

Le syndrome de dépeuplement des ruches en Espagne

MARIANO HIGES, RAQUEL MARTIN, ALBERTO SANZ, NOEMT ALVAREZ, ANGEL SANZ, Ma DEL PILAR GARCIA*, ARANZAZU MEANA*

Centro Apícola Regional. Dirección General de la Producción Agropecuaria de la Consejería de Agricultura. Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.

* Departameno de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid

Dans le présent article, nous donnons un aperçu des derniers travaux réalisés par notre groupe, relatifs à l'origine du syndrome de dépeuplement des ruches qui affecte nos exploitations depuis quelques années.

La nouvelle la plus important est la détection pour la première fois de microspores *Nosema cerana* qui parasitent *Apis mellifera* dans les colonies touchées par le dépeuplement.

La présence de ce parasite dans nos colonies pourrait être l'explication des symptômes particuliers qui se manifestent dans les exploitations affectées par ce syndrome. ...

Le syndrome de dépeuplement des ruches.

Ce qui est aujourd'hui appelé «syndrome de dépeuplement des ruches» n'est pas un phénomène nouveau, bien qu'en automne/hiver 2005 et au printemps 2005 il se soit manifesté avec une virulence extrême. Notre équipe l'avait détecté dès la fin des années 90 et au début des années 2000, avec une moindre incidence.

Il se caractérise par la diminution progressive du nombre d'abeilles d'une colonie, sans cause apparente, jusqu'à son effondrement et sa disparition par manque d'abeilles suffisantes -pour assurer les tâches

élémentaires. Jusqu'à présent, ce dépeuplement n'était associé à aucune pathologie particulière, même si des maladies secondaires apparaissent dans les phases finales, surtout les maladies du couvain comme la loque américaine et l'ascosporose.

Le syndrome doit être mis en relation avec une série de manifestations telles que la diminution de production de miel et pollen par la perte progressive des abeilles. On n'observe pas de mortalité évidente, mais seulement une nette perte de vigueur. Dans la phase ultime, les colonies disparaissent parce qu'elles ne comptent plus suffisamment d'abeilles pour

assurer la thermorégulation interne, qu'elles ne peuvent plus approvisionner les réserves de miel et de pollen, ni s'occuper du couvain.

En 2003 et 2004, le syndrome de dépeuplement s'est surtout manifesté pendant l'automne et l'hiver, période pendant laquelle les colonies sont les moins peuplées. Cependant, en 2005, le nombre de cas a fortement progressé, ce qui indiquerait une recrudescence du phénomène.

L'appellation « syndrome de dépeuplement » est utilisée parce que les manifestations cliniques ne coïncident pas avec celles de principales maladies connues. Ainsi, on n'observe pas de symptômes tels que des diarrhées, des déformations anatomiques, des mortalités évidentes devant les ruches, etc. C'est pourquoi on en est venu à considérer qu'il s'agissait d'une entité nosologique propre.

Dépeuplement et traitements aux pesticides des semences de tournesol

L'action toxique de certains pesticides agricoles a été la cause la plus souvent avancée pour expliquer le syndrome de dépeuplement des ruches..

Pendant les six dernières années, nous avons étudié l'action possible de certains pesticides à usage agricole comme l'Imidacoprid (Gaucho R) ou le Fipronil (Regent R), utilisés pour le traitement des semences de tournesol, et leur relation avec le dépeuplement des ruches. Cette étude était motivée par l'inquiétude du secteur quant à la possible utilisation de ces produits. Les études réalisées en France ont été les premières dans ce

domaine suite à la dénonciation des apiculteurs français qui accusaient ces produits de la perte des colonies d'abeilles, perte subie dans les années 90. L'action toxicologique réelle de ces substances est très discutée, les travaux publiés récemment montrent des résultats contradictoires (Maus, 2003; Montcharmont et col., 2003; Stadler et col., 2003; Aubert et col., 2004; Bonmatin et col., 2004; Colin et col., 2004; Faucon et col., 2004; Schmuck, 2004; Suchail et col., 2004). ... Dans de nombreux cas, les concentrations d'imidacloprid ou de fipronil et de leurs métabolites, détectés en France dans les nectars et pollens, n'expliquent pas seules les symptômes observés dans les ruches et dénoncés par les apiculteurs (Faucon et col., 2004). Entre autres causes, pourraient être responsables l'action d'agents pathogènes (parasites, virus, etc.), une sensibilité à ces produits particulière à certaines races d'abeilles ou l'action de certains facteurs déterminants pas encore identifiés. ...

En Espagne, la situation est totalement différente à celle de France. Une simple analyse des éléments obtenus par notre groupe de travail est assez éclairante.

L'imidacloprid n'est pas autorisé en Espagne pour le traitement des semences de tournesol, et ne l'a pas été jusqu'à aujourd'hui. Son utilisation serait donc illégale sur cette culture. Nos analyses réalisées entre 1999 et 2001 (années où le secteur apicole a commencé à dénoncer des problèmes de dépeuplement en Espagne) sur les semences de tournesol, le pollen de tournesol et le miel des ruches placées dans différents

cramps ae zournesoi ae LasUHHa-La Mancha, n'ont jamais détectés la présence de cette molécule ou de ses métabolites. Cette situation devrait être identique dans le reste de l'Espagne.

En ce qui concerne le fipronil, la situation est différente. Si actuellement cette substance est autorisée pour le traitement des semences de tournesol, elle n'a été utilisée pour la première fois en Espagne qu'en 2004. Des 500.00 ha environ de surfaces cultivées de tournesol, seulement 25.000 ha ont été ensemencés avec des graines traitées au fipronil, soit environ 5% du total national. Les parcelles concernées se situent exclusivement dans les provinces de Cordoba et Sevilla (environ 22.500 ha, soit 90%) et dans la province de Cuenca (2.500 ha, soit 10%).

En 2005, la surface de tournesol en Espagne a été d'environ 750.000 ha, dont 64.000 ha ont reçus des semences traitées au fipronil (autour des 8% du total). Comme l'année précédente, les surfaces traitées se situaient dans les provinces de Cordoba et Sevilla (quelques 55.000 ha, soit environ 90%) et dans la province de Cuenca (quelques 9.000 ha, soit 10%). De plus, la forte sécheresse dont nous avons souffert cette année, a eu comme conséquence qu'une grande partie du tournesol d'Andalousie n'a pas pu être exploité par les apiculteurs, ce qui a diminué considérablement la transhumance vers cette communauté autonome et vers cette culture.

Si finalement, il apparaissait que le traitement des semences de tournesol avec ces substances était capable de produire sur les abeilles des effets

cliniques comparables à ceux au syndrome de dépeuplement des ruches, la probabilité que ce problème ait existé en Espagne, associé aux cultures de tournesol, est vraiment faible ou nulle. Notamment parce que l'usage de ces substances est anecdotique, que les ruches qui cette année auraient été en contact direct avec la substance sont très peu nombreuses et que le problème n'aurait dû se constater que dans les ruches situées dans une des trois provinces concernées. Les dépeuplements se sont produits avec les mêmes manifestations cliniques dans les zones où se cultive le tournesol (traité ou pas au fipronil) que dans les zones sans tournesol, et majoritairement plusieurs mois après la fin de la floraison de cette plante, dans toutes les régions espagnoles.

A l'heure actuelle, nous sommes en train de réaliser une étude de terrain approfondie sur les possibles répercussions des cultures de tournesol dont les semences ont été traitées au fipronil sur les colonies d'abeilles. Bien que nous ne disposions pas encore des résultats définitifs, nous n'avons pas rencontré jusqu'à aujourd'hui de problèmes toxicologiques qui pourraient être dus à cette substance.

[...]

Dépeuplement et maladies parasitaires des abeilles

Parmi les pathologies qui affectent les abeilles mellifères, la varroase et la nosébose occupent une place prépondérante. Néanmoins, aujourd'hui, les laboratoires spécialisés dans l'étude des pathologies apicoles sont peu nombreux dans notre pays, si

bien que nous ne disposons pratiquement pas de données officielles qui permettraient d'en évaluer l'impact réel sur le secteur apicole et l'influence sur la viabilité des colonies et sur leurs productions (miel, pollen, gelée royale, etc.).

A partir des résultats d'analyse de notre laboratoire, une estimation approximative de l'impact de ces maladies parasitaires pourrait être extrapolée. Plus de 50% des échantillons remis au Laboratoire de Pathologie du Centre Apicole Régional en 1998 furent diagnostiqués positifs à ces pathologies; les cas positifs furent un peu plus nombreux en 1999. Le problème s'est accentué pendant l'année 2000 et au début de 2001, si bien que nous avons suspecté que l'augmentation des mortalités de colonies d'abeilles dénoncées par les apiculteurs pouvaient être dues aux maladies parasitaires. Alors que pendant ces années et les suivantes les cas positifs de varroa se maintenaient à un niveau stable (même si sur quelques uns d'entre eux nous avons également identifié des particules virales), les cas diagnostiqués positifs à la nosérose ont connu une croissance exponentielle. En 2002 et surtout en 2003 (104 foyers en 2002 et 258 foyers en 2003), les cas de nosérose, qu'en principe nous pensions dus à *Nosema apis*, ont dépassé les 40% des cas diagnostiqués dans notre laboratoire.

En 2004, le problème s'est étendu, provoquant un important affaiblissement des colonies d'abeilles et des mortalités massives dans les cas les plus graves, surtout en automne/hiver dans différentes communautés autonomes comme

Castilla-León, Extremadura, Andalucía, Castilla-La Mancha et Galicia (...). Rappelons que la grande part de l'apiculture nationale est localisée dans ces zones, ce qui suppose un grave problème sanitaire et écologique.

Dans notre laboratoire, sur les 3000 foyers analysés en 2004, en provenance de la presque totalité des communautés autonomes (à l'exception de la Galice, du Pays basque et de la Catalogne qui n'ont pas remis d'échantillon à notre laboratoire), les 90% furent diagnostiqués atteints par la nosérose, en tenant en compte les lésions macroscopiques et la détection de spores de microsporides compatibles avec celles de *Nosema apis*. Cependant, les observations cliniques ne correspondent pas totalement avec la description des publications spécialisées, ni avec notre expérience.

Aussi pouvons nous considérer qu'aurait pu apparaître une nosérose chronique d'automne/hiver, ainsi que décrit par l'Office international des épizooties (OIE 2004), puisque le plus important pourcentage de cas positifs a été constaté entre les mois de septembre et décembre 2004 (99,3% des échantillons reçus pendant cette période furent positifs). Les observations cliniques montraient un affaiblissement des colonies sans autres symptômes associés, une diminution importante de production lors des printemps / été précédents et la disparition des abeilles dans les cas les plus graves. Malgré la présence de spores chez les abeilles affectées, l'attention se portait sur les caractéristiques particulières des observations cliniques, clairement diffé-

netles de la nosémose provoquée par *Nosema apis* dans notre pays. Les altérations observées à l'appareil digestif étaient plus graves, avec de très importantes lésions au niveau cellulaire, et l'apparition de colonies affectées en été, à une époque pendant laquelle il n'y a normalement pas de cas de nosémose dus à *Nosema apis*. Il était surprenant aussi de constater sur le terrain la grande résistance des spores (capacité de supporter des conditions de froid et de faible humidité pendant l'hiver 2004/2005), et la rapide augmentation des détections positives des analyses dans notre laboratoire (de 13% en 1999 à 90% en 2004 et probablement 97% en 2005).

Dans d'autres pays comme la France et l'Allemagne, une augmentation de nosémose dans les cinq dernières années n'a pas été communiquée malgré la présentation de cas cliniques similaires à ceux produits en Espagne avec le dépeuplement comme principal symptôme. En Italie, on a relevé seulement trois foyers en 2000 et au Portugal, entre 12 et 83 foyers en 1999 et 2004. Tout cela nous donne à penser que dans ces pays fait défaut une information épidémiologique adaptée et fiable sur la nosémose. La France seule déclare effectuer une surveillance sanitaire de la maladie. Dans les autres pays, aucune mesure de contrôle n'a été mise en place et on n'a pas connaissance de la prévalence réelle de cette pathologie. Il est probable que les problèmes d'affaiblissement et de mortalité de colonies d'abeilles référencés dans la bibliographie des différents pays européens ont une relation avec cette maladie.

logique sur la nosémose des abeilles à l'échelon mondial peut être aggravé par la décision de l'OIE de ne pas inclure cette maladie parmi les maladies à déclaration obligatoire dans la révision de 2005 du *Manual of Standards for diagnostic test and vaccines*.

Dans les huit premiers mois de 2005, la situation s'est à nouveau aggravée. Nous avons, durant cette période, analysé plus de 790 foyers provenant de la totalité du territoire national. La détection de spores de *Nosema* a été positive pour 97 % des échantillons analysés. Dans tous les cas, les échantillons d'abeilles provenaient de ruchers affectés par le dépeuplement à un degré plus ou moins important, reproduisant la symptomatologie clinique déterminée par notre laboratoire et les lésions tant au niveau macroscopique qu'histologique. Pendant cette année, des foyers ont été détectés tous les mois et cette tendance continue actuellement.

Détection de *flosema ceranae* dans les ruches affectées par le dépeuplement

Comme nous l'avons indiqué, les cas de dépeuplement et de mortalité de colonies d'abeilles associés à une symptomatologie clinique caractéristique étaient compatibles avec ceux de la nosémose chronique causée par *Nosema apis* décrit par l'OIE. Jusqu'à ce jour, cette maladie était considérée comme causée uniquement par la multiplication du protozoaire *Nosema apis* Zander dans l'épithélium du tube digestif des abeilles. Il s'agit d'une maladie de répartition

mondiale. Elle se manifeste habituellement par des diarrhées chez les abeilles mellifères dans les cas graves (Bailey et Ball, 1991; Fries, 1997). Bien que dans les climats tropicaux et subtropicaux on ne considère pas ce problème comme important, dans le climat tempéré l'impact défavorable de cette maladie sur la capacité productive des colonies d'abeilles (Farrar, 1947; Fries et Ekblom, 1984) de même que sur leur survie (Farrar, 1942; Fries, 1988) font de la nosérose un des parasites les plus graves des ruches.

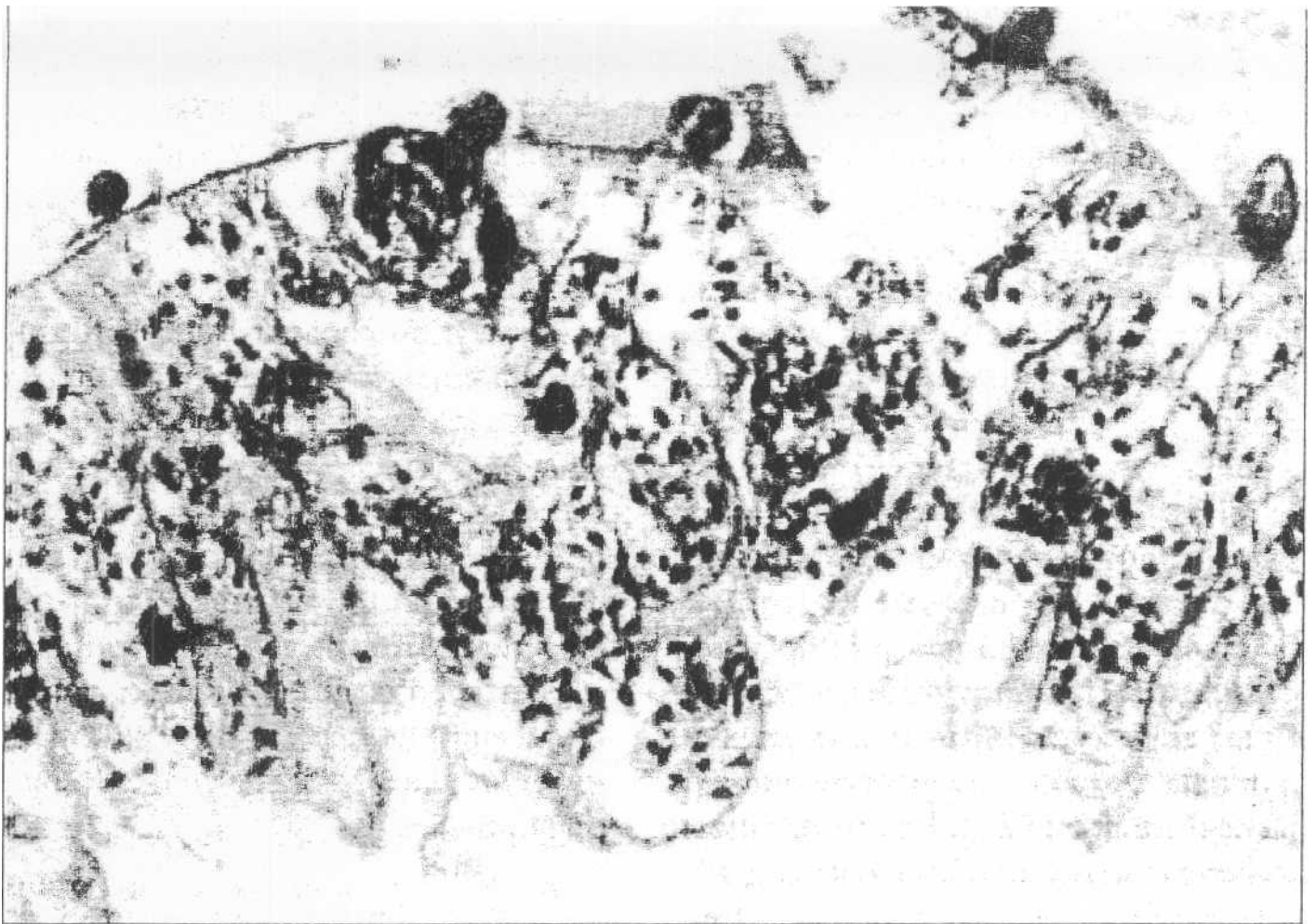
Le développement du parasite dans les cellules épithéliales de l'intestin moyen (ventricule) des abeilles peut affecter tous les individus adultes de la colonie (ouvrières, mâles, reine) (Bailey et Ball, 1991; Fries, 1993, 1997). L'activité des enzymes protéolytiques intestinales diminue (Malone et Gatehouse, 1998) et pour les nourrices cela produit une réduction de l'activité des glandes hypopharyngiennes (Wang et Moeller, 1971), entre autres lésions. Cette pathologie provoque une réduction du temps de vie moyen des abeilles (Kleinschmidt et Ferguson, 1989), de grandes pertes de productivité (De Graaf et Jacobs, 1991) et une grande mortalité des colonies pendant l'hiver (Nitschmann, 1957). Les problèmes causés par le renouvellement de la reine s'ajoutent au préjudice économique causé par le parasite (Farrar, 1947).

Dans sa forme aiguë, la nosérose provoque de la diarrhée et génère une grande libération de spores à travers les matières fécales (Bailey, 1981). Il a été établi une relation entre la quantité de spores et la perte

de colonies (Kauko et al., 2003). Mais la conséquence la plus grave est peut-être la diminution de la capacité de résistance des abeilles face aux autres agents infectieux due à une moindre réponse immunitaire. Cela paraît être la cause la plus probable, dans certains cas, de viroses graves dans les colonies d'abeilles parasitées de manière chronique par le *Nosema* (Benjeddou et al., 2001; Davison et al., 2003; Chen et al., 2004).

La symptomatologie associée aux cas positifs comme la gravité des lésions, la non-apparition de symptômes de diarrhée en général et l'apparition de ces pics de maladies à des moments de l'année différents de ceux connus pour le cycle biologique du parasite *Nosema apis* nous a conduits à penser que probablement il s'était produit un changement dans la nature de l'agent étiologique responsable de la maladie. Pour confirmer cette hypothèse, nous avons développé une technique de biologie moléculaire qui permet d'amplifier et de séquencer une partie du génome très spécifique des spores et qui permet d'établir une différenciation claire entre les espèces du genre *Nosema* et les autres genres phylogénétiquement proches.

Cette technique nous a permis de vérifier que les séquences d'ADN présentaient une homologie de 100% avec la séquence de *Nosema ceranae*. Techniquement ce résultat est définitif pour considérer l'espèce étudiée dans les ruchers comme une espèce différente de *Nosema apis*. Nous devons ajouter qu'il a été trouvé également dans un seul des échantillons étudiés une autre séquence compatible à 100% avec *Nosema apis*.



Cellules de l'épithélium intestinal attaqué par Nosema.

Ces résultats nous permettent de confirmer la présence de *Nosema ceranae* chez *Apis mellifera* en Espagne. La présence de ce parasite dans notre pays en fait probablement le principal responsable du problème sanitaire que présentent nos exploitations apicoles actuellement, problème que nous avons déjà indiqué et défini comme le syndrome du dépeuplement des ruches. Il s'agit de la première mise en évidence de la capacité de *Nosema ceranae* de parasiter *Apis mellifera* faite en Espagne et en Europe. Pour la première fois la relation est faite avec un cas clinique concret.

À l'échelle mondiale, le problème peut être réellement grave puisque récemment Huang et al. dans un travail présenté dans le 38^e Meeting of

the Society for Invertebrate Pathology (711 août 2005, Anchorage, Alaska, USA) mais non encore publié, ont détecté dans les ruches de Taiwan des abeilles parasitées par le *Nosema ceranae*. Du point de vue épidémiologique, cette découverte est de grande importance puisqu'il se confirme que dans la zone géographique d'origine de *Nosema ceranae* le parasite a été capable de passer à un nouvel hôte *Apis mellifera*. Il est très probable que *Nosema ceranae* s'est propagé dans les colonies d'abeilles mellifères européennes aussi bien sur le continent asiatique que sur le continent européen jusqu'à parvenir dans notre pays en suivant des routes géographiques similaires à celles suivies par le varroa. Naturellement cette hypothèse doit

être confirmée à travers la recherche et la déclaration de présence de *Nosema ceranae* dans d'autres pays voisins, situation qui ne s'est pas encore produite, probablement du fait de la non-réalisation d'études dans ce sens.

Il est également d'un grand intérêt d'indiquer que les butineuses sont les individus les plus affectés au moment où les colonies d'abeilles sont productives. Ces observations préalables nous indiquent que les abeilles affectées meurent à l'extérieur loin des ruches. Ce fait provoque un dépeuplement progressif des ruches affectées sans que l'on voit des abeilles mortes et cela causerait un moindre apport de nectar et de pollen avec pour conséquence la disparition totale de la colonie par manque d'aliments et d'ouvrières à moyen terme. Comme dans le cas des autres microsporidies, les spores de *Nosema ceranae* auraient la capacité de résister de longues périodes de temps dans le milieu ambiant facilitant ainsi les réinfections des ruches et la répétition dans le temps des situations de dépeuplement. Jusqu'à maintenant il n'a pas été possible d'établir une relation directe entre le nombre de spores présents dans l'appareil digestif de l'abeille et les lésions qu'il produit. Cet aspect est d'une importance vitale du point de vue du diagnostic étant donné que les techniques de parasitologies habituelles de routine utilisées pour diagnostiquer la nosérose produite par *Nosema apis* et recommandée par l'OIE ont souvent donné des faux négatifs dans les ruches affectées par *Nosema ceranae*.

Au sujet du traitement de cette nosérose comme pour les autres espèces, l'agent causal est très sensible à la fumagilline appliquée à la dose correcte. Ces mesures thérapeutiques devraient être accompagnées si nécessaire de mesures destinées à désinfecter le matériel apicole de préférence avec l'acide acétique et la chaleur (OIE 2004).

Conclusion:

Nous sommes devant la première détection de microspores de *Nosema ceranae* parasitant *Apis mellifera* en Europe. Il s'agit probablement d'un phénomène généralisé dans d'autres zones géographiques.

L'action pathogène de *Nosema ceranae* sur les abeilles mellifères pourrait être la cause fondamentale du dépeuplement des ruches. *Nosema ceranae* provoque chez les abeilles mellifères étudiées une pathologie non décrite jusqu'à présent et différente de celle que produit *Nosema apis* chez cet hôte. Il y a des indices que dans les zones les plus affectées, les réinfestations sont très fréquentes en périodes de temps qui oscille entre 2 et 4 mois.

A court terme, le contrôle le plus efficace de la maladie due à *Nosema ceranae* s'obtiendra en combinant la désinfection de l'équipement à chaleur et/ou à l'acide acétique et ses dérivés avec le traitement des abeilles à la fumagilline, comme recommandé par le Bureau International des Epizooties (2004) pour la nosérose produite par *Nosema apis*.

L'auteur remercie les différentes personnes ayant participé à l'étude.