

Loque européenne (EFB) : nouvelle méthode de diagnostic pour faire face à la recrudescence des cas frappant la Suisse depuis 1999

Charrière Jean-Daniel, Roetschi Alexandra, Anton Imdorf

Centre de recherches apicoles, Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, 3003 Berne, Suisse

Résumé :

On observe en Suisse depuis 1999 un accroissement rapide du nombre de cas de loque européenne. Alors que durant plus de 30 ans le nombre de nouveaux foyers annuellement répertoriés variait de 20 à 50, la barre des 500 nouveaux cas a été dépassée pour l'année 2008. La législation suisse impose la destruction des colonies avec symptômes de EFB et des cadres potentiellement infectés ainsi que la mise en place d'une zone de séquestre dans un périmètre d'un kilomètre autour du foyer.

La présence de symptômes cliniques survient dans un stade avancé de la maladie et *Melissococcus plutonius*, l'agent pathogène de la loque européenne, a généralement déjà eu le temps de se propager aux colonies environnantes. Pour cette raison, il serait important de repérer les colonies infectées avant l'apparition de symptômes cliniques afin de pouvoir prendre des mesures de lutte à un stade précoce. De même, lors de la découverte d'un nouveau foyer, il serait important de connaître le taux d'infection des ruchers situés dans les environs afin de connaître la propagation de la maladie.

Dans le cadre du présent essai de terrain, nous avons échantillonné toutes les colonies des ruchers situés aux alentours de 6 foyers de EFB. Chaque échantillon est constitué de 12 grammes d'abeilles adultes prélevées dans le nid à couvain. Simultanément à la prise d'échantillons, la présence et l'intensité des symptômes cliniques a été contrôlée dans chaque colonie. L'analyse des échantillons d'abeilles a été faite par PCR quantitative en temps réel. Les résultats ont montré qu'il y a une relation étroite entre le taux d'infection des échantillons d'abeilles et l'intensité des symptômes cliniques. Lorsque nous avons diagnostiqué des infections importantes sur les ruchers situés aux alentours des foyers de EFB, nous avons généralement aussi découvert une ou plusieurs colonies présentant des symptômes cliniques.

Pour des questions de coûts, une analyse individuelle par colonie n'est pas applicable pour le diagnostic de routine. Dans un autre essai, nous avons donc évalué si la moyenne arithmétique des infections des colonies d'un rucher est comparable à une analyse d'un échantillon commun d'abeilles prélevé dans toutes les colonies de ce rucher. Comme la corrélation entre ces deux mesures est très bonne ($R=0.96$), nous pouvons conclure que l'analyse d'un échantillon commun est suffisante pour avoir une idée du taux d'infection du rucher. Un système à trois catégories d'infection est proposé : (-) pas d'infection ; (+) infection présente, probablement sans présence de symptômes cliniques de EFB, des contrôles réguliers du couvain s'imposent ; (++) infection importante avec fortes probabilités de trouver des colonies présentant des symptômes cliniques.

Nos résultats montrent que cette méthode permet de repérer avec une bonne fiabilité et à un stade précoce les ruchers infectés et ainsi prendre des mesures pour réduire l'infection et éviter la propagation de *M. plutonius*. Elle permet également, en se basant sur l'infection moyenne du rucher, de cibler le travail des agents sanitaires dans leur recherche de colonies porteuses de symptômes.

Mots clés : *Apis mellifera*, *Melissococcus plutonius*, European foulbrood, diagnosis

Introduction :

La loque européenne est une maladie grave des stades juvéniles de l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.), provoquée par la bactérie Gram-positif *Melissococcus plutonius*. Les symptômes de la loque européenne sont l'effondrement de la larve dans le bas de la cellule, l'absence de turgescence de la larve qui prend une teinte jaunâtre puis se décompose. Les abeilles adultes sont en partie capables de reconnaître les larves malades et de les éliminer. Ceci provoque l'image d'un couvain très dispersé et lacunaire. Selon la législation en vigueur, la maladie doit obligatoirement être déclarée aux autorités vétérinaires et les colonies symptomatiques ainsi que leurs cadres sont détruits. De 1970 à 1998, on recensait en Suisse par année 20 à 50 ruchers infectés par la loque européenne (Figure 1). Or, depuis 1999, on enregistre une recrudescence des cas. En 2003 et 2004, on dénombrait plus de 150 ruchers infectés par an et en 2008, la barre des 500 cas a été dépassée. La cause de cette augmentation importante de cas n'est pas connue.

Le développement d'une méthode de diagnostic quantitative par PCR en temps réel (Roetschi et al., 2008) ouvre la possibilité d'améliorer nos connaissances épidémiologiques de cette maladie et de disposer d'un outil pour un diagnostic précoce.

Le but du présent essai est de trouver une clé d'interprétation pour la pratique des résultats fournis par l'analyse moléculaire d'échantillons d'abeilles.

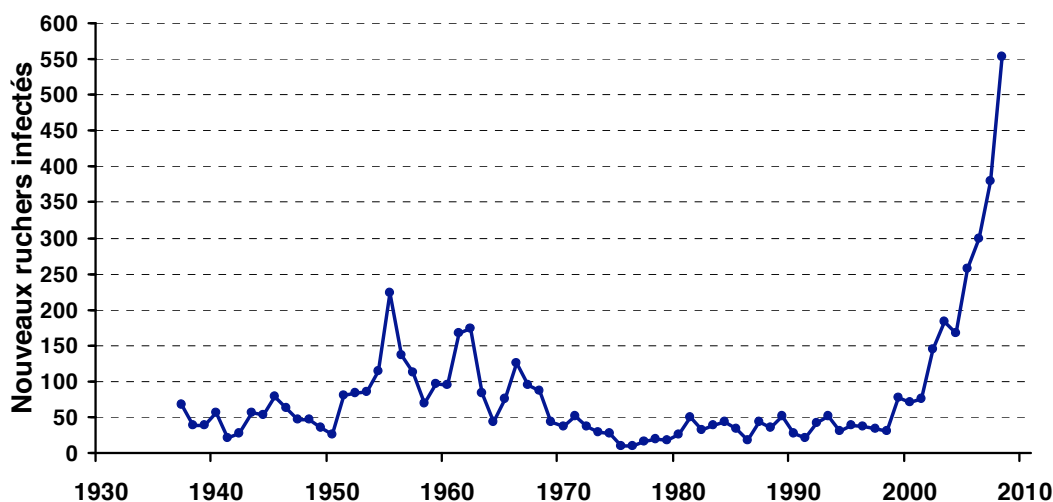


Figure 1 : Nombre de nouveaux foyers de loque européenne annoncés annuellement en Suisse de 1937 à 2008

Matériels et méthodes

Sur le plateau suisse, six nouveaux foyers de loque européenne représentant autant de cas, sont pris en compte dans l'essai. Chaque cas est constitué du rucher foyer, soit le premier rucher annoncé où l'on a trouvé des colonies présentant des symptômes cliniques, ainsi que les ruchers se trouvant dans un périmètre de 1 km environs. Toutes les colonies de ces ruchers ont été inspectées pour rechercher d'éventuels symptômes cliniques et l'intensité de ceux-ci a été notée. Parallèlement au contrôle visuel, un échantillon d'une centaine d'abeilles a été prélevé dans le nid à couvain et immédiatement congelé. L'infection des abeilles prélevées à cet endroit fournit un indice fiable de l'état sanitaire de la colonie (Belloy et al., 2007; Gillard et al., 2008). La quantité d'agents pathogènes de la loque européenne a été déterminée par la PCR quantitative en temps réel décrite par Roetschi et al. (2008).

Résultats

Le taux d'infection des échantillons d'abeilles est en relation directe avec l'intensité des symptômes cliniques (Figure 2). Les échantillons collectés dans les colonies ne présentant pas de symptôme clinique de EFB sont significativement moins infectés que les échantillons provenant des colonies malades (Kruskal-Wallis, $P < 0.05$). D'autre part, on mesure que les abeilles récoltées au trou de vol sont significativement moins infectées que celles du nid à couvain (Mann-Whitney U-test, $P < 0.05$).

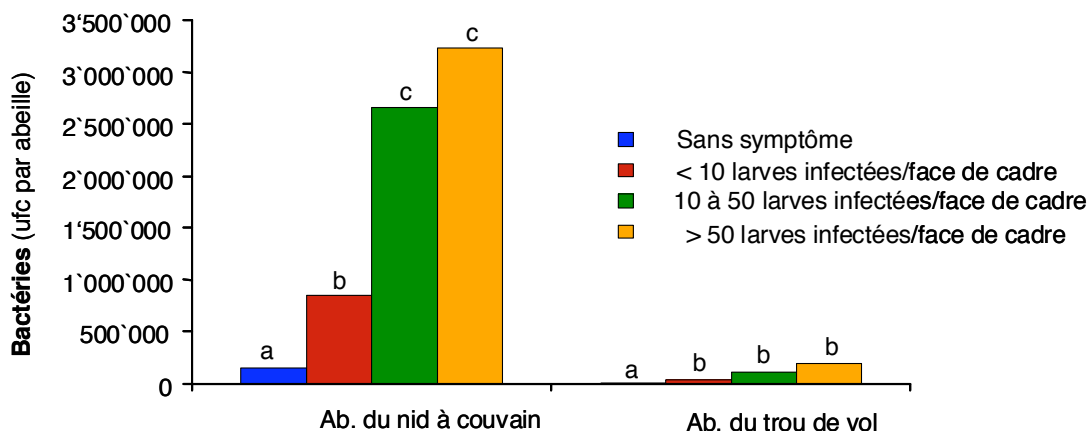


Figure 2 : Taux d'infection moyen des échantillons d'abeilles prélevés dans des colonies asymptomatiques et symptomatiques pour EFB soit dans le nid à couvain ou au trou de vol de la ruche.

L'analyse de l'infection moyenne des ruchers a permis de déterminer les ruchers peu infectés où la probabilité de trouver des ruches malades est faible (Figure 3). D'autre part, nous savons aussi quels ruchers d'apparence saine sont déjà infectés. Grâce à ce dépistage précoce, les apiculteurs concernés peuvent contrôler régulièrement le couvain des colonies et, selon le développement de la maladie, ils peuvent intervenir à temps. On observe une grande variabilité de l'intensité de l'infection moyenne selon le cas et montre avec quelle intensité la maladie s'est propagée dans les régions sous examen. Le cas n°4 en particulier est impressionnant et est dû au fait qu'aucun des apiculteurs voisins n'a remarqué l'infection de loque européenne. Les chances d'assainir rapidement une région sont plus grandes si l'on constate l'infection à un stade précoce et avant que la maladie ne se soit déjà trop fortement propagée.

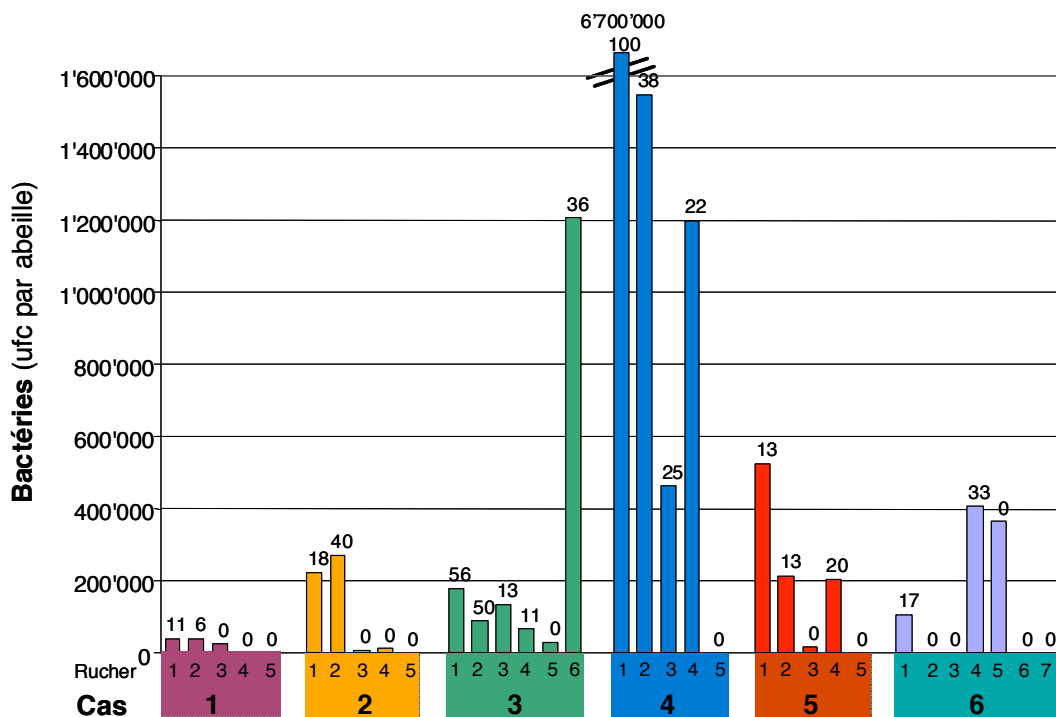


Figure 3 : Pour chaque cas, le rucher 1 représente le rucher sur lequel des symptômes cliniques ont été observés en premier (foyer). Les ruchers 2 à 7 sont des ruchers qui se trouvent dans un périmètre de maximum 1 km autour du foyer. Le chiffre en tête des colonnes indique le pourcentage des ruches ayant des symptômes sur le rucher en question.

Discussion / Conclusions

L'analyse d'échantillon d'abeilles fournit une information fiable de l'état sanitaire momentané de la colonie. L'analyse de nourriture est moins fiable (Forsgren et al., 2005). Les abeilles prélevées dans le nid à couvain sont près de 20 fois plus infectées que celles du trou de vol. Ce sont en effet ces abeilles qui sont chargées du soin au couvain et notamment d'évacuer d'éventuelles larves malades ce qui les fait entrer en contact direct avec les agents pathogènes. Les mêmes observations ont été faites pour la loque américaine (Lindström and Fries, 2005; Gillard et al., 2008).

Dans les cas où un foyer de loque se déclare, l'analyse par PCR quantitative d'échantillons d'abeilles est un outil performant pour connaître l'état sanitaire des ruchers se trouvant à proximité du rucher malade. Cette information peut être utile pour cibler les travaux de contrôle de symptômes sur les ruchers les plus fortement infectés. Un diagnostic précoce permet également à l'apiculteur de prendre des dispositions pour éviter une propagation de la maladie en renonçant par exemple au transfert de rayons entre colonies ou à la transhumance, ou de prendre des dispositions pour réduire l'infection sur le rucher en procédant par exemple à des désinfections régulières de son matériel ou en renouvelant fréquemment les rayons des colonies.

Références

Belloy L., Imdorf A., Fries I., Forsgren E., Berthoud H., Kuhn R., Charrière J.D. (2007) Spatial distribution of *Melissococcus plutonius* in adult honey bees collected from apiaries and colonies with and without symptoms of European foulbrood, *Apidologie* 38, 136-140.

- Forsgren E., Lundhagen A.C., Imdorf A., Fries I. (2005) Distribution of *Melissococcus plutonius* in honeybee colonies with and without symptoms of European foulbrood, *Microbial Ecology* 50, 369-374.
- Gillard M., Charriere J.D., Belloy L. (2008) Distribution of *Paenibacillus larvae* spores inside honey bee colonies and its relevance for diagnosis, *J. Invertebr. Pathol* 99, 92-95.
- Lindström A., Fries I. (2005) Sampling of adult bees for detection of American foulbrood (*Paenibacillus larvae* subsp *larvae*) spores in honey bee (*Apis mellifera*) colonies, *J. Apic. Res.* 44, 82-86.
- Roetschi A., Berthoud H., Kuhn R., Imdorf A. (2008) Infection rate based on quantitative real-time PCR of *Melissococcus plutonius*, the causal agent of European foulbrood, in honeybee colonies before and after apiary sanitation, *Apidologie* 39, 362-371.