel doit être gratté avant d'être noirci ou avant d'être lavé avec une solution à 5 % d'hypochlorite de sodium dans de l'eau. L'hypochlorite de sodium peut être utile pour traiter les matériaux de la ruche en plastique, en métal et en bois. Il est recommandé de faire hiverner toutes les autres colonies du rucher touché sur une nouvelle cire gaufrée et avec du matériel de ruche soigneusement désinfecté. Il est également recommandé de changer tous les cadres retirés du rucher infecté.

Prévention

Les colonies d'abeilles mellifères robustes et non exposées à des stress inutiles ont de meilleures chances d'éliminer le couvain malade. Dans certaines colonies, l'apiculteur peut même ne jamais

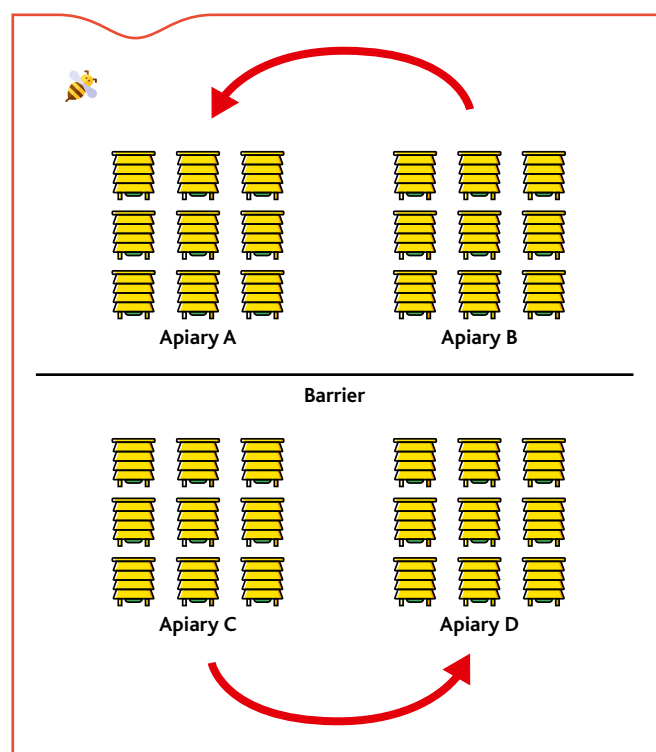


Figure 5. Mise en quarantaine de la zone. Les deux parties sont gérées séparément, sans déplacer les équipements de l'une à l'autre

se rendre compte qu'une larve ou une puppe malade a été produite. Les abeilles ouvrières peuvent les retirer assez efficacement pour éliminer l'infection de la colonie ou *a minima* à un degré où la maladie n'arrive pas au stade clinique. Certaines abeilles montrent des capacités supérieures à d'autres en matière de désoperculation et de retrait; ainsi, élever des abeilles qui présentent ces caractéristiques est le moyen le plus pratique d'améliorer le comportement hygiénique. Le risque pour l'apiculteur réside en ce que, même si certaines colonies parviennent à éliminer complètement la maladie, pour d'autres, il ne s'agira que d'un sursis. L'apiculteur peut diminuer le risque de récurrence de la maladie en renouvelant régulièrement la cire et par d'autres méthodes d'hygiène. La cire des colonies malades de la loque américaine peut contenir un grand nombre de spores bactériennes, cependant, la plupart sont éliminées en faisant fondre et en transformant la cire en cire gaufrée (Gochnauer, 1981). La prise en charge de la maladie, notamment le renouvellement de la cire, peut permettre de diminuer la charge de spores, le risque d'infection et les cas de récurrence dans une exploitation apicole.

Mise en quarantaine

La mise en quarantaine reste un moyen efficace pour limiter et, à terme, éliminer la loque américaine. Ce terme décrit l'isolement du matériel contaminé afin d'empêcher la propagation d'une maladie. C'est un moyen éprouvé de contrôle des maladies, tant chez l'Homme que chez l'animal, qui a fait la preuve de son efficacité pour la loque américaine (Goodwin, 1999).

Mise en quarantaine de la ruche

La mise en quarantaine de la ruche consiste à interdire tout échange de matériel entre les ruches. Un code numérique ou alphabétique est attribué à chaque ruche et tout l'équipement nécessaire est marqué de ce code. Ensuite, plus aucun équipement ne peut être échangé entre les ruches.

Mise en quarantaine du rucher

La mise en quarantaine du rucher consiste à gérer séparément chaque rucher, sans aucun échange de matériel entre eux. Un code numérique ou alphabétique est attribué à tout l'équipement du rucher et une fois marqué, il reste dans ce même rucher. La mise en quarantaine du rucher est une pratique habituelle dans certaines exploitations apicoles et est plus rapide à mettre en œuvre que la mise en quarantaine des ruches. Si une maladie survient, elle touchera probablement les ruches d'un seul rucher et non l'ensemble de l'exploitation.

Mise en quarantaine de la zone

La mise en quarantaine d'une zone consiste à diviser l'exploitation apicole en deux parties. Une partie comprend les ruches qui ont des antécédents de loque américaine et l'autre partie comprend les ruches qui n'ont jamais été touchés. Les deux parties sont gérées séparément, sans déplacer les équipements de l'une à l'autre (Figure 5).

Perspectives

L'utilisation d'antibiotiques pour le contrôle de la loque américaine, comme c'est la pratique aux États-Unis, au Canada et dans plusieurs autres pays, n'est pas une solution durable car cela n'élimine pas les spores bactériennes responsables de l'épizootie, mais masque simplement les signes de la maladie. Il a été estimé que dans les régions où les antibiotiques sont utilisés, 10 à 20 % des colonies infectées par la loque américaine meurent de la maladie, si le traitement antibiotique est arrêté ou est devenu inefficace en raison du développement d'une résistance aux antibiotiques (Cantwell, 1980).

Les techniques apicoles pour éviter la propagation de la maladie à d'autres colonies et à d'autres zones, complétées par la destruction des colonies d'abeilles symptomatiques, constituent un moyen

plus durable de contrôler la loque américaine. Des programmes de surveillance programmée, comme ceux basés sur le dépistage de spores de *P. larvae* dans les ruches, sont mis en œuvre dans certains pays européens. Ces programmes apportent des informations plus fiables et plus complètes sur la prévalence, l'incidence et la répartition géographique de l'agent pathogène et son potentiel épizootique, que la surveillance événementielle, basée uniquement sur la clinique et les déclarations spontanées. La surveillance événementielle est basée sur la déclaration spontanée par les apiculteurs de la maladie au stade clinique; par conséquent, elle dépend de facteurs tels que le niveau de formation, les pratiques apicoles ou des facteurs économiques et sociaux, ce qui a pour effet que le nombre de cas signalé est inférieur à la véritable incidence. Une meilleure connaissance de la maladie (ses signes, ses conséquences et les mesures de lutte réglementaires), associée à une indemnisation réaliste pour les apiculteurs concernés pourrait permettre de réduire cette tendance à sous-déclarer la loque américaine aux autorités sanitaires. Des données plus précises sur la prévalence, l'incidence et la distribution de la loque américaine au niveau national ainsi qu'à l'échelle européenne, fourniraient aux autorités une meilleure base pour améliorer les statuts juridiques et les directives en matière de prévention et de contrôle de la loque américaine.

Références bibliographiques

- Anonymous, 1992. The EU council directive 92/65/EEC.
- Anonymous, 2010a. The EU commission regulation 37/2010 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuff of animal origin.
- Anonymous, 2010b. Directives techniques (OFE; RS 916.401) fixant les mesures à prendre en cas d'épizootie de loque américaine des abeilles. Office vétérinaire fédéral OVF, Switzerland.
- Cantwell, G. E. 1980. The use of ethylene oxide to fumigate honeybee equipment in the US and Canada during the 1970s. *Am Bee J* 120: 840-843.
- Chauzat, M-P., Jacques, A., EPILOBEE consortium, Laurent, M., Bougeard, S., Hendrikx, P., Ribière-Chabert, M. (2016). Risk indicators affecting honeybee colony mortality in Europe: one year of surveillance. *Apidologie* 47:348–378.
- Chauzat, M-P., Saussac, M., Kant, V., 2015. Résabeilles – Bulletin No. 3. (Online: http://www.plateforme-esa.fr/index.php?option=com_content&view=article&id=527:resabeilles-bulletin-nd3&catid=1:latest-news).
- Forsgren, E., Laugen, A.T. 2014. Prognostic value of using bee and hive debris samples for the detection of American foulbrood disease in honey bee colonies. *Apidologie* 45: 10-20.
- Forsgren, E., Fabricius-Kristiansen, L., Hallgren, G., Frössling, J. (2017). Sjukdomar hos honungsbin-en baslinjestudie. *Bitidningen* 116, 7/8: 10-13.
- Fries, I., Lindström, A., Korpela, S. 2006. Vertical transmission of American foulbrood (*Paenibacillus larvae*) in honeybees. *Vet Microbiol* 114: 269-274.
- Genersch, E. 2008. *Paenibacillus larvae* and American foulbrood – long since known and still surprising. *J Consum Protect Food Safety* 3: 429-434.
- Genersch, E. 2010. American foulbrood in honeybees and its causative agent *Paenibacillus larvae*. *J Invert Pathol* 103: S10-S19.
- Gochnauer, T. A. 1981. The distribution of *Bacillus larvae* spores in the environs of colonies infected with American foulbrood disease. *Am Bee J* 121: 332-335.
- Goodwin, M. 1999. Elimination of American foulbrood disease without the use of drugs. National Beekeepers' Association of New Zealand, Naiper, New Zealand.
- Hansen, H., Brødsgaard, C. 1999. American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. *Bee World* 80 (1): 5-23.
- Nordström, S., Forsgren, E., Fries, I. 2002. Comparative diagnosis of American foulbrood using samples of adult honey bees and honey. *J Api Sci* 46, 5-13.
- Yue, D., Nordhoff, M., Wieler, L. H., Genersch, E. 2008. Fluorescence in situ-hybridization (FISH) analysis of the interactions between honeybee larvae and *Paenibacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood of honeybees. *Environ Microbiol* 10: 1612-1620.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Nosema ceranae (Microsporidia): un agent pathogène des abeilles mellifères controversé du 21^e siècle

Cet article est la traduction d'une partie d'une revue « *Nosema ceranae* (Microsporidia), a controversial 21st century honey bee pathogen »

Mariano Higes*, Aránzazu Meana (2), Carolina Bartolomé (3), Cristina Botías (1) et Raquel Martín-Hernández (1)
Environmental Microbiology Reports (2013) 5(1), 17–29 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23757127>

La sélection des parties retenues et la révision de la traduction ont été assurés par Marie-Pierre Chauzat (1), Didier Calavas (2) et Pascal Hendrikx (3)

(1) Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis, Sophia Antipolis, France

(2) Anses, Laboratoire de Lyon, Unité Épidémiologie, Lyon, France

(3) Anses, Laboratoire de Lyon, Unité de coordination et d'animation de la surveillance, Lyon, France

Résumé

Dans le monde entier, le secteur apicole est confronté à une menace grave, avec des pertes de colonies jusqu'à 100 à 1 000 fois plus importantes que celles que l'on a déjà connues. Malgré l'ampleur de cette mortalité des abeilles, les causes de ce phénomène ne sont pas clairement établies, même si l'on pense qu'il s'agit de processus multifactoriels. *Nosema ceranae*, une microsporidie récemment détectée chez l'Abeille domestique dans le monde entier, est impliquée dans le phénomène de perte de colonies, même si son rôle reste controversé. Cet article est une revue des connaissances actuelles sur cet agent pathogène. Il présente les résultats divergents en essayant d'analyser les différences, en particulier les différentes méthodologies appliquées et les aspects de la pathologie qui font débat, tout en abordant un point de vue biologique ou vétérinaire. Pour les auteurs, la maladie causée par l'infection à *N. ceranae* ne peut pas être considérée comme un problème régional, mais doit être abordée à l'échelle mondiale, comme le montre la forte prévalence de ce parasite chez de nombreux hôtes. Ce type de nosérose entraîne non seulement une pathologie évidente chez les abeilles mellifères, tant au niveau de l'individu qu'au niveau des colonies, mais a également des conséquences sur la production de produits de la ruche.

Mots-clés

Nosema ceranae, nosérose

Abstract

***Nosema ceranae* (Microsporidia), a controversial 21st century honey bee pathogen**

The worldwide beekeeping sector has been facing a grave threat, with losses up to 100–1000 times greater than those previously reported. Despite the scale of this honey bee mortality, the causes underlying this phenomenon remain unclear, yet they are thought to be multifactorial processes. *Nosema ceranae*, a microsporidium recently detected in the European bee all over the world, has been implicated in the global phenomenon of colony loss, although its role remains controversial. A review of the current knowledge about this pathogen is presented focussing on discussion related with divergent results, trying to analyse the differences specially based on different methodologies applied and divisive aspects on pathology while considering a biological or veterinarian point of view. For authors, the disease produced by *N. ceranae* infection cannot be considered a regional problem but rather a global one, as indicated by the wide prevalence of this parasite in multiple hosts. Not only does this type of nosemosis causes a clear pathology on honeybees at both the individual and colony levels, but it also has significant effects on the production of honeybee products.

Keywords

Nosema ceranae, nosémosis

À l'échelle mondiale, les abeilles mellifères jouent un rôle écologique et économique important car elles assurent la pollinisation de nombreuses cultures et plantes sauvages (FAO, 2006; Bradbear, 2009). Les pratiques agricoles actuelles, telles que la monoculture à grande échelle, nécessitent la présence d'abeilles à certaines périodes de l'année dans les régions où les populations d'espèces pollinisatrices adéquates sont insuffisantes tout au long de l'année. L'élevage des abeilles permet également de répondre à la demande en produits de la ruche, tels que le miel, la cire d'abeille et la gelée royale (Delaplane et Mayer, 2000), en particulier dans les régions tempérées où se pratique l'essentiel de l'apiculture professionnelle. En effet, environ 40 % des colonies d'abeilles européennes se trouvent dans des régions tempérées méditerranéennes, comme l'Espagne, l'Italie et la Grèce. Par conséquent, il est essentiel de maintenir des conditions sanitaires adéquates dans les colonies d'abeilles afin de garantir la continuité de la pollinisation et de la production de produits de la ruche.

Depuis plusieurs années, le monde apicole est confronté à une menace majeure, avec des pertes jusqu'à 100 à 1000 fois plus importantes que celles connues jusque-là (Parlement européen, 2010). Malgré l'ampleur de cette mortalité des abeilles, les causes de ce phénomène ne sont pas clairement établies, même si l'on pense qu'il s'agit de processus multifactoriels (Parlement européen, 2010; Higes et al., 2010; VanEngelsdorp et Meixner, 2010). Depuis 2007, la prise de conscience du grand public et des chercheurs a stimulé la création de groupes de travail et le financement d'études pour aborder ce problème d'échelle mondiale, en particulier dans des régions où l'apiculture professionnelle est fortement touchée.

La microsporidie *Nosema ceranae* (Figure 1) a été détectée chez l'Abeille européenne au même moment en Europe et en Asie (Higes et al., 2006; Huang et al., 2007), et est désormais l'un des agents pathogènes de l'abeille le plus prévalent dans le monde (Fries, 2010; Higes et al., 2010; Bernal et al., 2011; Traver et Fell, 2011; Medici et al., 2012; Martínez et al., 2012).

En outre, *N. ceranae* est impliqué dans le phénomène mondial de la perte de colonies, même si son rôle reste controversé. Étant donné la relation directe entre *N. ceranae* et les pertes de colonies en Espagne (Higes et al., 2009a; 2010), des groupes de recherche espagnols ont activement cherché à développer des stratégies pour limiter les pertes économiques qu'a entraînées cette microsporidie pour le secteur apicole professionnel. Certaines études suggèrent un lien entre cet agent pathogène et les pertes de colonies dans d'autres pays où les conditions climatiques sont similaires (Higes et al., 2005; 2006; 2008; 2009a; Bacandritsos et al., 2010; Borneck et al., 2010; Hatjina et al., 2011; Invernizzi et al., 2011; Soroker et al., 2011). En

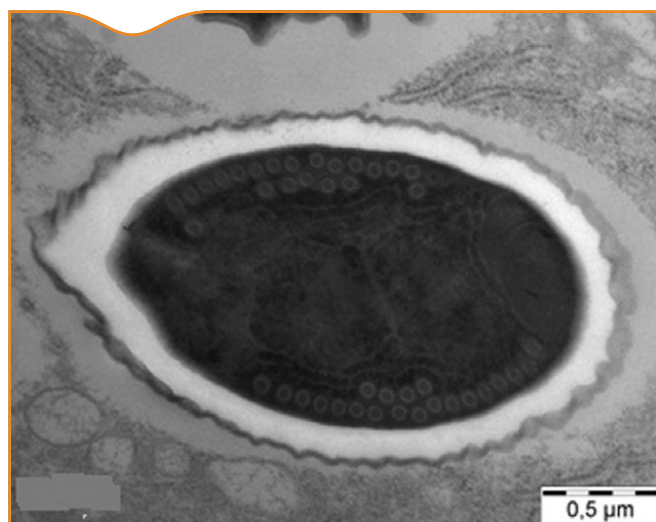


Figure 1. Spore mature de *Nosema ceranae* (microscopie électronique)

revanche, dans les pays plus froids, le rôle de cette microsporidie dans la perte de colonies a été exclu (Gisder et al., 2010; Hedtke et al., 2011; Stevanovic et al., 2011; Dainat et al., 2012a,b), ce qui suggère que certaines conditions spécifiques doivent être réunies pour favoriser les effets pathogènes de *N. ceranae*.

La maladie résulte d'interactions complexes entre les trois éléments fondamentaux en épidémiologie : l'agent pathogène, l'hôte et l'environnement. Chez les abeilles d'élevage, cette interaction est fortement influencée par des facteurs liés à la gestion et l'élevage. Dans cette revue, nous abordons les facteurs qui influencent chacun des éléments de cette triade épidémiologique, et résumons l'état actuel de la recherche sur *N. ceranae*, y compris les données issues d'autres champs de recherche.

Les variants génétiques de *Nosema ceranae* peuvent-ils avoir un pouvoir pathogène différent ?

Plusieurs auteurs ont suggéré que les effets pathologiques de *N. ceranae* en Espagne sont associés à la plus forte virulence de la souche espagnole (Genersch, 2010; Huang et al., 2012). Pour confirmer cette hypothèse, différents variants génétiques doivent d'abord être identifiés avec précision, puis analysés pour déterminer s'ils sont associés à des variations en termes de virulence, de distribution géographique ou de spécificité hôte-parasite.

Une forte variabilité génétique a été mise en évidence chez *Nosema*, ce qui amène à se demander comment une telle variabilité se produit. Des cas de recombinaison chez *N. ceranae* (Sagastume et al., 2010) sont étonnants dans des organismes que l'on croyait avoir un mode de reproduction asexué. Ainsi, il semblerait que l'on puisse regrouper les isolats en trois clusters en fonction de leur zone géographique d'origine : Asie, Amérique du nord (Williams et al., 2008; Chen et al., 2009b) et Argentine (Medici et al., 2012).

Divergences de sensibilité des hôtes et d'effets pathologiques à l'échelle de l'individu

L'hôte est un élément majeur de la triade épidémiologique, dans toutes les maladies. Par conséquent, il a été évoqué que des différences spécifiques entre les lignées pouvaient expliquer les effets pathologiques divergents de *N. ceranae* dans des laboratoires ou des pays différents. En effet, une revue de la littérature disponible met à jour des différences significatives entre les études, en termes de survie et de mortalité des abeilles infectées.

Dans les expérimentations en laboratoire, des facteurs comme l'âge des abeilles, la dose d'origine et la méthode de purification des spores infectantes, peuvent avoir un impact significatif sur la survie des abeilles infectées. Par exemple, le risque de nombreuses maladies infectieuses est très variable en fonction du moment de la vie de l'animal, en raison de modifications physiologiques liées à l'âge. On observe des résultats comparables lorsqu'on utilise de jeunes abeilles (élevées en incubateurs) (Higes et al., 2007; Martín-Hernández et al., 2009; 2011; Alaux et al., 2010; Vidau et al., 2011). Dans ces conditions, la mortalité est plus importante chez les abeilles infectées par *N. ceranae* que chez les abeilles non infectées, et on observe une tendance similaire lorsqu'on étudie de jeunes abeilles (Higes et al., 2007; Alaux et al., 2010; Martín-Hernández et al., 2011; Aufavre et al., 2012; Dussaubat et al., 2012), et lorsque des ouvrières du couvain sont infectées (Paxton et al., 2007), avec un taux de survie inférieur chez les abeilles infectées par rapport aux abeilles non infectées. Toutefois, une très faible mortalité a été observée lorsque des ouvrières adultes d'âge indéterminé (âgées en moyenne de 15

jours) ont été prélevées des rayons et ont été infectées, de façon expérimentale, par *N. ceranae* (Forsgren et Fries, 2010).

Un deuxième facteur qui influence la virulence de l'infection est la source et les conditions de conservation de l'inoculum de spores. L'effet de la température (congelé, réfrigéré ou ambiant) sur la viabilité des spores et la manipulation préalable (si les spores ont été purifiées ou non et la méthode utilisée) peuvent expliquer que l'on retrouve des résultats contradictoires et une mortalité des abeilles variable. Des différences de plasticité thermique ont été mises en évidence entre *N. apis* et *N. ceranae* (Fenoy et al., 2009; Gisder et al., 2010; revue de Martín-Hernández et al., 2009; Fries, 2010) et un choc thermique antérieur peut être, à tort, interprété comme une variabilité de virulence ou d'infectiosité entre les souches. De même, la dose de spores utilisée peut influencer directement la survie des abeilles.

Ces différences méthodologiques importantes doivent être prises en compte lorsque l'on compare les différentes études. Par exemple, la mortalité à 7 jours post-infection allait de 11,1 % à 93,1 % lorsque des spores purifiées au Percoll, conservées à température ambiante, ont été utilisées pour infecter des abeilles naissantes, auxquelles on a inoculé des doses de 10^3 à 10^5 spores par abeille et que l'on a maintenues à 33° C après l'infection (Martín-Hernández et al., 2011). Dans ces conditions, la mortalité des abeilles infectées était toujours supérieure à celle observée chez les témoins non infectés. À l'inverse, dans une autre étude, des spores récentes (aucune donnée n'est fournie sur la purification ou la température de conservation) ont été utilisées pour infecter des ouvrières adultes provenant d'une colonie (âgées de ~ 15 jours) avec des doses de 10^1 à 10^4 spores par abeille, et celles-ci ont été maintenues à 30°C post-infection (Forsgren et Fries, 2010). Malgré ces différences, et même si cette dernière étude ne fournit pas de détails exhaustifs sur la mortalité des abeilles, une mortalité accrue (+ 23 %) a été observée dans une cage d'abeilles infectées par *N. ceranae*, ce qui coïncide avec les résultats de Martín-Hernández et al. (2011), avec une dose de spores par abeille comparable. Toutefois, les conclusions de ces deux expérimentations diffèrent et elles ne peuvent pas être comparées en raison de différences méthodologiques importantes.

Les divergences mentionnées ci-dessus entre les études soulignent la nécessité de protocoles normalisés pour comparer les effets de l'infection à *Nosema* sur le taux de survie des abeilles mellifères, dans lesquels les paramètres suivants seront contrôlés : source des spores, conditions de conservation des spores, processus de purification des spores, viabilité et infectiosité des spores, température d'incubation des abeilles, âge des abeilles au moment de l'infection, sources des abeilles utilisées (colonie ou laboratoire), voire même facteurs nutritionnels ou différences génétiques restant à vérifier. En outre, les différences de conditions expérimentales doivent être mises en avant afin d'éviter des artefacts méthodologiques qui pourraient biaiser les résultats et les conclusions.

Au-delà des effets sur la mortalité des abeilles, plusieurs études ont exploré d'autres aspects de l'infection expérimentale par *N. ceranae* en laboratoire, notamment les effets sur la production d'hormones et de phéromones (Dussaubat et al., 2010; Alaux et al., 2011; Ares et al., 2012), l'immunosuppression (Antúnez et al., 2009; Chaimanee et al., 2012), le stress énergétique (Mayack et Naug, 2009; Martín-Hernández et al., 2011), le comportement (Naug et Gibbs, 2009; Campbell et al., 2010), les lésions anatomo-pathologiques (Higes et al., 2007; 2009b; Paxton et al., 2007; Dussaubat et al., 2012), le taux de glucides et d'acides aminés dans l'hémolymphe (Mayack et Naug, 2010; Aliferis et al., 2012), la dégénérescence tissulaire et le renouvellement cellulaire (Dussaubat et al., 2012), ainsi que sa synergie avec d'autres agents (Alaux et al., 2010; Vidau et al., 2011; Aufaivre et al., 2012). Ces études démontrent clairement que *N. ceranae* exerce des effets pathologiques sur *A. mellifera* similaires à ceux observés chez *A. florea* (Suwannapong et al., 2010).

Tant chez les abeilles infectées de façon expérimentale que naturelle (*A. mellifera*), l'infection par *N. ceranae* altère significativement le comportement de l'abeille et la physiologie du tissu infecté (ventricule).

Avec la détection du parasite par PCR, il a été évoqué que *N. ceranae* pouvait parasiter des structures autres que les cellules épithéliales du ventricule chez les ouvrières, comme les tubes de Malpighi, les glandes hypopharyngées et salivaires (Chen et al., 2009a; Gisder et al., 2010; Copley et Jabaji, 2012), la tête, le thorax, les ovaires, la spermathèque et les ovocytes (Traver et Fell, 2012).

Les nombreux effets délétères de l'infection par *N. ceranae* des abeilles mellifères, au niveau individuel, ont également des conséquences sur la colonie, en altérant directement l'homéostasie de la colonie.

Avec toutes les différences méthodologiques soulevées ici, il est difficile d'établir si les différences de mortalité sont dues à la méthodologie ou aux différences de sensibilité des sous-espèces hôtes. Une souche danoise d'abeilles obtenue par élevage sélectif, a récemment été décrite comme étant plus tolérante aux infections par *N. ceranae* (Huang et al., 2012), c'est pourquoi d'autres études doivent être menées avec différentes sous-espèces d'*A. mellifera* à l'aide de méthodes normalisées.

Nosema ceranae présente-t-il différents profils épidémiologiques ?

Les conditions environnementales influencent également fortement de nombreuses relations parasitaires et, quels que soient les effets de l'altitude, de la gestion de la flore et des colonies, dans les pays chauds comme l'Espagne, il a été observé que la température avait une influence sur les conséquences de *N. ceranae*. Ce facteur pourrait contribuer aux effets divergents de *N. ceranae* sur les colonies infectées à travers le monde et, en effet, des préférences climatiques différentes ont récemment été décrites pour les deux espèces de *Nosema* qui infectent les abeilles mellifères (Martín-Hernández et al., 2012). Même si les deux espèces étaient largement présentes dans la région concernée par l'étude, *N. ceranae* était la microsporidie la plus prévalente retrouvée chez *A. mellifera* dans les régions les plus chaudes (régions méditerranéennes), tandis que *N. apis* était plus prévalente dans les régions plus tempérées. Étant donné que l'infection par *N. ceranae* semble être plus fréquente dans les climats plus chauds et dans des zones géographiques spécifiques, cet élément doit être pris en compte lorsque l'on exporte des abeilles depuis ces régions (Fries, 2010), lorsque l'on se lance dans l'apiculture professionnelle dans des pays chauds (par ex. Espagne, Grèce, Italie), et lorsque l'on évalue l'impact de l'infection par *Nosema* dans des climats chauds.

Des effets environnementaux ont également été impliqués dans la compétition interspécifique entre *N. ceranae* et *N. apis*. *Nosema ceranae* est actuellement la microsporidie la plus prévalente et est souvent la seule espèce détectée chez les abeilles (Klee et al., 2007; Chen et al., 2008; Chen et Huang, 2010; Yoshiyama et Kimura, 2011; Martínez et al., 2012). Toutefois, cette tendance n'a pas été observée dans des régions d'Allemagne ou au Royaume-Uni (Budge et al., 2010; Gisder et al., 2010) où *N. apis* reste plus prévalente. En outre, une analyse récente de la prévalence des *Nosema* spp. à différents niveaux (individu, colonie, rucher, pays, castes d'abeilles) a révélé qu'aucun phénomène de substitution n'a été observé (Martín-Hernández et al., 2012). Bien que *N. ceranae* ait été l'espèce dominante tout au long de l'année, la prévalence de *N. apis* (beaucoup plus faible) a suivi un profil épidémiologique classique (avec un pic au printemps et en automne), similaire à celui décrit par le passé (Gómez Pajuelo et Fernández Arroyo, 1979; Orantes Bermejo et García-Fernández, 1997). Des résultats similaires ont également été observés aux États-Unis (Runckel et al., 2011; Dr R. Cramer, pers. comm.).

La majorité des études classiques ont décrit des profils typiques de prévalence dans les climats tempérés, avec un pic important au printemps lorsque davantage de colonies ont des taux d'infection détectables (Borchert, 1928 revue dans Bailey, 1955; Fries, 2010). Il est important de souligner que lorsque ces études ont été menées *N. apis* était considéré comme étant le seul agent étiologique de la nosérose. Plus récemment, une absence de saisonnalité a été observée dans des conditions tropicales et subtropicales (Fries et Raina, 2003; revue dans Fries, 2010), tandis que l'infection par *N. ceranae* a toujours été détectée tout au long de l'année à différentes latitudes (Martín-Hernández et al., 2007; 2012; Calderón et al., 2008; Higes et al., 2008; Hedtke et al., 2011; Runckel et al., 2011; Stevanovic et al., 2011; Traver et Fell, 2011; Whitaker et al., 2011; Medici et al., 2012; Smart et Sheppard, 2012; Botías et al., 2012a,b; Dainat et al., 2012a).

Dans toute discussion sur les effets environnementaux, la saisonnalité doit être définie. Dans les premières études, ce terme décrivait uniquement la détection de l'agent, ou l'observation de signes cliniques à un moment donné. Cependant, avec le développement de nouvelles méthodes scientifiques, la saisonnalité est aujourd'hui mesurée d'après la prévalence (Fries, 2010), la proportion d'abeilles infectées (Higes et al., 2008), le nombre moyen de spores (Higes et al., 2008; Traver et al., 2011), la valeur du Ct et le nombre moyen de copies (pour les analyses par PCR) (Traver et Fell, 2012). L'utilisation de l'un ou l'autre des paramètres a un impact direct sur le profil épidémiologique. Par exemple, même si le nombre de spores n'est pas un paramètre fiable d'infection (Meana et al., 2010), comparer l'infection des colonies en utilisant ce paramètre donne des taux supérieurs au printemps (avril à juin: Gisder et al., 2010; Traver et Fell, 2011; Traver et al., 2012) ou en automne-hiver (Higes et al., 2008).

Enfin, le fait est que *N. ceranae* est fortement prévalent dans les régions chaudes et sa présence dans les colonies est très importante. Dans ces conditions, de nombreuses abeilles infectées peuvent être directement associées aux signes cliniques observés dans les conditions réelles.

Signes cliniques de l'infection par *N. ceranae* dans les colonies d'abeilles mellifères

L'aspect de l'infection par *N. ceranae* qui est peut-être le plus controversé en apiculture est sa capacité à dépeupler ou tuer une colonie. Après que l'infection des abeilles par *N. ceranae* a été détectée pour la première fois et associée à l'effondrement des colonies en Espagne (Higes et al., 2006; Martín-Hernández et al., 2007), d'autres auteurs ont exclu son rôle dans la perte de colonies (Cox-Foster et al., 2007; Klee et al., 2007). À ce moment-là, peu de données étaient disponibles sur la virulence de *N. ceranae* au niveau de la colonie et elles étaient contradictoires, probablement en raison d'une mauvaise identification des signes cliniques de la maladie, du paramètre à utiliser pour évaluer l'impact de la maladie et d'une mauvaise compréhension des effets infracliniques de l'infection parasitaire. De plus, à cette époque, la seule caractéristique commune aux effondrements de colonies décrits à travers le monde était la mort des individus.

Traditionnellement, les postulats de Koch ont été utilisés comme critères pour déterminer si un micro-organisme donné entraînait une maladie donnée. D'autres limites apparaissent lorsque les signes cliniques d'une infection n'ont pas été décrits avec précision (ou ne sont pas largement acceptés), comme c'est le cas pour la nosérose de type C causée par l'infection par *N. ceranae*.

En tenant compte de ces limites, les postulats de Koch ont fait leur preuve pour les colonies d'abeilles mellifères infectées par *N. ceranae* (Higes et al., 2008), comme cela a été précédemment confirmé chez les abeilles au niveau individuel (voir ci-dessus).

Le point de vue biologique.

Les colonies d'abeilles mellifères sont des systèmes sociaux, dont la performance dépend de l'équilibre qui existe entre les membres de la colonie. En conséquence, tout effet au niveau individuel, dû à l'infection par *N. ceranae*, perturbera l'homéostasie de la colonie. La population de la colonie dépend fortement de la durée de vie des ouvrières (Woyke, 1984; Khoury et al., 2011), qui peut être gravement affectée par une infection par *N. ceranae* (Higes et al., 2007; Paxton et al., 2007; Martín-Hernández et al., 2011). Ces résultats montrent que *N. ceranae* peut activement réduire la population d'abeilles adultes (Higes et al., 2008; Botías et al., 2010; 2012a; Soroker et al., 2011; Eischen et al., 2012).

L'une des conséquences directes du taux de mortalité élevé des butineuses, qui est provoqué par l'infection par *Nosema* (Higes et al., 2008; 2010), est que les jeunes abeilles commencent à butiner plus tôt pour compenser la perte de butineuses disponibles (Huang et Robinson, 1996; Amdam et Omholt, 2003), ce qui modifie alors l'ensemble de l'organisation du travail dans la colonie (Wang et Moeller, 1970). Toutefois, ce mécanisme de compensation raccourcit la durée de vie globale des abeilles adultes (Neukirch, 1982; Schmid-Hempel et Wolf, 1988; Wolf et Schmid-Hempel, 1989) et leur efficacité et leur résilience en tant que butineuses (Oskay, 2007), et réduit également le temps que chaque abeille consacre à la croissance de la colonie et à la production du couvain. En outre, les activités internes au couvain, telles que l'hygiène et les soins au couvain peuvent être impactées par la disponibilité réduite d'abeilles nourrices qui prennent soin du couvain, ce qui augmente, à son tour, le risque de développer des maladies telles que l'ascosphérose (maladie fongique du couvain due à *Ascospheara apis*) (Hedtke et al., 2011). Lorsque la colonie atteint un point où elle ne peut plus assurer la production de couvain à une vitesse suffisante pour compenser la perte d'abeilles adultes, le déclin de la colonie s'accélère rapidement, ce qui entraîne une dépopulation (Khoury et al., 2011), qui constitue le seul signe évident d'infection par *Nosema ceranae* décrit (Higes et al., 2008; 2011; Botías et al., 2010; 2012a; Eischen et al., 2012).

Nosema ceranae altère également de façon significative le comportement alimentaire des abeilles infectées, en augmentant leur sensibilité au sucrose et en diminuant le partage des aliments entre les abeilles (Naug et Gibbs, 2009). De plus, cette microsporidie peut diminuer le taux de sucre dans l'hémolymphe des butineuses, au niveau individuel, et différencier leur état énergétique de celui de la colonie, auquel il est normalement très lié (Mayack et Naug, 2010). Par conséquent, cet état énergétique altéré peut diminuer d'environ deux tiers l'aptitude au vol des butineuses, par rapport à des butineuses non infectées, ce qui est vérifié par des facultés d'orientation altérées chez les abeilles infectées par *Nosema* et un taux d'infection moindre chez les butineuses rentrantes que chez les butineuses partantes (Kralj et Fuchs, 2010). Cette observation suggère que les butineuses infectées meurent pendant le butinage, comme décrit précédemment (Higes et al., 2008). C'est pourquoi il est inhabituel de retrouver des abeilles mortes ou mourantes à proximité de la ruche, en cas de nosérose de type C (Higes et al., 2008; 2009a; 2010; Borneck et al., 2010).

Une colonie infectée par *Nosema* perd constamment des abeilles, qui sont remplacées par des abeilles plus jeunes. La proportion de jeunes abeilles dans la colonie peut expliquer les écarts marqués en ce qui concerne l'impact du parasite (soit en termes de proportion d'abeilles infectées, soit en termes de charge parasitaire) observé au moment de la mort. Les colonies qui meurent l'hiver contiennent généralement peu ou pas d'abeilles naissantes du fait de la diminution ou de l'absence de couvain en entrée de période hivernale. Par conséquent, les abeilles survivantes de la ruche sont fortement infectées et peuvent même transmettre l'infection à la reine (Higes et al., 2008; 2009b). Si la colonie s'effondre au début du printemps, le nombre croissant d'abeilles naissantes va réduire la proportion d'abeilles infectées dans

la ruche et la charge parasitaire, de sorte que l'intensité de l'infection sera moindre que celle observée en hiver (Higes et al., 2008). Ce scénario diffère de celui qui survient lorsque les colonies s'effondrent à cause d'une infection par *Varroa destructor* (Rosenkranz et al., 2010). Dans ce cas, les abeilles qui restent au moment de l'effondrement présentent un taux élevé d'infestation en raison de la multiplication exponentielle des acariens au cours des mois précédents. Le fait que ces facteurs n'aient pas été pris en compte dans certains travaux pourraient expliquer les différences de résultats (Cox-Foster et al., 2007; Dainat et al., 2012a,b; Fernández et al., 2012).

En plus des effets de l'infection sur la dynamique de la colonie, plusieurs autres facteurs peuvent augmenter la sévérité de l'infection par *N. ceranae* sur le terrain, notamment l'exposition à des doses sublétales d'insecticides (Wu et al., 2012), qui peuvent augmenter la mortalité et la sensibilité des colonies aux agents pathogènes et favoriser le rôle de certains virus (Bromenshenk et al., 2010; Bacandritsos et al., 2010). Selon une étude récente, il y aurait une corrélation négative entre le virus des ailes déformées (DWV, de l'anglais deformed wing virus) et *N. ceranae* (Costa et al., 2011), du fait qu'ils se disputent les cellules hôtes ou des fonctions cellulaires spécifiques dans l'intestin moyen des abeilles: *N. ceranae* entraîne des lésions et une dégénérescence des cellules épithéliales de ces tissus (Higes et al., 2007), or, l'appareil digestif semble être un site critique dans la pathogénèse du DWV (Boncristiani et al., 2009).

Le point de vue vétérinaire

En médecine vétérinaire, un signe clinique est une indication objective d'un événement ou d'une caractéristique médicale spécifique qui peut être détectée par un vétérinaire lors d'un examen ou par un scientifique au moyen d'une analyse *in vivo* ou *in vitro* du sujet concerné. Chaque individu d'un groupe étant affecté de façon différente par un ou plusieurs des facteurs de la triade épidémiologique, une maladie qui survient dans un groupe (ruche) se manifeste souvent par une variété de signes, allant d'indétectables ou infracliniques à cliniques, voire fatals. Dans ce contexte, les signes cliniques sont des indicateurs d'une maladie qui peuvent être détectés lors d'un examen clinique classique, tandis que les signes infracliniques sont des indicateurs d'une maladie qui ne peuvent être détectés sans réaliser un examen spécifique. La diminution de la productivité est l'un des signes infracliniques les plus fréquents chez les animaux d'élevage.

De nombreuses analyses de l'infection par *N. ceranae* mesurent uniquement la perte de colonie sur une courte durée (comme par exemple, Williams et al., 2010; Fernández et al., 2012). Néanmoins, au-delà de leur rôle de pollinisatrices, les abeilles mellifères sont des animaux d'élevage qui produisent des denrées alimentaires et non-alimentaires utiles à l'Homme, même si les maladies des abeilles ne sont généralement pas abordées sous cet angle.

Étant donné que des effets négatifs de l'infection par *N. apis* sur la productivité des colonies avaient été décrits auparavant (Farrar, 1947; Moeller, 1962; Kauffeld et al., 1972; Fries et al., 1984), on a supposé que *N. ceranae* avait des effets similaires, étant donné sa rapidité de propagation et sa forte prévalence (revues par Fries, 2010 et Higes et al., 2010). En effet, la production de miel est directement corrélée au niveau d'infection des colonies (Botías et al., 2010; 2012a). Une corrélation négative entre le taux d'infection par *N. ceranae* (proportion de butineuses infectées par colonie) et la production de miel de la colonie (déterminée en pesant la quantité de miel produite par colonie) a été décrite dans des études sur le terrain menées chez des colonies expérimentales en Espagne (Botías et al., 2010; 2012a). Néanmoins, une publication espagnole récente (Fernández et al., 2012) a indiqué que les colonies d'abeilles infectées par *N. ceranae* étaient restées en vie pendant l'étude, avec une production de miel normale. Fait étonnant, la production de miel et

de pollen n'a pas été enregistrée pendant l'étude, et d'autres signes cliniques ou infracliniques n'ont pas été pris en compte ni mesurés. De ce fait, ces résultats doivent être pris avec précaution. Toutefois, d'autres études menées sous différents climats avec différentes techniques apicoles seront nécessaires pour corroborer ces résultats. Dans une étude canadienne, les alvéoles de miel et de pollen ont été évaluées visuellement, comme indicateurs de la vigueur des colonies, pour comparer des colonies non traitées et des colonies traitées par fumagilline (Williams et al., 2010). Aucune corrélation n'a été établie entre la présence de *N. ceranae* et la vigueur des colonies d'une part, la mortalité hivernale d'autre part, même si les groupes étudiés, traités ou non par fumagilline, ne présentaient pas tous des degrés d'infection différents.

L'influence des pratiques apicoles sur l'évolution de la maladie au niveau de la colonie est un autre aspect de l'infection par *N. ceranae* qui est rarement évalué. Une étude récente a démontré le rôle central que jouait la reine dans l'évolution de l'infection par *N. ceranae* dans les colonies d'abeilles mellifères (Botías et al., 2012a). Le retrait de la reine et son remplacement par une reine plus jeune diminuent la proportion de butineuses et de magasinères infectées par *Nosema*, tout en maintenant le taux d'infection global à un niveau compatible avec la viabilité de la colonie. Cet effet doit être pris en compte dans l'étude de l'évolution de la nosérose dans différentes zones géographiques où les reines sont souvent remplacées (naturellement ou par l'apiculteur). Les répercussions possibles des différentes pratiques apicoles, telles que les mesures prophylactiques, doivent également être prises en compte car leurs effets sur *N. ceranae* n'ont pas été établis, et les techniques de manipulation utilisées en Europe du Nord (Hedtke et al., 2011) sont très différentes de celles des régions méditerranéennes (Higes et al., 2008; 2009a; 2010; Bacandritsos et al., 2010; Hatjina et al., 2011).

En résumé, les données actuellement disponibles indiquent que *N. ceranae* est un agent pathogène important des colonies d'abeilles mellifères (Figure 2). Cette microsporidie entraîne une maladie aujourd'hui appelée nosérose de type C (Higes et al., 2010), qui se caractérise par différentes manifestations dues à plusieurs facteurs, dont certains sont connus et d'autres restent à identifier. En effet, de nombreux signes cliniques de cette maladie n'ont pas fait l'objet d'une grande attention, tant de la part des chercheurs que des apiculteurs, l'effondrement de la colonie étant généralement considéré comme étant le principal indicateur de la maladie.

La maladie due à l'infection par *N. ceranae* ne peut pas être considérée comme un problème circonscrit à l'Espagne, comme cela a été suggéré auparavant, mais plutôt comme un problème d'échelle mondiale, comme le montre la forte prévalence de ce parasite chez de nombreux hôtes. Ce type de nosérose touche non seulement les abeilles au niveau individuel et au niveau des colonies, mais il a également des effets considérables sur la production de produits de la ruche. Par conséquent, en plus de l'effondrement des colonies, il est essentiel de continuer à étudier les nombreux effets de l'infection par *N. ceranae* dans les colonies d'abeilles de différentes zones géographiques afin de fournir aux apiculteurs des mesures adéquates de contrôle de la maladie. C'est particulièrement nécessaire dans les régions tempérées, comme les pays méditerranéens où *N. ceranae* a une plus forte prévalence et est plus délétère. En outre, cette région compte un grand nombre d'apiculteurs professionnels et produit des quantités importantes de miel et de pollen, ce qui souligne l'ampleur des répercussions économiques de l'infection par *N. ceranae*. C'est pourquoi nous ne devons pas simplement nous voiler la face, mais, pour le bien de ces apiculteurs professionnels, nous devons rechercher des solutions pratiques à ce problème.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier O. Sánchez, A. I. Asensio, V. Albendea, C. Rogerio, T. Corrales et C. Abascal pour leur soutien technique. Le soutien



Figure 2. Colonie d'abeilles mellifères gravement impactée par *Nosema ceranae*

financier a été apporté par les financements de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (Consejería de Agricultura) et INIA-FEDER (RTA 2008-00020-C02-0, RTA2009-000105-C02-01 and RTA2009-00057).

Références bibliographiques

Alaux, C., Brunet, J.L., Dussaubat, C., Mondet, F., Tchamitchan, S., Cousin, M., et al. (2010) Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environ Microbiol* 12: 774–782.

Alaux, C., Folschweiller, M., McDonnell, C., Beslay, D., Cousin, M., Dussaubat, C., et al. (2011) Pathological effects of the microsporidium *Nosema ceranae* on honey bee queen physiology (*Apis mellifera*). *J Invertebr Pathol* 106: 380–385.

Aliferis, K.A., Copley, T., and Jabali, S. (2012) Gas chromatography-mass spectrometry metabolite profiling of worker honey bee (*Apis mellifera* L.) hemolymph for the study of *Nosema ceranae* infection. *J Insect Physiol* 58: 1349–1359.

Amdam, G.V., and Omholt, W. (2003) The hive bee to forager transition in honeybee colonies: the double repressor hypothesis. *J Theor Biol* 223: 451–464.

Anderson, D.L., and Giaccon, H. (1992) Reduced pollen collection by honey bee (Hymenoptera, Apidae) colonies infected with *Nosema apis* and sacbrood virus. *J Econ Entomol* 85: 47–51.

Antúnez, K., Martín-Hernández, R., Prieto, L., Meana, A., Zunino, P., and Higes, M. (2009) Immune-suppression in the honey bee (*Apis mellifera*) following infection by *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Environ Microbiol* 11: 2284–2290.

Ares, A.M., Nozal, M.J., Bernal, J.L., Martín-Hernández, R., Higes, M., and Bernal, J. (2012) Liquid chromatography coupled to ion trap-tandem mass spectrometry to evaluate juvenile hormone III levels in bee hemolymph from *Nosema* spp. infected colonies. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 899: 146–153.

Aufauvre, J., Biron, D.G., Vidau, C., Fontbonne, R., Roudel, M., Diogon, M., et al. (2012) Parasite-insecticide interactions: a case study of *Nosema ceranae* and fipronil synergy on honeybee. *Sci Rep* 2: 326 (1–7).

Bacandritsos, N., Granato, A., Budge, G., Papanastasiou, I., Roinioti, E., Caldon, M., et al. (2010) Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies. *J Invertebr Pathol* 105: 335–340.

Bailey, L. (1955) The epidemiology and control of *Nosema* disease of the honeybee. *Ann Appl Biol* 43: 379–389.

Bernal, J., Martín-Hernández, R., Diego, J.C., Nozal, M.J., González-Porto, A.V., Bernal, J.L., and Higes, M. (2011) An exposure study to assess the potential impact of fipronil in treated sunflower seeds on honey bee colony losses in Spain. *Pest Manag Sci* 67: 1320–1331.

Boncrisiani, H.F., Di Prisco, G., Pettis, J.S., Hamilton, M., and Chen, Y.P. (2009) Molecular approaches to the analysis of deformed wing virus replication and pathogenesis in the honey bee, *Apis mellifera*. *Virology* 6: 221 (1–9). doi:10.1186/1743-422X-6-221.

Borchert, A. (1928) Beiträge zur Kenntnis der Bienen Parasiten *Nosema apis*. *Archiv Bienenkunde* 9: 115–178.

Borneck, R., Viry, A., Martín-Hernández, R., and Higes, M. (2010) Honey bee colony losses in the Jura Region, France and related pathogens. *J Apic Res* 49: 334–336.

Botías, C., Martín-Hernández, R., Meana, A., and Higes, M. (2010) Negative effects of *Nosema* infection in honey production and vitality of honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Spain. EURBEE, 4th European Conference of Apidology (Edited by Meral Kence), 7–9 September 2010, Ankara, Turkey.

Botías, C., Martín-Hernández, R., Barrios, L., Garrido-Bailón, E., Nanetti, A., Meana, A., and Higes, M. (2011) *Nosema* spp. parasitization decreases the effectiveness of acaricide strips (Apivar®) in treating varroosis of honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) colonies. *Environ Microbiol Rep* 4: 57–65.

Botías, C., Martín-Hernández, R., Díaz, J., García-Palencia, P., Matabuena, M., Juarranz, A., et al. (2012a) The effect of induced queen replacement on *Nosema* spp. infection in honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) colonies. *Environ Microbiol* 14: 845–859.

Botías, C., Anderson, D., Meana, A., Garrido-Bailón, E., Martín-Hernández, R., and Higes, M. (2012b) Further evidence of an oriental origin for *Nosema ceranae* (Microsporidia: Nosematidae). *J Invertebr Pathol* 110: 108–113.

Bradbeer, N. (2009) *Bees and Their Role in Forest Livelihoods. A Guide to the Services Provided by Bees and the Sustainable Harvesting, Processing and Marketing of Their Products. Non-Wood Forest Products 19*. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

Bromenshenk, J.J., Henderson, C.B., Wick, C.H., Stanford, M.F., Zulich, A.W., Jabour, R.E., et al. (2010) Iridovirus and microsporidian linked to honey bee colony decline. *PLoS ONE* 5: e13181.

Budge, G., Powell, M., Roberts, K., Adams, I., Jones, B., Marris, G., et al. (2010) What has *Nosema* got to do with losses? Monitoring both *Nosema* species in the UK. In Proceedings of the 4th European Conference of Apidology (Edited by Meral Kence), 7–9 September 2010, Ankara, Turkey.

Calderón, R.A., Sanchez, L.A., Yáñez, O., and Fallas, N. (2008) Presence of *Nosema ceranae* in Africanized honey bee colonies in Costa Rica. *J Apic Res* 47: 328–329.

Campbell, J., Kessler, B., Mayack, C., and Naug, D. (2010) Behavioural fever in infected honeybees: parasitic manipulation or coincidental benefit? . *Parasitology* 137: 1487–1491.

Chaimanee, V., Chen, Y., Pettis, J.S., Scott Cornman, R., and Chantawannakul, P. (2011) Phylogenetic analysis of *Nosema ceranae* isolated from European and Asian honeybees in Northern Thailand. *J Invertebr Pathol* 107: 229–233.

Chaimanee, V., Chantawannakul, P., Chen, Y., Evans, J.D., and Pettis, J.S. (2012) Differential expression of immune genes of adult honey bee (*Apis mellifera*) after inoculated by *Nosema ceranae*. *J Insect Physiol* 58: 1090–1095.

Chen, Y., Evans, J.D., Smith, I.B., and Pettis, J.S. (2008) *Nosema ceranae* is a long-present and wide-spread microsporidian infection of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the United States. *J Invertebr Pathol* 97: 186–188.

Chen, Y., Evans, J.D., Zhou, L., Boncrisiani, H., Kimura, K., Xiao, T., et al. (2009b) Asymmetrical coexistence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in honey bees. *J Invertebr Pathol* 101: 204–209.

Chen, Y.P., and Huang, Z.Y. (2010) *Nosema ceranae*, a newly identified pathogen of *Apis mellifera* in the USA and Asia. *Apidologie* 41: 364–374.

Chen, Y.P., Evans, J.D., Murphy, C., Gutell, R., Zuker, M., Gundensen-Rindal, D., and Pettis, J.S. (2009a) Morphological, molecular, and phylogenetic characterization of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite isolated from the European honey bee, *Apis mellifera*. *J Eukaryot Microbiol* 56: 142–147.

Choi, Y., Lee, Y., Cho, K.S., Lee, S., Russell, J., Choi, J., and Jeong, G. (2011) Chimerical nature of the ribosomal RNA gene of a *Nosema* species. *J Invertebr Pathol* 107: 86–89.

Copley, T.R., and Jabaji, S.H. (2012) Honeybee glands as possible infection reservoirs of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in naturally infected forager bees. *J Appl Microbiol* 112: 15–24.

- Cornman, R.S., Chen, Y.P., Schatz, M.C., Street, C., Zhao, Y., Desany, B., et al. (2009) Genomic analyses of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of honey bees. *PLoS Pathog* 5: e1000466.
- Costa, C., Tanner, G., Lodesani, M., Maistrello, L., and Neumann, P. (2011) Negative correlation between *Nosema ceranae* spore loads and deformed wing virus infection levels in adult honey bee workers. *J Invertebr Pathol* 108: 224–225.
- Cox-Foster, D.L., Conlan, S., Holmes, E.C., Palacios, G., Evans, J.D., Moran, N.A., et al. (2007) A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science* 318: 283–287.
- Dainat, B., Evans, J.D., Chen, Y.P., Gauthier, L., and Neumann, P. (2012a) Predictive markers of honey bee colony collapse. *PLoS ONE* 7: e32151.
- Dainat, B., vanEngelsdorp, D., and Neumann, P. (2012b) Colony collapse disorder in Europe. *Environ Microbiol Rep* 4: 123–121.
- Delaplane, K.S., and Mayer, D.F. (2000) *Crop Pollination by Bees*. Wallingford, UK and New York, USA: CABI Publishing, ISBN 0 85199 448 2 (HB).
- Down, R.E., Bell, H.A., Bryning, G., Kirkbride-Smith, A.E., Edwards, J.P., and Weaver, R.J. (2008) Infection by the microsporidium *Vairimorpha necatrix* (Microspora: Microsporidia) elevates juvenile hormone titres in larvae of the tomato moth, *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Invertebr Pathol* 97: 223–229.
- Dussaubat, C., Maisonnasse, A., Alaux, C., Tchamitchan, S., Brunet, J.L., Plettner, E., et al. (2010) *Nosema* spp. infection alters pheromone production in honey bee (*Apis mellifera*). *J Chem Ecol* 36: 522–525.
- Dussaubat, C., Brunet, J.L., Higes, M., Colbourne, J.K., López, J., Choi, J.H., et al. (2012) Gut pathology and responses to the microsporidium *Nosema ceranae* in the honey bee *Apis mellifera*. *PLoS ONE* 7: e37017.
- Eckert, C.D., Winston, M.L., and Ydenberg, R.C. (1994) The relationship between population size, amount of brood, and individual foraging behaviour in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Oecologia* 97: 248–255.
- Eickbush, T.H., and Eickbush, D.G. (2007) Finely orchestrated movements: evolution of the ribosomal RNA genes. *Genetics* 175: 477–485.
- Eischen, F.A., Graham, R.H., and Rivera, R. (2012) Impact of *Nosema ceranae* on honey bee colonies: a 14 month study. In Proceedings of the 2012 American Bee Research Conference: 7–8 February 2012; Greenbelt MD.
- VanEngelsdorp, D., and Meixner, M.D. (2010) A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *J Invertebr Pathol* 103: S80–S95.
- European Parliament (2010) Resolution of 25 November 2010 on the situation in the beekeeping sector [WWW document]. URL <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?pubRef=-//EP//TEXT+TA+P7-TA-2010-0440+0+DOC+XML+VO//EN>.
- Farrar, C.L. (1947) *Nosema* losses in package bees as related to queen supersedeure and honey yields. *J Econ Entomol* 40: 333–338.
- Fenoy, S., Rueda, C., Higes, M., Martín-Hernández, R., and Águila, C. (2009) High-level resistance of *Nosema ceranae*, a parasite of the honeybee, to temperature and desiccation. *Appl Environ Microbiol* 75: 6886–6889.
- Fernández, J.M., Puerta, F., Cousinou, M., Dios-Palomares, R., Campano, F., and Redondo, L. (2012) Asymptomatic presence of *Nosema* spp. in Spanish commercial apiaries. *J Invertebr Pathol* 111: 106–110.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2006) Economic valuation of pollination services: review of methods. In *Tools for Conservation and Use of Pollination Services*. FAO (ed.). Rome, Italy: FAO Agriculture Department, Seed and Plant Genetic Resources Division (AGPS), p. 43.
- Forsgren, E., and Fries, I. (2010) Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. *Vet Parasitol* 170: 212–217.
- Frank, S.A. (1996) Models of parasite virulence. *Q Rev Biol* 71: 37–78.
- Frank, S.A., and Schmid-Hempel, P. (2008) Mechanisms of pathogenesis and the evolution of parasite virulence. *J Evol Biol* 21: 396–404.
- Fries, I. (1988) Comb replacement and *Nosema* disease (*Nosema apis* Z.) in honey bee colonies. *Apidologie* 19: 343–354.
- Fries, I. (2010) *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *J Invertebr Pathol* 103 (Suppl. 1): S73–S79.
- Fries, I., and Raina, S. (2003) American foulbrood (*Paenibacillus larvae larvae*) and African honey bees (*Apis mellifera scutellata*). *J Econ Entomol* 96: 1641–1646.
- Fries, I., Ekbohm, G., and Villumstad, E. (1984) *Nosema apis*, sampling techniques and honey yield. *J Apic Res* 23: 102–105.
- García-Palencia, P., Martín-Hernández, R., González-Porto, A.V., Marín, P., Meana, A., and Higes, M. (2010) Natural infection by *Nosema ceranae* causes similar lesions as in experimentally infected caged-workers honey bees (*Apis mellifera*). *J Apic Res* 49: 278–283.
- Gatehouse, H.S., and Malone, L.A. (1998) The ribosomal RNA gene region of *Nosema apis* (Microsporida): DNA sequence for small and large subunit rRNA genes and evidence of a large tandem repeat unit size. *J Invertebr Pathol* 71: 97–105.
- Genersch, E. (2010) Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Appl Microbiol Biotechnol* 87: 87–97.
- Giray, T., Çakmak, I., Ayding, L., Kandemir, I., Inci, A., Oskay, D., et al. (2007) Preliminary survey results on 2006–2007 colony losses in Turkey. *Uluda Bee J* 7: 101–107.
- Gisder, S., Hedtke, K., Möckel, N., Frielitz, M.C., Linde, A., and Genersch, E. (2010) Five-year cohort study of *Nosema* spp. in Germany: does climate shape virulence and assertiveness of *Nosema ceranae*? *Appl Environ Microbiol* 76: 3032–3038.
- Gómez Pajuelo, A., and Fernández Arroyo, M.P. (1979) Enfermedades de las abejas en España, Madrid, 1979. Hatjina, F., Tsoktouridis, G., Bouga, M., Charistos, L., Evangelou, V., Avtzis, D., et al. (2011) Polar tube protein gene diversity among *Nosema ceranae* strains derived from a Greek honey bee health study. *J Invertebr Pathol* 108: 131–134.
- Hedtke, K., Jensen, P.M., Jensen, A.B., and Genersch, E. (2011) Evidence for emerging parasites and pathogens influencing outbreaks of stress-related diseases like chalkbrood. *J Invertebr Pathol* 108: 167–173.
- Higes, M., Martín, R., Sanz, A., Álvarez, N., Sanz, A., García-Palencia, P., and Meana, A. (2005) El Síndrome de Despoblamiento de las Colmenas en España. Consideraciones sobre su origen. *Vida Apícola* 133: 15–21.
- Higes, M., Martín, R., and Meana, A. (2006) *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *J Invertebr Pathol* 92: 93–95.
- Higes, M., García-Palencia, P., Martín-Hernández, R., and Meana, A. (2007) Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with the Microsporidia *Nosema ceranae*. *J Invertebr Pathol* 94: 211–217.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Botías, C., Garrido-Bailón, E., González-Porto, A.V., Barrios, L., et al. (2008) How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environ Microbiol* 10: 2659–2669.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Garrido-Bailón, E., González-Porto, A.V., García-Palencia, P., Meana, A., et al. (2009a) Honeybee colony collapse due to *Nosema ceranae* in professional apiaries. *Environ Microbiol Rep* 1: 110–113.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., García-Palencia, P., Marín, P., and Meana, A. (2009b) Horizontal transmission of *Nosema ceranae* (Microsporidia) from worker honeybees to queens (*Apis mellifera*). *Environ Microbiol* 1: 495–498.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., and Meana, A. (2010) *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis. *Apidologie* 41: 375–392.
- Higes, M., Nozal, M.J., Álvaro, A., Barrios, L., Meana, A., Martín-Hernández, R., et al. (2011) The stability and effectiveness of fumagillin in controlling *Nosema ceranae* (Microsporidia) infection in honey bees (*Apis mellifera*) under laboratory and field conditions. *Apidologie* 42: 364–377.
- Huang, Q., Kryger, P., Le Conte, Y., and Moritz, R.F.A. (2012) Survival and immune response of drones of a nosemosis tolerant honey bee strain towards *N. ceranae* infections. *J Invertebr Pathol* 109: 297–302.
- Huang, W.F., Jiang, J.H., Chen, Y.W., and Wang, C.H. (2007) A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie* 38: 30–37.
- Huang, W.F., Bocquet, M., Lee, K.C., Sung, I.H., Jiang, J.H., Chen, Y.W., and Wang, C.H. (2008) The comparison of rDNA spacer regions of *Nosema ceranae* isolates from different hosts and locations. *J Invertebr Pathol* 97: 9–13.
- Huang, Z.Y., and Robinson, G.E. (1996) Regulation of honey bee division of labor by colony age demography. *Behav Ecol Sociobiol* 39: 147–158.
- Invernizzi, C., Santos, E., García, E., Daners, G., Di Landro, R., Saadoun, A., and Cabrera, C. (2011) Sanitary and nutritional characterization of honeybee colonies in *Eucalyptus grandis* plantations. *Arch Zootec* 60: 1303–1314.
- Ironside, J.E. (2007) Multiple losses of sex within a single genus of Microsporidia. *BMC Evol Biol* 7: 48.
- Kauffeld, N.M., Williams, J.L., Lehnert, T., and Moeller, F.E. (1972) *Nosema* control in package bee production – fumigation with ethylene oxide and feeding with fumagillin. *Am Bee J* 112: 297–301.
- Kauffeld, N.M., Everitt, J.H., and Taylor, E.A. (1976) Honey bee problems in the Rio Grande Valley of Texas. *Am Bee J* 116: 220–222, 232.
- Khoury, D.S., Myerscough, M.R., and Barron, A.B. (2011) A quantitative model of honey bee colony population dynamics. *PLoS ONE* 6: e18491.
- Klee, J., Besana, A.M., Genersch, E., Gisder, S., Nanetti, A., Tam, D.Q., et al. (2007) Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. *J Invertebr Pathol* 96: 1–10.
- Kralj, J., and Fuchs, S. (2010) *Nosema* sp. influences flight behavior of infected honey bee (*Apis mellifera*) foragers. *Apidologie* 41: 21–28.

- L'Arrivée, J.C.M. (1963) The effect of sampling sites on *Nosema* determination. *J Insect Pathol* 5: 349–355.
- Lin, H., Sullivan, J., and Huang, Z.Y. (2009) Mechanisms through which *Nosema apis* affects onset of foraging in worker honeybees (*Apis mellifera* L.). In: Proceedings Workshop 'Nosema disease: lack of knowledge and work standardization' (COST Action FA0803) Guadalajara, 19–22 October 2000 [WWW document]. URL <http://www.coloss.org/news/nosema-workshop-proceedings-online>.
- Liu, H., Pan, G., Song, S., Xu, J., Li, T., Deng, Y., and Zhou, Z. (2008) Multiple rDNA units distributed on all chromosomes of *Nosema bombycis*. *J Invertebr Pathol* 99: 235–238.
- Martínez, J., Leal, G., and Conget, P. (2012) *Nosema ceranae* an emergent pathogen of *Apis mellifera* in Chile. *Parasitol Res* 111: 601–607.
- Martín-Hernández, R., Meana, A., Prieto, L., Martínez-Salvador, A., Garrido-Bailón, E., and Higes, M. (2007) Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Appl Environ Microbiol* 73: 6331–6338.
- Martín-Hernández, R., Meana, A., García-Palencia, P., Marín, P., Botías, C., Garrido-Bailón, E., et al. (2009) Effect of temperature on the biotic potential of honeybee microsporidia. *Appl Environ Microbiol* 75: 2554–2557.
- Martín-Hernández, R., Botías, C., Barrios, L., Martínez-Salvador, A., Meana, A., Mayack, C., and Higes, M. (2011) Comparison of the energetic stress associated with experimental *Nosema ceranae* and *Nosema apis* infection of honeybees (*Apis mellifera*). *Parasitol Res* 3: 605–612.
- Martín-Hernández, R., Botías, C., Bailón, E.G., Martínez-Salvador, A., Prieto, L., Meana, A., and Higes, M. (2012) Microsporidia infecting *Apis mellifera*: coexistence or competition. Is *Nosema ceranae* replacing *Nosema apis*? *Environ Microbiol* 14: 2127–2138.
- Mayack, C., and Naug, D. (2009) Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. *J Invertebr Pathol* 100: 185–188.
- Mayack, C., and Naug, D. (2010) Parasitic infection leads to decline in hemolymph sugar levels in honeybee foragers. *J Insect Physiol* 56: 1572–1575.
- Meana, A., Martín-Hernández, R., and Higes, M. (2010) The reliability of spore counts to diagnose *Nosema ceranae* infections in honey bees. *J Apic Res Bee World* 49: 212–214.
- Medici, S.K., Sarlo, E.G., Porrini, M.P., Braunstein, M., and Eguaras, M.J. (2012) Genetic variation and widespread dispersal of *Nosema ceranae* in *Apis mellifera* apiaries from Argentina. *Parasitol Res* 110: 859–864.
- Moeller, F.E. (1962) *Nosema* disease control in package bees. *Am Bee J* 90: 390–392.
- Müller, A., Trammer, T., Chioralia, G., Seitz, H.M., Diehl, V., and Franzen, C. (2000) Ribosomal RNA of *Nosema algerae* and phylogenetic relationship to other microsporidia. *Parasitol Res* 86: 18–23.
- Murilhas, A.M. (2002) *Varroa destructor* infestation impact on *Apis mellifera* carnica capped worker brood production, bee population and honey storage in a Mediterranean climate. *Apidologie* 33: 271–281.
- Nabian, S., Ahmadi, K., Nazem Shirazi, M.H., and Sadeghian, G.A. (2011) First detection of *Nosema ceranae*, a microsporidian protozoa of European honeybees (*Apis mellifera*) in Iran. *Iran J Parasitol* 6: 89–95.
- Naug, D. (2009) Nutritional stress due to habitat loss may explain recent honeybee colony collapses. *Biol Conserv* 142: 2369–2372.
- Naug, D., and Gibbs, A. (2009) Behavioral changes mediated by hunger in honeybees infected with *Nosema ceranae*. *Apidologie* 40: 595–599.
- Neukirch, A. (1982) Dependence of the life span of the honeybee (*Apis mellifera*) upon flight performance and energy consumption. *J Comp Physiol* 146: 35–40.
- O'Mahony, E.M., Tay, W.T., and Paxton, R.J. (2007) Multiple rRNA variants in a single spore of the microsporidian *Nosema bombi*. *J Eukaryot Microbiol* 54: 103–109.
- Orantes Bermejo, F.J., and García-Fernández, P. (1997) *Nosema* disease in the honey bee (*Apis mellifera* L.) infected with *Varroa mites* in Southern Spain. *Apidologie* 28: 105–112.
- Oskay, D. (2007) Plasticity in flight muscle development and honey bee division of labor. Thesis submitted to the Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Puerto Rico, Puerto Rico.
- Paxton, R.J., Klee, J., Korpela, S., and Fries, I. (2007) *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie* 38: 558–565.
- Pickard, P.S., and El-Shemy, A.A.M. (1989) Seasonal variation in the infection of honeybee colonies with *Nosema apis* Zander. *J Apic Res* 28: 93–100.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., and Ziegelmann, B. (2010) Biology and control of *Varroa destructor*. *J Invertebr Pathol* 103: S96–S119.
- Runckel, C., Flenniken, M.L., Engel, J.C., Ruby, J.G., Ganem, D., Andino, R., and DeRisi, J.L. (2011) Temporal analysis of the honey bee microbiome reveals four novel viruses and seasonal prevalence of known viruses, *Nosema*, and *Critidia*. *PLoS ONE* 6: e20656.
- Sagastume, S., del Águila, C., Martín-Hernandez, R., Higes, M., and Henriques-Gil, N. (2010) Polymorphism and recombination for rDNA in the putatively asexual microsporidian *Nosema ceranae*, a pathogen of honeybees. *Environ Microbiol* 13: 84–95.
- Schmid-Hempel, P. (1994) Infection and colony variability in social insects. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 346: 313–321.
- Schmid-Hempel, P., and Wolf, R.J. (1988) Foraging effort and life span in workers of social insects. *J Anim Ecol* 57:509–522.
- Shafer, A.B., Williams, G.R., Shutler, D., Rogers, R.E., and Stewart, D.T. (2009) Cophylogeny of *Nosema* (Microsporidia: Nosematidae) and bees (Hymenoptera: Apidae) suggests both cospeciation and a host-switch. *J Parasitol* 95: 198–203.
- Slamovits, C.H., Williams, B.A., and Keeling, P.J. (2004) Transfer of *Nosema locustae* (Microsporidia) to *Antonosporea locustae* n. comb. based on molecular and ultrastructural data. *J Eukaryot Microbiol* 51: 207–213.
- Smart, M.D., and Sheppard, W.S. (2012) *Nosema ceranae* in age cohorts of the western honey bee (*Apis mellifera*). *J Invertebr Pathol* 109: 148–151.
- Soroker, V., Hertzroni, A., Yakobson, B., David, D., David, A., Voet, H., et al. (2011) Evaluation of colony losses in Israel in relation to the incidence of pathogens and pests. *Apidologie* 42: 192–199.
- Stevanovic, J., Stanimirovic, Z., Genersch, E., Kovacevic, S.R., Ljubenkovic, J., Radakovic, M., and Aleksic, N. (2011) Dominance of *Nosema ceranae* in honey bees in the Balkan countries in the absence of symptoms of colony collapse disorder. *Apidologie* 42: 49–58.
- Suwannapong, G., Maksong, S., Seanbualuang, P., and Benbow, M.E. (2010) Experimental infection of red dwarf honeybee, *Apis florea*, with *Nosema ceranae*. *J Asia Pac Entomol* 13: 361–364.
- Suwannapong, G., Yemor, T., Boonpakdee, C., and Benbow, M.E. (2011) *Nosema ceranae*, a new parasite in Thai honeybees. *J Invertebr Pathol* 106: 236–241.
- Szabo, T.I., and Lefkovich, L.P. (1989) Effect of brood production and population size on honey production of honeybee colonies in Alberta, Canada. *Apidologie* 20: 157–163.
- Taber, S., and Lee, H. (1973) Seasonal variation in levels of *Nosema* infection in honey bees in Arizona. *Glean Bee Cult* 101: 281–282, 299.
- Tay, W.T., O'Mahony, E.M., and Paxton, R.J. (2005) Complete rRNA gene sequences reveal that the microsporidium *Nosema bombi* infects diverse bumblebee (*Bombus* spp.) hosts and contains multiple polymorphic sites. *J Eukaryot Microbiol* 52: 505–513.
- Traver, B.E., and Fell, R.D. (2011) Prevalence and infection intensity of *Nosema* in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Virginia. *J Invertebr Pathol* 107: 43–49.
- Traver, B.E., and Fell, R.D. (2012) Low natural levels of *Nosema ceranae* in *Apis mellifera* queens. *J Invertebr Pathol* 110: 408–410.
- Traver, B.E., Williams, M.R., and Fell, R.D. (2012) Comparison of within hive sampling and seasonal activity of *Nosema ceranae* in honey bee colonies. *J Invertebr Pathol* 109: 187–193.
- Vidau, C., Diogon, M., Aufauvre, J., Fontbonne, R., Viguès, B., Brunet, J.L., et al. (2011) Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by *Nosema ceranae*. *PLoS ONE* 6: e21550.
- Wang, D.I., and Moeller, F.E. (1970) The division of labor and queen attendance behaviour of *Nosema* infected worker honeybees. *J Econ Entomol* 63: 1539–1541.
- Whitaker, J., Szalansky, A.L., and Kence, M. (2011) Molecular detection of *Nosema ceranae* and *N. apis* from Turkish honey bees. *Apidologie* 42: 174–180.
- Williams, G.R., Shafer, A.B., Rogers, R.E., Shutler, D., and Stewart, D.T. (2008) First detection of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite of European honey bees (*Apis mellifera*), in Canada and central USA. *J Invertebr Pathol* 97: 189–192.
- Williams, G.R., Shutler, D., Little, C.M., Burgher-MacLellan, K.L., and Rogers, R.E.L. (2010) The microsporidian *Nosema ceranae*, the antibiotic Fumagilin-B®, and western honey bee (*Apis mellifera*) colony strength. *Apidologie* 42: 15–22.
- Wolf, T.J., and Schmid-Hempel, P. (1989) Extra loads and foraging life-span in honeybee workers. *J Anim Ecol* 58: 943–954.
- Woyke, J. (1984) Correlations and interactions between population, length of worker life and honey production by honeybees in a temperate region. *J Apic Res* 23: 148–156.
- Wu, Y.J., Smart, M.D., Anelli, C.M., and Sheppard, W.S. (2012) Honey bees (*Apis mellifera*) reared in brood combs containing high levels of pesticide residues exhibit increased susceptibility to *Nosema* (Microsporidia) infection. *J Invertebr Pathol* 109: 326–329.
- Yoshiyama, M., and Kimura, K. (2011) Distribution of *Nosema ceranae* in the European honeybee, *Apis mellifera* in Japan. *J Invertebr Pathol* 106: 263–267.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Surveillance du frelon asiatique, *Vespa velutina nigrithorax* (Hymenoptera : Vespidae)

Quentin Rome (1,2)*, Claire Villemant (2)

*Auteur correspondant: rome@mnhn.fr

(1) Muséum national d'histoire naturelle-Agence française pour la biodiversité-CNRS, Unité mixte de service 2006 Patrimoine Naturel, Paris, France

(2) Muséum national d'histoire naturelle-Université Pierre et Marie Curie-Ecole pratique des hautes études-CNRS, Institut de systématique, évolution, biodiversité, UMR 7205, Sorbonne Universités, Paris, France

Résumé

Le Frelon asiatique à pattes jaunes, *Vespa velutina nigrithorax*, grand prédateur des abeilles domestiques, a été accidentellement introduit en France avant 2004. Le système de surveillance, basé sur de la science participative et sur des réseaux d'acteurs locaux, a permis depuis douze ans de suivre sa progression en Europe. Aujourd'hui, la quasi-totalité du territoire métropolitain est colonisé et il a atteint nos pays voisins. Nous décrivons ici le protocole de validation des données utilisé pour ce suivi et permettant de confirmer de façon fiable les localités où *V. velutina* est capable de s'implanter. Nous détaillons également le fonctionnement du réseau de surveillance et comment ces données d'inventaire permettent ensuite de réaliser des prédictions d'expansion de cette espèce ainsi que d'évaluer l'efficacité de méthodes de lutte.

Mots-clés

Frelon asiatique, *Vespa velutina*, exotique envahissant, abeille, surveillance, science participative

Abstract

Monitoring of the Yellow-legged hornet, *Vespa velutina nigrithorax* (Hymenoptera: Vespidae)
The Yellow-legged Asian hornet, *Vespa velutina nigrithorax*, an Asian bee-hawking hornet, has been unintentionally introduced in France before 2004. The surveillance system, based on citizen science and local networks, has made possible to follow its spread in Europe for twelve years. Today, it has colonized most of France territory and has reached the neighboring countries.

We describe here the data validation protocol used for this monitoring which allowing us to reliably confirm the localities where *V. velutina* is able to establish. We detail also how operate the surveillance network and how these surveillance data could be used to make predictions of the expansion of this species as well as evaluate the effectiveness of control methods.

Keywords

Yellow-Legged Hornet, *Vespa velutina*, Invasive alien species, Honeybee, Surveillance, Citizen science

Le Frelon asiatique à pattes jaunes, *Vespa velutina nigrithorax*, originaire des zones tempérées à subtropicales d'Asie du Sud-est (Villemant et al. 2011), a été découvert en France en 2005 et très probablement introduit accidentellement avant 2004 dans le Lot-et-Garonne via l'importation de poteries chinoises à destination horticole (Arca et al. 2015; Haxaire et al. 2006). Douze ans plus tard, il a colonisé une grande partie de l'Europe de l'Ouest, progressant à un rythme d'environ 60 km par an (Rome et al. 2013; Robinet et al. 2016). Fin 2016, *Vespa velutina* était recensé dans 84 départements français dont onze où il était signalé pour la première fois. Il est aussi désormais présent en Belgique et en Angleterre, après avoir colonisé le Nord de l'Espagne et du Portugal ainsi que l'Ouest de l'Italie et de l'Allemagne (Figure 1). Introduit également en Corée du Sud au début des années 2000, il a atteint le Japon en 2015 (Kishi et Goka 2017).

Le régime alimentaire de ce frelon en France est composé d'environ un tiers d'abeilles domestiques, *Apis mellifera*, espèce chez laquelle il provoque un affaiblissement des colonies plus ou moins important selon sa densité et la disponibilité d'autres sources de proies (guêpes sociales et mouches surtout)(Rome et al. 2011). Du fait de cette nuisance, le Frelon asiatique a été classé danger sanitaire de 2^e catégorie⁽¹⁾, « espèce exotique envahissante » (EEE)⁽²⁾, et enfin EEE préoccupante pour l'Union européenne⁽³⁾. Des mesures de

(1) Arrêté n°AGR1240147A du 26 décembre 2012 relatif au classement dans la liste des dangers sanitaires du frelon asiatique.

(2) Arrêté n°DEV1300859A du 22 janvier 2013 interdisant sur le territoire national l'introduction de spécimens du frelon à pattes jaunes *Vespa velutina*.

(3) Règlement d'exécution (UE) 2016/1141 de la commission du 13 juillet 2016 adoptant une liste des espèces exotiques envahissantes préoccupantes pour l'Union conformément au règlement (UE) n°1143/2014 du Parlement européen et du Conseil.

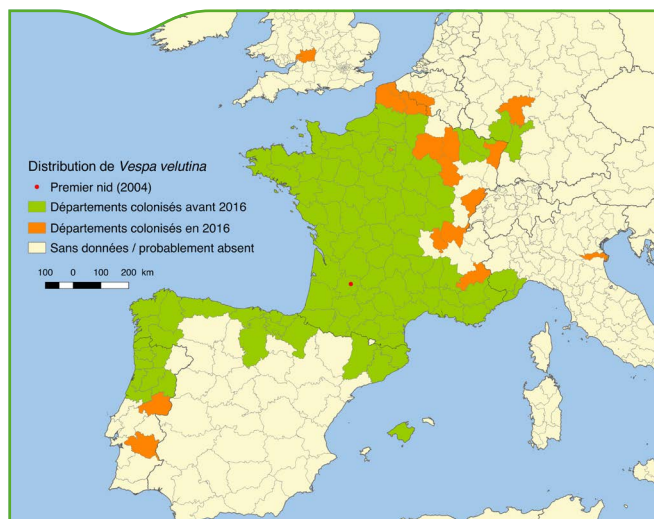


Figure 1. Distribution de *Vespa velutina* en Europe en 2016 (Rome et Villemant 2015). Sources: INPN (France), Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental y Medio Natural (Espagne), ICNF, NATIVA et SOS Vespa (Portugal), CARI et CiEi/DGARNE (Belgique), CREA et Università di Torino (Italie), R. Witt (Allemagne), NNSS et NBU (Grande Bretagne)

surveillance, de prévention et de lutte ont par la suite été définies⁽⁴⁾. Nous détaillons ici les différentes méthodes de surveillance appliquées pour cette espèce en France, en Europe et à l'international.

Éléments de biologie

Comme chez beaucoup d'autres guêpes sociales, le Frelon à pattes jaunes a un cycle de vie annuel (Rome et Villemant, 2015). Ses capacités de reproduction et de dispersion (par les femelles sexuées) sont très importantes, probablement de l'ordre de 1 000 à 1 500 femelles sexuées produites par colonie, pour une dispersion de 60 à 100 km par an (Rome et al., 2015; Robinet et al., 2016). Seules les jeunes femelles sexuées passent l'hiver en dormance. À partir de février-mars, chacune cherche un abri pour fonder seule une nouvelle colonie, celle-ci étant souvent installée à hauteur d'homme dans une ruchette ou un cabanon, un avant-toit, un buisson dense, etc. Les premières ouvrières apparaissent environ trois semaines après et le nid grandit ensuite avec l'accroissement de leur effectif. Tout comme chez les autres espèces de guêpes sociales à cycle de vie annuel, il est probable que la mortalité des fondatrices et des jeunes colonies avant l'été soit de l'ordre de 90 à 99,9 %, ceci principalement pour des raisons climatiques, de prédation, maladies, compétition ou usurpation de nids (Archer 2012). Entre les mois de juillet et août, les colonies, dont la mortalité devient très faible, déménagent vers un nouveau nid (secondaire) construit en hauteur dans les branches d'un arbre. Cachés par le feuillage, les nids, de 40 à 60 cm de diamètre en moyenne, passent souvent inaperçus et ne sont détectés qu'à la chute des feuilles, après que les sexués aient essaimé, soit entre les mois d'octobre et novembre (Rome et al., 2015). Les colonies finissent par mourir pendant l'hiver. Les nids vides ne sont jamais réutilisés et mettent ensuite parfois plusieurs mois à se disloquer.

Protocole de validation des données d'observation

Le protocole de validation décrit ici a pour but de réaliser un inventaire fiable des localités où *Vespa velutina* est capable de s'installer et se reproduire (Figure 2). Ces données, qui correspondent aux colonies

⁽⁴⁾ Note de service DGAL/SDSPA/N2013-8082 du 10 mai 2013 définissant les mesures de surveillance, de prévention et de lutte permettant de limiter l'impact du frelon asiatique *Vespa velutina nigrithorax* sur les colonies d'abeilles domestiques sur le territoire national.

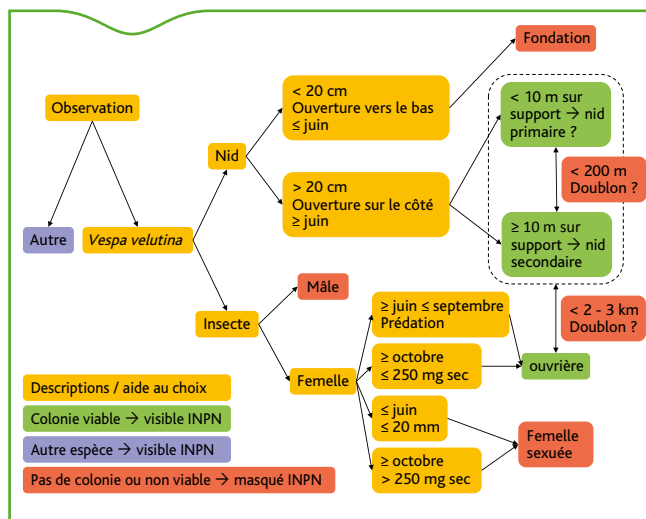


Figure 2. Règles de décision pour la validation des données d'inventaire de *Vespa velutina*

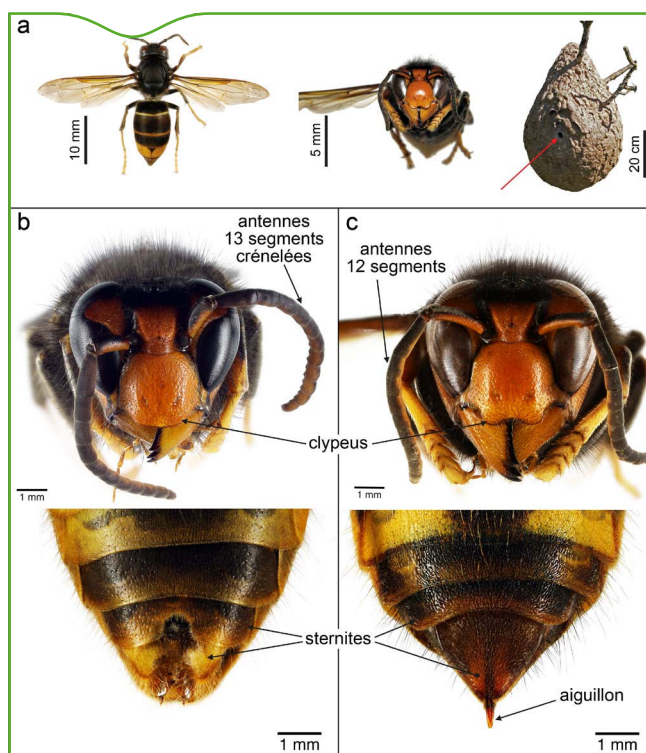


Figure 3. a. *Vespa velutina nigrithorax* en vue dorsale et frontale, et son nid dont l'entrée est marquée par la flèche. b. Mâle de *Vespa velutina nigrithorax*, en haut tête en vue frontale, en bas vue ventrale des derniers segments abdominaux (sternites). c. Femelle de *Vespa velutina nigrithorax*, en haut tête en vue frontale, en bas vue ventrale des derniers sternites. Les flèches montrent les différences entre les deux castes

viables, qui ont pu ou auraient probablement pu se reproduire si elles n'avaient pas été détruites, permettent de suivre la progression de l'insecte et d'accumuler des connaissances sur ses préférences environnementales et climatiques.

Une donnée, observation (photo ou capture) d'un insecte ou d'un nid, doit comporter au minimum la localisation de l'observation, une date d'observation et un observateur. Elle peut contenir également des informations environnementales ou biologiques (milieu, site de nidification, taille du nid, de l'insecte...). Pour être valide, elle doit tout d'abord correspondre à la bonne espèce (Figure 3a). *Vespa velutina nigrithorax* mesure entre 17 et 32 mm, possède un thorax entièrement brun noir velouté et des segments abdominaux

bruns, bordés d'une fine bande jaune. Seul le quatrième segment de l'abdomen est presque entièrement jaune orangé et présente un triangle noir. La tête est noire, la face jaune orangé, les pattes jaunes à l'extrémité. Le nid, sphérique ou en forme de poire, est construit en fibres de bois mâchées formant un papier grossier; il est composé de plusieurs galettes d'alvéoles orientées vers le bas, entourées d'une enveloppe faite de larges écailles de papier, striées de beige, de gris et de brun. L'orifice de sortie est petit et latéral. Le nid peut atteindre jusqu'à 1 m de haut pour 80 cm de diamètre quand il est fixé, comme c'est souvent le cas, à plus de 15 m de haut dans un grand arbre (Rome et al. 2009, 2015; Villemant et al., 2006).

Donnée de nid

La donnée la plus précise que l'on peut obtenir est celle de la localisation d'un nid. Mais le taux d'échec étant très important lors d'une fondation de colonie, seuls sont pris en compte les nids des colonies ayant atteint un stade de développement où la mortalité devient faible, voire presque nulle. Ce stade est atteint en général durant le mois de juin et correspond à des nids d'environ 20 cm de diamètre et dont l'ouverture est latérale, alors qu'elle est dans l'axe du nid et dirigée vers le bas pour un nid en fondation. À partir de juillet toutes les données de nids peuvent être prises en compte jusqu'au printemps de l'année suivante tant que des vestiges de nids demeurent visibles dans les arbres. Durant l'été, dans 70 % des cas, les frelons quittent le nid primaire pour un nid secondaire (Rome et al. 2015). Durant cette période de délocalisation, les deux nids peuvent être actifs, car, même si la reine a rejoint le nid secondaire, le nid primaire n'est pas abandonné tant que tous les individus immatures n'ont pas émergé. Cette délocalisation semble se faire sur au plus quelques centaines de mètres (données non publiées des auteurs). Pour ne pas risquer de surestimer la densité des colonies, seul le nid supposé secondaire est pris en compte dans cet inventaire lorsque deux nids sont observés à moins de 200 m l'un de l'autre.

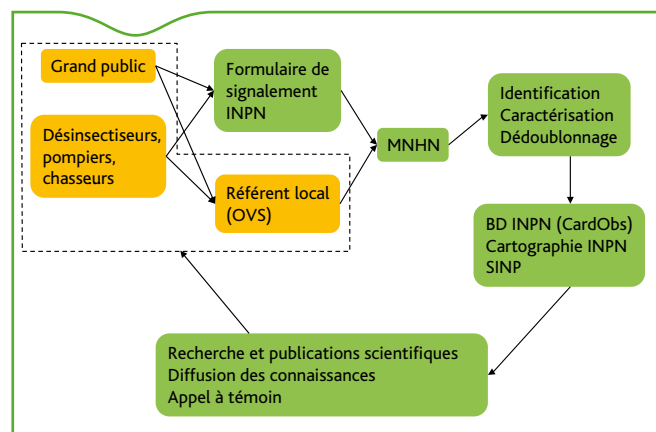


Figure 4. Système de surveillance de *Vespa velutina* en France

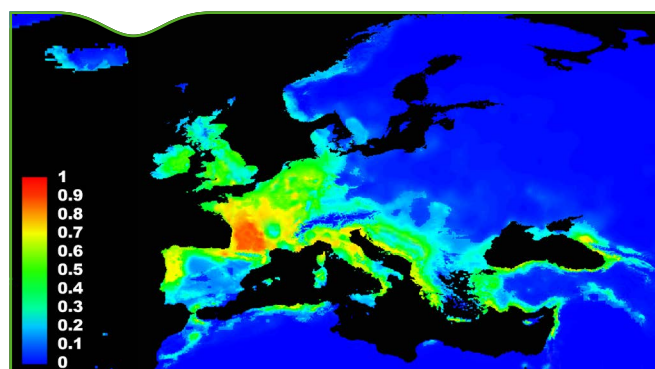


Figure 5. Probabilités d'expansion de *Vespa velutina* en Europe définies par des modèles de niches climatiques. Le frelon peut réussir à s'installer au-dessus d'une probabilité de 0,22 (Villemant et al. 2011)

Donnée d'insecte

Une observation de frelon adulte n'aura pas la même valeur en fonction de la caste de celui-ci.

Les mâles (Figure 3b) quittent les nids à l'automne pour s'accoupler et n'y reviennent pas. Ils peuvent parcourir plus de 40 km chaque jour (données non publiées des auteurs) et meurent avant l'hiver. Observer un mâle n'apporte aucune information sur la capacité de l'espèce à survivre dans la localité de l'observation.

Les femelles (Figure 3c), si elles sont sexuées n'apportent pas non plus d'information pour cet inventaire. En effet, à l'automne comme les mâles, puis au début du printemps, après hibernation, leur présence en un lieu ne certifie pas qu'un nid est à proximité. Outre leur grande capacité de dispersion, ces femelles, appelées fondatrices, subissent un taux de mortalité extrêmement élevé au printemps.

Seule la présence d'ouvrières prouve l'existence d'une colonie à proximité. Ces dernières sont les seules que l'on peut observer entre juillet et septembre (à l'exception de quelques rares mâles), et les seules qui chassent des proies pour nourrir le couvain de la colonie. À partir du mois d'octobre, on ne peut les différencier des femelles sexuées que par leur poids (Rome et al. 2015). L'observation d'une ouvrière valide la présence d'une colonie à moins de 2 km dans la plupart des cas, ou jusqu'à 3 km dans les milieux pauvres en ressources alimentaires (données non publiées des auteurs). Ces données de présence, moins précises que celles des colonies, seront ignorées si une colonie est observée dans la même zone.

Sensibilisation du public

La discrétion de l'insecte, lorsqu'il n'est pas en chasse devant une ruche, ne permet pas de réaliser un état des lieux et un suivi de l'invasion précis et fiable sans un grand réseau d'observateurs. Un appel à vigilance et remontée d'observations a donc été lancé dès 2006 auprès du grand public et en particulier vers les acteurs les plus concernés (apiculteurs, jardiniers, pompiers, désinsectiseurs) ou les plus susceptibles de détecter les nids (naturalistes, chasseurs). Cet appel et les données récoltées sont hébergés par l'Inventaire national du patrimoine naturel (INPN 2003), le système d'information de référence pour les données sur la nature porté par le Muséum national d'Histoire naturelle.

La sensibilisation est réalisée grâce à plusieurs outils: des fiches d'identification, de signalements, des plaquettes d'information, un site internet dédié à l'espèce et hébergé par l'Inventaire national du patrimoine naturel (INPN, <http://frelonasiatique.mnhn.fr>) qui donne des informations sur la biologie de l'espèce et les méthodes de lutte, offre un accès à la littérature scientifique et aux actualités sur le sujet et permet de signaler des observations (Rome et Villemant, 2015). Au niveau régional ou départemental, cette sensibilisation est essentiellement effectuée par des réseaux de surveillance et de lutte comprenant surtout les organismes à vocation sanitaire (GDS, FDGDON...), les associations apicoles et les collectivités locales (Figure 4).

Le système mis en place est sensiblement le même dans les autres pays européens ou asiatiques, avec un appui important sur les organismes sanitaires et les associations apicoles. Pour accélérer et faciliter la mise en place de ces réseaux ainsi que la détection rapide de l'introduction de *Vespa velutina* dans d'autres pays, la fiche d'identification du frelon a été traduite dans plusieurs langues européennes et ces différentes versions mises à disposition sur le site internet de l'Anses (<https://eurl-staphylococci.anses.fr/en/minisite/abeilles/free-access-documents-0>). Cette fiche a également été adaptée à la faune coréenne pour sensibiliser la population locale (Rome et al., 2015).

La sensibilisation de la population aide à la détection précoce de l'arrivée du frelon dans une région éloignée du front d'invasion et a permis plusieurs fois la destruction d'un premier nid, retardant ainsi

de quelques années la colonisation de la zone. Cela a été par exemple le cas en Ille-et-Vilaine en 2008, en Île-de-France en 2009 et 2011, dans le Nord en 2011 et peut-être en 2016 en Angleterre (Rome et al., 2013). Aucune méthode de lutte n'étant suffisamment efficace à ce jour, retarder l'inéluctable progression du frelon demeure la meilleure méthode pour réduire son impact sur l'apiculture. Il est toutefois difficile d'obtenir un inventaire exhaustif, car toutes les données ne sont pas communiquées, ou certaines sont de qualité trop faible pour être prises en compte. Toute évaluation d'une méthode de lutte à plus ou moins large échelle doit donc s'accompagner d'une vérification des données de l'inventaire via des prospections sur le terrain afin de quantifier de façon précise l'effectif de nids présents dans la zone d'étude avant, pendant et après l'expérimentation.

Modélisation

Les données d'inventaire permettent d'affiner nos connaissances sur les préférences environnementales de *V.v. nigrithorax* et de prédire ainsi son expansion en Europe. Par manque de connaissances précises sur la biologie de cette sous-espèce, les premiers modèles se basaient uniquement sur les conditions climatiques des localités de présence du frelon dans ses aires d'origine et d'invasion (Villemant et al., 2011) (Figure 5). De nombreux modèles ont été publiés depuis qui prédisent l'expansion potentielle de *V.v. nigrithorax* à l'échelle d'un pays, ou l'impact de méthodes de lutte sur l'évolution de ses populations, en se basant sur des critères climatiques ou d'occupation des sols et quelques rares données biologiques tirées d'observations de terrain ou de laboratoire, ou estimées à partir de données publiées sur des espèces proches (Keeling et al., 2017; Robinet et al., 2016). Compte tenu de la qualité des données d'inventaire qui varie fortement en fonction de la mobilisation des acteurs locaux, du stade de développement des colonies pris en compte (toutes les colonies, ou seulement celles ayant dépassé les stades à forte mortalité), choix qui n'est pas toujours adapté à la question posée, et compte tenu enfin de l'imprécision actuelles des données biologiques, ces prédictions doivent être interprétées avec prudence.

Lutte et recherches en cours

Aucune méthode de lutte n'a, à ce jour, été démontrée comme efficace dans la lutte contre *Vespa velutina*. De nombreux travaux de recherche sont en cours en Europe et en Asie pour développer des systèmes de détection des nids, que ce soit à l'aide de radars divers ou de capteurs infrarouges, dont la destruction précoce demeure à ce jour une des meilleures méthodes pour réguler les populations de l'insecte. Certaines études visent à améliorer la sélectivité et l'efficacité des pièges utilisés pour capturer les femelles sexuées ou les ouvrières, ceci par le développement d'appâts sélectifs et attractifs (ex.: phéromones). La détection des nids étant difficile, d'autres développent des insecticides, les moins nocifs possibles pour l'environnement qui, appliqués ou donnés à des ouvrières sur leur site de chasse, tueraient la colonie une fois introduits dans le nid. Des recherches d'agents pathogènes et des études de l'impact de sa forte consanguinité sur la fragilité de la population européenne sont également en cours. Toutes ces méthodes nécessitant de longs travaux de recherche sans certitude d'aboutir, d'autres méthodes de protection des ruches sont en cours d'évaluation, comme par exemple la mise en place de protections grillagées autour des ruches ou uniquement au niveau de leur entrée pour limiter le stress que, par sa présence en vol stationnaire devant les ruches, le frelon exerce sur les colonies d'abeilles et leur activité de butinage.

Vespa velutina est implanté durablement en Europe et son éradication est illusoire, mais une combinaison de plusieurs des méthodes de lutte en cours de développement pourraient permettre de limiter son impact sur l'apiculture et peut-être réguler un jour ses populations et réduire aussi son rôle négatif sur le reste de l'entomofaune et l'ensemble de la biodiversité.

Remerciements

Ce programme de surveillance est ou a été financé par FranceAgriMer (programme communautaire pour l'apiculture 2008-2011), le ministère en charge de l'Écologie et le ministère en charge de l'Agriculture. Nous remercions C. Onate, L. Dambrine, M. Dufour et C. Jiménez-Gómez pour leur aide dans la validation des données ainsi que toutes les personnes et organisations qui ont communiqué leurs données concernant le frelon (la liste est disponible sur le site internet de l'INPN).

Références bibliographiques

- Arca, M., F. Mougél, T. Guillemaud, S. Dupas, Q. Rome, A. Perrard, F. Muller, et al. 2015. « Reconstructing the Invasion and the Demographic History of the Yellow-Legged Hornet, *Vespa velutina*, in Europe ». *Biological Invasions* 17 (8): 2357-71. doi:10.1007/s10530-015-0880-9.
- Archer, M. E. 2012. *Vespine wasps of the world. Behaviour, Ecology and Taxonomy of the Vespinae*. Vol. 4. Monograph series. Manchester: Siri Scientific Press.
- Haxaire, J., J.-P. Bouguet, et J.-P. Tamisier. 2006. « *Vespa velutina* Lapeletier, 1836, une redoutable nouveauté pour la faune de France (Hym., Vespidae) ». *Bulletin de la Société entomologique de France* 111 (2): 194.
- INPN. 2003-2017. *Inventaire National du Patrimoine Naturel*. Muséum national d'Histoire naturelle [Ed]. <https://inpn.mnhn.fr>.
- Keeling, M.J., D.N. Franklin, S. Datta, M.A. Brown, et G.E. Budge. 2017. « Predicting the Spread of the Asian Hornet (*Vespa velutina*) Following Its Incursion into Great Britain ». *Scientific Reports* 7 (1). doi:10.1038/s41598-017-06212-0.
- Kishi, S., et K. Goka. 2017. « Review of the Invasive Yellow-Legged Hornet, *Vespa velutina nigrithorax* (Hymenoptera: Vespidae), in Japan and Its Possible Chemical Control ». *Applied Entomology and Zoology* 52 (3): 361-68. doi:10.1007/s13355-017-0506-z.
- Robinet, C., C. Suppo, et E. Darroutzet. 2016. « Rapid Spread of the Invasive Yellow-Legged Hornet in France: The Role of Human-Mediated Dispersal and the Effects of Control Measures ». *Journal of Applied Ecology* 54 (1): 205-2015. doi:10.1111/1365-2664.12724.
- Rome, Q., F. Muller, O. Gargominy, et C. Villemant. 2009. « Bilan 2008 de l'invasion de *Vespa velutina* Lapeletier en France (Hymenoptera: Vespidae) ». *Bulletin de la Société entomologique de France* 114 (3): 297-302. [http://www.lasef.org/new/114\(3\)/7-1429%20Rome%20et%20al.pdf](http://www.lasef.org/new/114(3)/7-1429%20Rome%20et%20al.pdf)
- Rome, Q., F. J. Muller, A. Touret-Alby, E. Darroutzet, A. Perrard, et C. Villemant. 2015. « Caste Differentiation and Seasonal Changes in *Vespa velutina* (Hym.: Vespidae) Colonies in Its Introduced Range ». *Journal of Applied Entomology* 139 (10): 771-82. doi:10.1111/jen.12210.
- Rome, Q., M.B. Choi, Y.S. Choi, et C. Villemant. 2015. « An identification information sheet for the invasive hornet *Vespa velutina* (Hymenoptera, Vespidae) with possible areas of confusion with other wasp species ». *Poster of the 44th Apimondia, 15-20 September 2015*. Daejeon, Korea. http://frelonasiatique.mnhn.fr/bhp-bhp030_rome_identification-vespa-velutina_a4-size/.
- Rome, Q., L. Dambrine, C. Onate, F. Muller, C. Villemant, A.L. García Pérez, M. Maia, P. Carvalho Esteves, et E. Bruneau. 2013. « Spread of the invasive hornet *Vespa velutina* Lapeletier, 1836, in Europe in 2012 (Hym., Vespidae) ». *Bulletin de la Société entomologique de France* 118 (1): 21-22. [http://www.lasef.org/new/118\(1\)/1643-1-Rome%20et%20al.pdf](http://www.lasef.org/new/118(1)/1643-1-Rome%20et%20al.pdf).
- Rome, Q., A. Perrard, F. Muller, et C. Villemant. 2011. « Monitoring and control modalities of a honeybee predator, the yellow-legged hornet *Vespa velutina nigrithorax* (Hymenoptera: Vespidae) ». *Aliens: The Invasive Species Bulletin* 31: 7-15. http://www.issg.org/pdf/aliens_newsletters/A31.pdf.
- Rome, Q., et C. Villemant. 2015-2017. « Le Frelon asiatique *Vespa velutina* ». *Inventaire National du Patrimoine Naturel - Muséum national d'Histoire naturelle [Ed]*. <http://frelonasiatique.mnhn.fr>.
- Villemant, C., J. Haxaire, et J. C. Streito. 2006. « La découverte du Frelon asiatique *Vespa velutina*, en France ». *Insectes* 143 (4): 3-7. <http://www7.inra.fr/opie-insectes/pdf/143villemant-haxaire-streito.pdf>.
- Villemant, C., M. Barbet-Massin, A. Perrard, F. Muller, O. Gargominy, F. Jiguet, et Q. Rome. 2011. « Predicting the invasion risk by the alien bee-hawking yellow-legged hornet *Vespa velutina nigrithorax* across Europe and other continents with niche models ». *Biological Conservation* 144 (9): 2142-50. doi:10.1016/j.biocon.2011.04.009.

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Le laboratoire national et européen de référence pour la santé des abeilles (Anses, Sophia Antipolis)

Stéphanie Franco (1)*, Anne-Claire Martel (1), Véronique Duquesne (1), Marie-Pierre Rivière (1), Magali Chabert (1), Marie-Pierre Chauzat (1,2)

*Auteur correspondant: stephanie.franco@anses.fr

(1) Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis, Unité Pathologie de l'abeille, Sophia Antipolis, France

(2) Anses, Direction de la stratégie et des programmes, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, Maisons-Alfort, France

Résumé

Le dispositif de gestion des risques dans le domaine de la santé animale comprend des laboratoires de référence nationaux et européens qui apportent un appui scientifique et technique aux États membres et à la Commission européenne.

Dans le domaine de la santé de l'abeille, le mandat de laboratoire de référence de l'Union européenne est porté depuis 2011 par le laboratoire de Sophia Antipolis de l'Anses, qui est aussi laboratoire national de référence (LNR) et laboratoire de référence de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE).

Sa mission principale est de coordonner les activités analytiques des réseaux de laboratoires officiels dans un secteur large: maladies parasitaires, bactériennes et virales, espèces invasives et résidus de pesticides.

Des activités de recherche sont également conduites pour la mise au point et la validation de méthodes de diagnostic toujours plus performantes. Le laboratoire est investi dans des missions d'expertise auprès des autorités officielles et de la filière apicole. Ces dernières années, il s'est enfin fortement impliqué dans le domaine de l'épidémiologie à travers notamment la coordination du programme européen Epilobee.

Mots-clés

Laboratoire, référence, abeille

Abstract

Activities of the national and European reference laboratory for Honey bee health

The animal health risk management system includes national and European reference laboratories that provide scientific and technical support to Member States and the European Commission.

In the field of honey bee health, the European Union reference laboratory mandate has been assigned since 2011 to the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (Anses) of Sophia-Antipolis. The laboratory is also the National reference laboratory and a reference laboratory of the World Organization for Animal Health (OIE).

Its main mission is to coordinate the analytical activities of the official laboratories network in a wide area: parasitic, bacterial and viral diseases, invasive species and pesticide residues.

Research activities are also carried out for the development and validation of diagnostic methods. The laboratory is moreover involved in expertise for the official authorities and for the beekeeping sector. Finally, during the recent years, the laboratory was strongly involved in epidemiological surveillance, particularly through the coordination of the European program Epilobee.

Keywords

Laboratory, Reference, Honey bee

L'Abeille domestique joue un rôle important, à la fois pour la production de miel et autres produits de la ruche, mais également en tant que pollinisateur. Elle est la cible de très nombreux agents pathogènes biotiques et abiotiques, dont l'impact sur les colonies est souvent encore mal connu. L'unité Pathologie de l'abeille du laboratoire de Sophia Antipolis de l'Anses consacre depuis de nombreuses années son activité à la santé des abeilles et au diagnostic des maladies et troubles les affectant.

Face à l'augmentation des troubles de la santé des abeilles et à la suite du rapport de l'Autorité européenne de sécurité alimentaire (EFSA) sur les mortalités et la surveillance en Europe (Hendriks et al., 2009), la Commission européenne a désigné, en 2011, le laboratoire de Sophia Antipolis, laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE) pour la santé des abeilles (règlement (UE) N°87/2011 du 2 février 2011)⁽¹⁾. Ce mandat vient compléter les autres missions de référence de l'unité qui est aussi laboratoire national de référence (LNR) pour la santé des abeilles, laboratoire associé au LNR Pesticides sur les denrées alimentaires d'origine animale et laboratoire de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) sur les maladies des abeilles.

La référence au service du diagnostic

Les laboratoires ont un rôle majeur à jouer dans le domaine de la santé animale. L'harmonisation et la validation scientifique des méthodes analytiques permettent le rendu de résultats de laboratoire fiables et consolidés pour la mise en place des mesures de lutte et de prévention des maladies.

Les missions des laboratoires de référence sont définies dans la réglementation et reposent principalement sur la coordination des activités analytiques dans un domaine dédié (article R202-5 du Code rural et de la pêche maritime, règlement (UE) 2017/625 du Parlement européen et du Conseil du 15 mars 2017)⁽²⁾:

- optimisation et mise point de méthodes d'analyse afin de proposer et de diffuser des protocoles standardisés,
- organisation d'essais inter-laboratoires, visant à assurer la qualité des résultats,
- collecte, caractérisation et production d'échantillons et souches de référence pour différents agents pathogènes,
- diffusion de ces matériaux de référence aux laboratoires, afin qu'ils puissent être utilisés pour l'adoption des méthodes d'analyse.

Ils ont également un rôle d'appui technique et scientifique auprès des laboratoires et auprès des autorités de tutelles (Commission européenne, pour les LRUE, et Direction générale de l'Alimentation (DGAL), à l'échelle nationale, pour les LNR).

En tant que LRUE, le laboratoire de Sophia Antipolis interagit avec les laboratoires nationaux de référence des différents États membres. En tant que LNR, il anime et forme les réseaux de laboratoires agréés par la DGAL pour le diagnostic officiel des maladies de l'abeille. Le LNR interagit également avec le laboratoire Girpa qui est agréé pour l'analyse de résidus de pesticides (<http://www.girpa.fr/>).

(1) Règlement (UE) n°87/2011 de la Commission du 2 février 2011 désignant le laboratoire de référence de l'Union européenne pour la santé des abeilles, assignant des responsabilités et des tâches supplémentaires audit laboratoire et modifiant l'annexe VII du règlement (CE) n°882/2004 du Parlement européen et du Conseil.

(2) 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 (règlement sur les contrôles officiels).

Tableau 1. Principales méthodes d'analyse disponibles au laboratoire Anses de Sophia Antipolis (LNR Pesticides dans les denrées alimentaires d'origine animale et produits à forte teneur en matière grasse 2017, LNR Santé des abeilles 2017)

Agents biologiques	
Nosérose <i>Nosema apis/Nosema ceranae</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Observation et dénombrement des spores en microscopie optique* • Identification de l'espèce de <i>Nosema</i> par PCR*
Loques américaine et européenne <i>Paenibacillus larvae</i> <i>Melissococcus plutonius</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Examen bactérioscopique après coloration de Gram* • Identification par PCR* • Culture bactérienne
Varroose <i>Varroa destructor</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnostic de la varroose par examen lésionnel et recherche des parasites* • Mesure du taux d'infestation d'un lot d'abeilles par <i>V. destructor</i> par lavage à l'alcool
Acariose des trachées <i>Acarapis woodi</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Détection microscopique d'<i>Acarapis</i> spp. sur une broyat de 200 thorax d'abeilles asymptomatiques* (dépistage) • Détection microscopique d'<i>Acarapis</i> spp. sur un broyat de 20 thorax d'abeilles symptomatiques (diagnostic de la maladie clinique)
Petit coléoptère de la ruche <i>Aethina tumida</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Identification par examen morphologique* • Identification par PCR*
Frelon asiatique <i>Vespa velutina</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Identification par examen morphologique*
Acarions du genre <i>Tropilaelaps</i> spp.	<ul style="list-style-type: none"> • Identification par examen morphologique* • Identification par PCR
Mycoses du couvain <i>Ascosphaera apis</i> et <i>Aspergillus flavus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Examen lésionnel et microscopique
Virus Paralysie chronique - CBPV Couvain sacciforme - SBV Paralysie aiguë - ABPV Cachemire - KBV Ailes déformées - DWV Souche israélienne de l'ABPV - IAPV Cellule noire de reine - BQCV	<ul style="list-style-type: none"> • Détection par PCR conventionnelle • Evaluation de la charge virale par PCR quantitative (CBPV*, SBV, ABPV, BQCV, DWV)
Agents chimiques	
Acaricides Coumaphos, amitraze, bromopropylate, tau-fluvalinate, chlorfenvinphos	Détection et dosage par chromatographie gazeuse (miel*)
Pesticides néonicotinoïdes Thiaméthoxam, imidaclopride, clothianidine, thiaclopride, acétamipride	Détection et dosage par LC-MS/MS (abeilles*, pain d'abeilles*, pollen*, miel*, nectar, sirop de nourrissage, larves)
Autres pesticides Organochlorés, organophosphorés, pyréthrinoides de synthèse, dicarboximidés	Détection et dosage par des méthodes multirésidus en chromatographie gazeuse (abeilles, pain d'abeilles, pollen) Identification par spectrométrie de masse (GC-MS/MS)

* Méthode accréditée par le Cofrac selon la norme ISO 17025

Les activités du laboratoire couvrent un champ large portant sur les principales maladies parasitaires, bactériennes, fongiques et virales de l'abeille ainsi que sur les espèces invasives menaçant le cheptel apicole. L'unité s'intéresse également : i) aux intoxications de colonies par la recherche des résidus des pesticides toxiques pour les abeilles (notamment les néonicotinoïdes), et ii) à la sécurité alimentaire par la recherche de résidus de pesticides dans les miels dans le cadre des plans de surveillance et plans de contrôle (PSPC) organisés chaque année par la DGAL.

Le laboratoire dispose de différentes techniques analytiques : identification morphologique, culture bactérienne, microscopie, identification et quantification des résidus de pesticides par chromatographie en phase liquide (LC-MS/MS) et gazeuse (GC et GC-MS/MS) (Tableau 1).



Figure 1. Les espèces invasives exotiques en Europe: petit coléoptère (*Aethina tumida*) (a/adulte et b/larve) et l'acarien *Tropilaelaps* spp. (c/adulte) (source : Anses, Sophia Antipolis)

Dans le domaine de la santé de l'abeille, il existe peu de méthodes de référence à l'exception de celles publiées dans le Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres de l'OIE. De plus, peu de méthodes sont validées. Le laboratoire travaille sur l'élaboration de nouvelles méthodes et procède à leur validation selon les normes internationales de qualité. Il est accrédité par le Comité français d'accréditation (Cofrac) pour plusieurs lignes d'analyses.

Des missions d'expertise

Le laboratoire a également une activité d'expertise et apporte son appui scientifique et technique auprès de la Commission européenne, de l'EFSA et de la DGAL. Il est également sollicité en tant qu'expert dans le cadre de son mandat pour l'OIE, pour la révision du Manuel terrestre, pour la réalisation de diagnostics ou pour des missions d'appui à l'échelle internationale.

Le laboratoire est en charge de l'identification des espèces invasives exotiques en Europe que sont les acariens du genre *Tropilaelaps* et le petit coléoptère des ruches (*Aethina tumida*) (Figure 1), et effectue le diagnostic officiel en cas de suspicion. Il intervient parfois sur le terrain en appui aux apiculteurs pour le diagnostic et la réalisation des prélèvements lorsque des troubles particuliers (cas de mortalités anormales) sont observés dans les ruchers.

Une implication dans la surveillance épidémiologique

Les laboratoires de référence ont également un rôle à jouer dans le domaine de la surveillance épidémiologique. Ils assurent une veille sanitaire et ont la mission de donner l'alerte lorsqu'un phénomène anormal ou une recrudescence de cas est observée.

Face à l'augmentation des troubles de la santé des abeilles, la Commission européenne a décidé en 2011 de renforcer et d'harmoniser les systèmes de surveillance européens existants, par la mise en place d'un dispositif de surveillance épidémiologique active de la mortalité des abeilles (dispositif Epilobee). Le LRUE a assuré la coordination de ce projet au niveau européen (voir l'article Jacques et al. dans ce numéro). En tant que LNR, le laboratoire a été impliqué dans la déclinaison du projet à l'échelle française (Résabeilles) en appui à la DGAL au niveau de la recherche des agents pathogènes chez les abeilles, et des résidus de pesticides dans le miel et le pain d'abeilles (voir article Mezziani et al. dans ce numéro).

Le LNR participe par ailleurs au groupe de suivi sur la santé des abeilles de la Plateforme nationale d'épidémiologie en santé animale (Plateforme ESA), et est impliqué dans les différents dispositifs officiels de surveillance en place en France, comme le réseau de surveillance des troubles des abeilles et le plan de contrôle des miels.

Suite à la détection d'*A. tumida* dans le sud de l'Italie en 2014 (voir article Franco et al. dans ce numéro), diverses actions de communication sont réalisées afin d'informer et de sensibiliser les acteurs de la filière. Des actualités sanitaires sont notamment régulièrement mises en ligne sur le site Internet du LRUE et de la Plateforme ESA. Des lignes directrices pour la surveillance de *A. tumida* ont également été élaborées en collaboration avec différents experts européens. Au niveau national, des formations ont été organisées en 2015 par le LNR afin de renforcer le dispositif de vigilance.

Des travaux de recherche associés aux activités de référence

Le laboratoire conduit également des activités de recherche pour la mise au point de méthodes d'analyse toujours plus performantes pour mieux détecter, identifier et quantifier les contaminants biotiques et abiotiques de la ruche, et répondre aux besoins de diagnostic sur le terrain. En partenariat avec d'autres organismes nationaux et internationaux, il conduit également des travaux sur la caractérisation des différents agents, l'étude de leur pouvoir pathogène, les mécanismes de résistance aux traitements, et les moyens de lutte.

Ces activités de recherche sont menées à différentes échelles: échelle moléculaire, échelle de l'individu en laboratoire, échelle de la colonie en condition de terrain.

L'unité Pathologie de l'abeille du laboratoire Anses de Sophia Antipolis dispose d'un rucher expérimental composé à l'heure actuelle d'une cinquantaine de colonies et d'un laboratoire d'infectiologie, permettant de réaliser des essais expérimentaux et la production de matrices apicoles en conditions contrôlées. Des infections expérimentales sont réalisées sur abeilles adultes élevées en cagettes pour l'étude par exemple du pouvoir pathogène de certains virus ou des effets des co-expositions (ex: co-exposition des abeilles au virus de la paralysie chronique et aux pesticides néonicotinoïdes notamment le thiaméthoxam) (Figure 2). L'élevage larvaire *in vitro* permet de travailler sur les troubles affectant le couvain.

Conclusion

Les activités et les missions de référence confiées au laboratoire Anses de Sophia Antipolis couvrent un champ large dans le domaine de la santé de l'abeille. La diversité de compétences et d'outils disponibles au sein du laboratoire permet une approche multidisciplinaire des phénomènes observés, et constitue un atout majeur pour répondre aux enjeux de diagnostic, de surveillance et de compréhension des troubles affectant les colonies d'abeilles.

Références bibliographiques

Hendrikx, Pascal, Marie-Pierre Chauzat, Marion Debin, Peter Neuman, Ingemar Fries, Wolfgang Ritter, Mike Brown, Franco Mutinelli, Yves Le Conte, and Ales Gregorc. 2009. « Bee Mortality and Bee Surveillance in Europe. » *EFSA Supporting Publications* 6 (9):n/a-n/a. doi: 10.2903/sp.efsa.2009.EN-27. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2009.EN-27/epdf> (accédé le 30 octobre 2017). 217p.

LNR Pesticides dans les denrées alimentaires d'origine animale et produits à forte teneur en matière grasse. 2017. Rapport annuel d'activité du Laboratoire National de Référence sur les pesticides dans les denrées alimentaires d'origine animale et produits à forte teneur en matière grasse (groupes B2c, B3a et B3b selon l'annexe I de la directive 96/23/CE du Conseil). <https://www.anses.fr/fr/system/files/LABO-Ft-RA2016LNR-Pesticides.pdf> (accédé le 30 octobre 2017). 18p.

LNR Santé des abeilles. 2017. Rapport annuel d'activité du Laboratoire National de Référence sur la Santé des abeilles. <https://www.anses.fr/fr/system/files/LABO-Ft-RA2016LNR-Abeilles.pdf> (accédé le 30 octobre 2017). 27p.

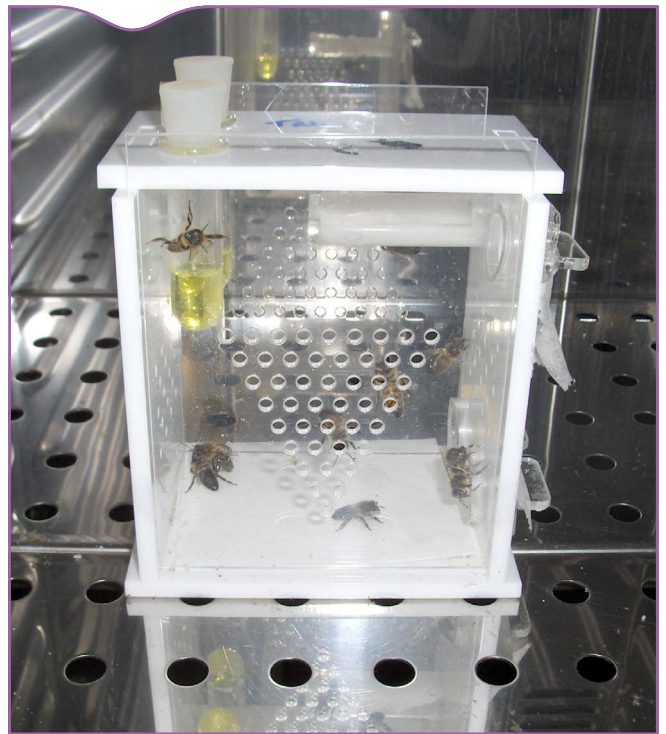


Figure 2. Elevage d'abeilles en cagette dans le laboratoire d'infectiologie expérimentale (source : Anses, Sophia Antipolis)

Comité de rédaction spécial

Anne Bronner (1), Didier Calavas (2), Marie-Pierre Chauzat (3), Julien Cauchard (1), Axel Decourtye (4), Stéphanie Franco (3), Pascal Hendrikx (5), Fayçal Meziani (6), Marylin Pioz (7), Sébastien Wendling (1)

(1) Direction générale de l'Alimentation, Bureau de la santé animale, Paris, France

(2) Anses, Laboratoire de Lyon, Unité Epidémiologie, Lyon, France

(3) Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis, Laboratoire national de référence sur la santé des abeilles, Sophia-Antipolis, France

(4) Institut technique et scientifique de l'apiculture et de la pollinisation (Itsap-Institut de l'Abeille), Avignon, France

(5) Anses, Laboratoire de Lyon, Unité d'animation et de coordination de la surveillance, Lyon, France

(6) Direction générale de l'Alimentation, Sous-direction de la santé et de la protection animales et Sous-direction de la qualité, de la santé et de la protection des végétaux, Paris, France

(7) Inra, Unité de recherche 406 Abeilles & Environnement, Avignon, France

Directeur de publication: Roger Genet

Directeur associé: Patrick Dehaumont

Comité de rédaction: Didier Boisseleau, Anne Brisabois, Corinne Danan, Benoît Durand, Françoise Gauchard, Pascal Hendrikx, Paul Martin, Elisabeth Repérant, Sylvain Traynard

Rédacteur en chef: Didier Calavas

Rédactrice en chef adjointe: Anne Bronner

Éditeur scientifique: Julien Cauchard

Responsable d'édition: Fabrice Coutureau

Assistante d'édition: Céline Leterq

Anses - www.anses.fr

14 rue Pierre et Marie Curie

94701 Maisons-Alfort Cedex

Courriel: bulletin.epidemio@anses.fr

Conception et réalisation: Parimage

Crédits photos: Anses, Parimage

Impression: Bialec

23 Allée des Grands Pâquis - 54180 Heillecourt

Tirage: 3 500 exemplaires

Dépôt légal à parution/ISSN 1630-8018

