

SOMMAIRE

Numéro – **idée principale pouvant motiver la lecture**

(premier auteur et al., année ; revue ; notoriété revue)

1- **Le microbiome cuticulaire des abeilles est modifié par une exposition à des produits phytopharmaceutiques** (Reiß et al., 2023 ; *Frontiers in Microbiology* ; IF 6,06)

2- **L'apiculture face aux changements climatiques**

(Neumann et al., 2023 ; *Journal of Apicultural Research* ; IF 2,41)

3- **Il ne faut pas réutiliser les cadres issus de colonies mortes après une exposition à des produits phytopharmaceutiques** (Tokach et al., 2023 ; *Scientific Reports* ; IF 5,00)

4- **Un exemple d'adaptation hôte-pathogène du virus DWV dans des colonies férales aux USA** (Ray et al., 2023 ; *Proceedings of the Royal Society B-Biological sciences* ; IF 5,53)

5- **L'utilisation des méthodes biotechniques augmente le revenu net des apiculteurs** (Vercelli et al., 2023 ; *Insects* ; IF 3,14)

6- **L'origine des reines a un impact sur l'adaptation climatique et la santé des colonies** (Holmes et al., 2023 ; *Scientific Reports* ; IF 5,00)

7- **Malgré des mortalités moins catastrophiques, un bilan sanitaire toujours en berne aux USA** (Aurell et al., 2023 ; *Journal of Apicultural Research* ; IF 2,41)

8- **Etat des lieux des menaces émergentes et des opportunités pour l'Abeille mellifère** (Willcox et al., 2023 ; *Scientific Reports* ; IF 5,00)

9- **Des colonies indigènes tolérantes à *Varroa destructor* plébiscitées par les apiculteurs irlandais** (Smith et al., 2023 ; *Insects* ; IF 3,14)

10- **Un futur monitoring sonore des colonies orphelines ?**

(Kanelis et al., 2023 ; *Biology-Basel* ; IF 5,17)

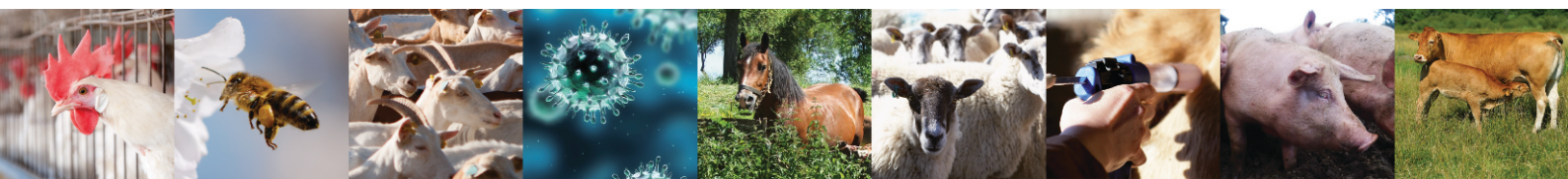
Cas clinique

Mise en évidence d'un nouveau variant du virus de la paralysie chronique (CBPV) en région AuRA (Hartnagel, 2023)

Ont collaboré à ce numéro : A. Ménage, S. Boucher, G. Therville, M. L'Hostis, S. Hoffmann & Ch. Roy

Version anglaise : A. Ménage, S. Hoffmann, Ch Roy

Attention : cette revue ne prétend pas être exhaustive et ne regroupe que des publications d'intérêts aux yeux des membres de la commission apicole SNGTV ; seules 10 publications par numéro sont ainsi retenues pour faire l'objet d'un focus.



1- Le microbiome cuticulaire des abeilles est modifié par une exposition à des produits phytopharmaceutiques

Reiß, Fabienne, Antonia Schuhmann, Leon Sohl, Markus Thamm, Ricarda Scheiner, and Matthias Noll. "Fungicides and Insecticides Can Alter the Microbial Community on the Cuticle of Honey Bees." *Frontiers in Microbiology* 14 (2023). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1271498>.

Résumé : Les abeilles mellifères sont des pollinisateurs essentiels pour nos écosystèmes, mais l'utilisation intensive de produits phytopharmaceutiques (PPP) dans l'agriculture les met en danger. Les PPP n'affectent pas seulement les espèces cibles, mais aussi les espèces non-cibles telles que l'Abeille mellifère *Apis mellifera* et son microbiome. Cette étude est la première du genre visant à caractériser l'effet des PPP sur le microbiome de la cuticule des abeilles mellifères. Nous avons choisi des PPP qui ont été fréquemment détectés dans le pain d'abeilles et nous avons étudié leurs effets sur la communauté microbienne cuticulaire des abeilles. Les effets de la spécialité fongicide Difcor® (difenoconazole), de l'insecticide Steward® (indoxacarbe), de la combinaison des deux (mélange A) d'une part, ainsi que du fongicide Cantus® Gold (boscalid et dimoxystrobine), de l'insecticide Mospilan® (acétamipride) et de la combinaison des deux (mélange B) d'autre part ont été mesurés. Pour chaque lot test, les gènes bactériens et fongiques présents sur la cuticule des abeilles ont été cherchés et quantifiés après extraction des acides nucléiques. Les résultats ont montré que le traitement avec Steward® a affecté de manière significative la composition et la fonction de la communauté fongique. Le nombre de copies de gènes fongiques était plus faible sur la cuticule des abeilles traitées au Difcor®, au Steward® et au mélange A par rapport aux témoins non exposés. Cependant, le nombre de copies de gènes bactériens et fongiques a augmenté chez les abeilles traitées avec Cantus® Gold, Mospilan® ou le mélange B par rapport aux témoins non exposés. Toutefois la composition de la communauté bactérienne cuticulaire des abeilles traitées avec Cantus® Gold, Mospilan® et le mélange B différait significativement des témoins. En outre, le Mospilan® a modifié à lui seul de manière significative la composition de la communauté fonctionnelle bactérienne. Cantus® Gold a affecté de manière significative le nombre de copies de gènes fongiques, la communauté et la composition fonctionnelle. Nos résultats démontrent que les PPP ont des effets négatifs sur le microbiome cuticulaire des abeilles mellifères et suggèrent que les mélanges de PPP peuvent avoir des effets plus importants sur la communauté cuticulaire qu'une exposition à un seul PPP. La composition de la communauté cuticulaire était plus diversifiée après les traitements à base de mélanges de PPP. Tous ces résultats peuvent avoir des conséquences pour la santé des abeilles mellifères.

Téléchargeable <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2023.1271498>

2- L'apiculture face aux changements climatiques

Neumann, Peter, and Lars Straub. "Beekeeping under Climate Change." *Journal of Apicultural Research*, 2023. <https://doi.org/10.1080/00218839.2023.2247115>.

Résumé : Il y a un consensus selon lequel le changement climatique est un des défis majeurs que devra relever l'humanité au XXI^{ème} siècle, inévitablement le plus partagé et indéniablement l'un des plus urgents. Des effets majeurs sont inévitables sur l'agriculture en général, et probablement aussi sur l'apiculture. En effet, les conditions climatiques extrêmes et les catastrophes naturelles ont déjà un impact sur *Apis mellifera*. Ainsi, il semble évident que les changements climatiques vont représenter un facteur de stress majeur pour les colonies domestiques et qu'ils vont contribuer à une augmentation des pertes de colonies et une baisse des revenus pour les apiculteurs. Nous réalisons ici une synthèse bibliographique sur l'impact du changement climatique pour les abeilles et l'apiculture. En l'état actuel des publications, il est manifeste qu'à ce jour il n'y a pas de stratégie globale qui permettrait à l'apiculture de relever les défis apportés par le changement climatique. Nous appelons ici à une telle stratégie et énumérons brièvement les principaux défis que l'apiculture devra relever en raison du changement climatique et suggérons d'éventuelles réponses. En fin de compte, l'impact du changement climatique et son atténuation sont actuellement insuffisamment compris dans un contexte apicole. Cela nécessitera des efforts concertés respectifs de la part des scientifiques, des apiculteurs et d'autres parties prenantes pour trouver un avenir durable pour l'apiculture. De tels efforts exigeront inévitablement des mesures de compensation fondées sur des données consolidées pour faire face à l'impact mondial croissant du changement climatique.

Téléchargeable <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2023.2247115>

3- Il ne faut pas réutiliser les cadres issus de colonies mortes après une exposition à des produits phytopharmaceutiques

Tokach, Rogan, Autumn Smart, and Judy Wu-Smart. "Re-Using Food Resources from Failed Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Colonies and Their Impact on Colony Queen Rearing Capacity." *Scientific Reports* 13, no. 1 (2023): 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-44037-2>.

Résumé : Depuis plus d'une décennie, les apiculteurs subissent des pertes importantes de colonies d'abeilles (*Apis mellifera* L.) en raison de divers facteurs de stress parmi lesquels des expositions aux produits phytopharmaceutiques (PPP). Certains résidus chimiques peuvent persister dans les colonies (cires et ressources alimentaires, pain de pollen et miel) qui se sont effondrées. Les apiculteurs peuvent alors être amenés à vouloir réutiliser ces cadres issus de colonies mortes pour de futures divisions et le renouvellement de leur cheptel. La pratique consistant à réutiliser des cadres construits provenant de colonies précédemment mortes (appelée "deadout") est courante en apiculture, mais ses effets sur la santé de la colonie n'est pas connu. Dans cette étude, nous évaluons l'impact des cadres réutilisés et contaminés par des PPPs sur le fonctionnement de la colonie pendant le remérage post division. Pour cela, des nucléis orphelins ont été préparés et séparés en deux groupes de traitement : (1) des nucléis recevant des cadres contenant des ressources alimentaires provenant de colonies mortes dans des ruchers considérés "propres" et (2) des nucléis recevant des cadres contenant des ressources "contaminées" provenant de colonies mortes dans des ruchers soumis à une exposition chronique aux PPPs, y compris des insecticides néonicotinoïdes (clothianidine et thiaméthoxame). Les résultats indiquent que les nucléis ayant reçu des ressources contaminées par des PPPs ont produit moins de cellules royales et une proportion plus faible de reines fonctionnelles (pondant des œufs diploïdes). Cette étude met donc en évidence les effets délétères de la réutilisation de cadres anciens provenant de colonies précédemment mortes suite à une exposition par des PPPs.

Téléchargeable <https://www.nature.com/articles/s41598-023-44037-2.pdf>

4- Un exemple d'adaptation hôte-pathogène du virus DWV dans des colonies férales aux USA

Ray, Allyson M, Emma C Gordon, Thomas D Seeley, Jason L Rasgon, and Christina M Grozinger. "Signatures of Adaptive Decreased Virulence of Deformed Wing Virus in an Isolated Population of Wild Honeybees (*Apis mellifera*)." *Proceedings of the Royal Society B*, 2023. <https://doi.org/10.1098/rspb.2023.1965>.

Résumé : Pour lutter contre les épizooties et conserver les espèces, il est essentiel de comprendre les processus écologiques et évolutifs qui déterminent les interactions entre les agents pathogènes et leurs hôtes. L'acarien *Varroa destructor* et le virus des ailes déformées (DWV) sont deux menaces synergiques pour les populations d'abeilles mellifères occidentales (*Apis mellifera*) dans le monde entier. Certaines populations distinctes d'abeilles mellifères survivent malgré les infestations à *Varroa*, y compris des colonies férales dans la forêt d'Arnot* à proximité d'Ithaca, NY, USA. Nous avons émis l'hypothèse que dans ces populations d'abeilles, le DWV a évolué vers un phénotype moins virulent, permettant à la fois la persistance des agents hôtes et des agents pathogènes. Pour investiguer cette supposition, nous avons quantifié les charges virales sur des abeilles issues de colonies de la forêt d'Arnot en parallèle avec des abeilles issues de colonies gérées par des apiculteurs. Nous avons également évalué la variation génomique et les différences de virulence entre les isolats de DWV. Dans tous les groupes, nous avons constaté que la quantité de virus était similaire, mais que les génotypes du DWV étaient distincts. Nous avons également constaté que les infections avec des isolats de la forêt d'Arnot entraînaient un taux de survie plus élevée et une fréquence moindre d'ailes déformées par rapport aux isolats analogues des colonies gérées, fournissant des preuves préliminaires à l'appui de l'hypothèse d'une diminution adaptative de la virulence virale. Dans tous les cas, cette étude à plusieurs niveaux du génotype et du phénotype d'un virus indique que le contexte écologique de l'hôte peut être un facteur significatif de l'évolution virale et des interactions hôte-pathogène chez les abeilles mellifères.

* La forêt d'Arnot est une réserve de recherche de 1651 ha située près d'Ithaca, dans l'État de New York. Depuis 1978, le professeur Thomas D. Seeley et ses collègues étudient les abeilles sauvages de la forêt. Au départ, 9 colonies d'abeilles mellifères férales ont été repérées. Un recensement effectué en 2002 a permis de trouver 8 colonies qui avaient étonnamment survécu aux infestations de *Varroa* sans intervention humaine. Les travaux de Seeley et de ses collègues ont régulièrement montré que les évolutions de ces colonies sont souvent différentes de celles que les apiculteurs auraient choisi pour elles, ce qui a soulevé la question de savoir si l'apiculture répondait aux besoins biologiques de l'abeille mellifère. (Source: <https://www.freelivingbees.com/project/arnot-forest>)

Téléchargeable <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.2023.1965>

5- L'utilisation des méthodes biotechniques augmente le revenu net des apiculteurs

Vercelli, Monica, Luca Croce, and Teresina Mancuso. "Biotechnical Control of *Varroa* in Honey Bee Colonies: A Trade-Off between Sustainable Beekeeping and Profitability?" *Insects* 14, no. 10 (2023). <https://doi.org/10.3390/insects14100830>.

Résumé : L'apiculture est confrontée à plusieurs défis, tels que l'acarien *Varroa*. Peu d'études ont mesuré les performances économiques des exploitations en fonction des pratiques utilisées pour lutter contre *Varroa*. Notre étude a comparé diverses méthodes biotechniques (retrait total du couvain ; encagement des reines ; insertion de cellules royales*) et d'autres méthodes (traitements chimiques ; utilisation de thymol) utilisées par les apiculteurs italiens pour montrer si l'adoption des mesures biotechniques conduit à la rentabilité de l'exploitation ou s'il s'agit d'un compromis nécessaire entre la durabilité et la rentabilité. Les apiculteurs ont été interrogés sur les méthodes et les opérations menées dans leurs exploitations. Les revenus nets (RN) des exploitations ont été calculés et des comparaisons entre les exploitations et au sein de celles-ci ont été effectuées. Un schéma détaillé de chaque pratique a été conçu. Le revenu net dérivé du retrait total de couvain était le plus élevé dans huit des neuf études de cas, suivi de l'insertion de cellules royales, puis de l'encagement des reines. Le RN calculé pour les exploitations utilisant les traitements chimiques était inférieur à celui des exploitations utilisant d'autres méthodes dans deux des études de cas. Nous avons également analysé différentes méthodes biotechniques appliquées par une même exploitation et avons constaté que le RN résultant du retrait total de couvain était plus élevé que celui obtenu par l'utilisation de l'encagement et de l'insertion des reines. Notre étude suggère que l'utilisation de méthodes biotechniques représente une solution durable à long terme pour réduire le niveau d'infestation par *Varroa*, qui affecte le revenu net de l'exploitation.

* Dans ces trois cas, il s'agit de mesures appliquées fin juin-début juillet suivi d'un traitement par acide oxalique sur colonies sans couvain. Pour le cas de l'insertion des reines, la colonie est orphelinée en juillet puis traitée une fois la nouvelle reine acceptée et fécondée.

Téléchargeable <https://www.mdpi.com/2075-4450/14/10/830/pdf?version=1698040593>

6- L'origine des reines a un impact sur l'adaptation climatique et la santé des colonies

Holmes, L A, L P Ovinge, J D Kearns, A Ibrahim, P Wolf Veiga, M M Guarna, S F Pernal, and S E Hoover. "Queen Quality, Performance, and Winter Survival of Imported and Domestic Honey Bee Queen Stocks." *Scientific Reports* 13, no. 1 (2023): 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-44298-x>.

Résumé : Au cours de la dernière décennie, les apiculteurs canadiens ont été confrontés à une forte mortalité des colonies chaque hiver. Citant fréquemment la "mauvaise qualité des reines" comme l'un des principaux facteurs contribuant à la perte des colonies, les apiculteurs canadiens déclarent devoir remplacer la moitié de leurs reines chaque année. La production de reines existe dans tout le Canada, mais elle est limitée en raison de la courte saison et peut l'être encore plus lorsque la mortalité des colonies est élevée. Par conséquent, les apiculteurs canadiens importent plus de 260 000 reines par an, principalement en provenance de pays au climat plus chaud. Dans cette étude, des reines importées d'Hawaï (États-Unis) et de Nouvelle-Zélande, fécondées récemment, ont été comparées à des reines canadiennes produites en Colombie-Britannique ; ces lots ont été évalués en fonction de leurs caractéristiques morphologiques et du stockage de sperme de leurs reines. La qualité de ces reines a également été évaluée sur le terrain en deux endroits de l'Alberta, au Canada, au cours de deux saisons de production. Nos résultats montrent une variation initiale des caractères morphologiques et de la fertilité des reines parmi les lots de reines importés et nationaux. Le plus frappant est que les reines de Nouvelle-Zélande pesaient respectivement 10 à 13 % de moins que les reines d'Hawaï et de Colombie-Britannique à leur arrivée. Les performances des colonies au cours de l'étude de terrain de deux ans suggèrent que : 1) la qualité du couvain a une corrélation positive non linéaire avec la production de miel, indépendamment du sous-groupe des reines et de l'environnement ; 2) l'environnement (c.-à-d. l'emplacement du rucher) et l'origine des reines ont un effet positif sur la production de miel ; l'emplacement du rucher semblant être un meilleur prédicteur de la santé et de la productivité de la colonie que l'origine des reines la première année, mais inversement pour la seconde année ; 3) la prévalence accrue de couvains en mosaïque observée sur les colonies issues de reines Néo-Zélandaises pourrait s'expliquer par une sensibilité accrue de ces dernières à l'ascosphérose ; 4) les reines locales ont 25 % plus de chances que les reines importées de survivre à l'hiver dans l'Alberta. Par conséquent, il est important de prendre en compte les éventuels décalages dans l'immunité contre les maladies et le conditionnement climatique des stocks de reines importées à la tête de colonies dans des régions tempérées qui sont confrontées à des climats saisonniers et à des dynamiques écologiques des maladies radicalement différents.

Téléchargeable <https://www.nature.com/articles/s41598-023-44298-x.pdf>

7- Malgré des mortalités moins catastrophiques, un bilan sanitaire toujours en berne aux USA

Aurell, Dan, Selina Bruckner, Mikayla Wilson, Nathalie Steinhauer, and Geoffrey R Williams. "A National Survey of Managed Honey Bee Colony Losses in the USA: Results from the Bee Informed Partnership for 2020–21 and 2021–22." *Journal of Apicultural Research*, 2023. <https://doi.org/10.1080/00218839.2023.2264601>.

Résumé : Ces dernières années, des pertes importantes de colonies d'abeilles mellifères occidentales (*Apis mellifera*) ont été signalées aux États-Unis. Ces dernières étant importantes pour les systèmes agricoles, il est essentiel de documenter les moments où les pertes élevées se produisent et d'explorer les scénarios de pertes parmi les sous-groupes d'apiculteurs. Nous avons utilisé un questionnaire rétrospectif volontaire envoyé aux apiculteurs américains (de loisir, pluri-actifs et professionnels) les interrogeant sur la perte de leurs colonies au cours des saisons apicoles 2020-21 et 2021-22. Nous avons constaté que les apiculteurs américains ont perdu 50,8 % (38,0-63,1 ; 95 % IC) de leurs colonies en 2020-21, soit la perte annuelle la plus élevée signalée à ce jour. Au cours de l'année suivante, 2021-22, les apiculteurs ont perdu 39,0 % (31,5-47,9 ; à 95 % IC) de leurs colonies, ce qui est proche de la moyenne des taux de perte annuels publiés précédemment (40,0-47,9 ; à 95 % IC). Contrairement aux années précédentes, les apiculteurs de loisir (gérant 50 colonies ou moins) ont eu une perte estivale élevée au cours des deux années et les apiculteurs professionnels (gérant plus de 500 colonies) ont eu une perte estivale élevée durant l'année 2021. Les apiculteurs professionnels ont déclaré que les "conditions météorologiques" étaient une cause importante de la perte de colonies au cours de l'été. Nos résultats montrent que des pertes importantes de colonies se produisent encore périodiquement. D'après ces données, il ne semble pas que la santé des colonies d'abeilles mellifères aux États-Unis se soit améliorée depuis le début de l'enquête en 2008. Nous suggérons que la recherche continue à se concentrer sur les facteurs de stress que les apiculteurs perçoivent le plus souvent comme les principales causes de perte, à savoir *Varroa destructor*, les problèmes de reine et les conditions météorologiques.

Téléchargeable <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2023.2264601>

8- Etat des lieux des menaces émergentes et des opportunités pour l'Abeille mellifère

Willcox, Bryony K, Simon G Potts, Mark J F Brown, Anne Alix, Yahya Al Nagggar, Marie-Pierre Chauzat, Cecilia Costa, et al. "Emerging Threats and Opportunities to Managed Bee Species in European Agricultural Systems: A Horizon Scan." *Scientific Reports* 13, no. 1 (2023): 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45279-w>.

Résumé : Les abeilles mellifères fournissent des services de pollinisation essentiels qui contribuent à la sécurité alimentaire dans le monde. Cependant, elles sont confrontées à un large éventail de menaces et les anticiper, ainsi que trouver des opportunités pour en réduire les risques, est essentiel pour une gestion durable des services de pollinisation. Nous avons mené un exercice d'analyse prospective avec 20 experts de toute l'Europe pour identifier les menaces et les opportunités pour les abeilles mellifères dans les systèmes agricoles européens. De 63 menaces identifiées, cette liste a été réduite à 21 par le processus d'analyse prospective. Elles vont de la gestion locale au niveau du paysage aux questions géopolitiques à l'échelle continentale et mondiale. Elles peuvent être classées au sein de sept grands thèmes : produits phytopharmaceutiques et polluants, technologie, techniques apicoles, prédateurs et parasites, facteurs de stress environnementaux, modification des cultures et influences politiques et commerciales. Si cette analyse a été menée en Europe, les opportunités et les menaces identifiées sont probablement pertinentes dans d'autres régions. De nouvelles recherches et de nouvelles politiques, centrées principalement sur les problèmes mis en haut du classement seront nécessaires pour maximiser l'utilité de ces opportunités et minimiser les menaces pour maintenir une apiculture saine et durable au sein des systèmes agricoles.

Téléchargeable <https://www.nature.com/articles/s41598-023-45279-w.pdf>

9- Des colonies indigènes tolérantes à *Varroa destructor* plébiscitées par les apiculteurs irlandais

Smith, Stephen, Arriago Moro, and Grace P McCormack. "Exploring a Potential Avenue for Beekeeping in Ireland: Safeguarding Locally Adapted Honeybees for Breeding *Varroa*-Resistant Lines." *Insects* 14, no. 10 (2023). <https://doi.org/10.3390/insects14100827>.

Résumé : L'apiculture irlandaise a été fortement affectée par l'acarien parasite *Varroa destructor*, dont l'introduction a provoqué des pertes alarmantes de colonies d'abeilles. Si elles ne sont pas atténuées, ces pertes pourraient entraîner la disparition de la sous-espèce indigène d'abeilles, *Apis mellifera mellifera*, ce qui aurait de graves conséquences pour la biodiversité locale. Bien que les apiculteurs jouent un rôle essentiel dans l'atténuation de cette crise, l'apiculture en Irlande est moins intensive que dans d'autres régions d'Europe et manque d'infrastructures ou de soutien importants. Ces circonstances offrent une opportunité unique pour le développement de programmes nationaux qui promeuvent des pratiques apicoles durables pour le contrôle du *Varroa*. Notamment, des témoignages locaux font état d'un nombre croissant d'apiculteurs gérant avec succès des colonies en l'absence de traitements, ce qui indique une voie potentielle pour le développement de cheptels résistants au *Varroa* par le biais de la sélection de colonies locales. Par le biais d'une enquête, nous avons évalué les opinions et les attitudes des apiculteurs à l'égard de futurs projets nationaux axés sur le développement de pratiques apicoles durables et la sélection pour la résistance au *Varroa*. Les résultats confirment le caractère amateur des apiculteurs irlandais et leur préférence pour l'abeille locale. Certains apiculteurs ont indiqué qu'ils contrôlaient efficacement le *Varroa* sans traitement, avec des taux de survie comparables à ceux des apiculteurs utilisant des traitements. La majorité a exprimé sa préférence pour une lignée résistante au *Varroa* si elle était d'origine indigène ; quelques-uns étaient ouverts à l'importation de lignées non irlandaises. Dans l'ensemble, une forte volonté de participer à un programme national de sélection a été exprimée. Ces résultats mettent en évidence l'opportunité pour l'Irlande d'établir une stratégie communautaire basée sur des pratiques apicoles durables pour sauvegarder les abeilles mellifères indigènes et la biodiversité locale.

Téléchargeable <https://www.mdpi.com/2075-4450/14/10/827/pdf?version=1697804940>

10- Un futur monitoring sonore des colonies orphelines ?

Kanelis, Dimitrios, Vasilios Liolios, Fotini Papadopoulou, Maria-Anna Rodopoulou, Dimitrios Kampelopoulos, Kostas Siozios, and Chrysoula Tananaki. "Decoding the Behavior of a Queenless Colony Using Sound Signals." *Biology* 12, no. 11 (2023). <https://doi.org/10.3390/biology12111392>.

Résumé : Les abeilles mellifères seraient les pollinisateurs les plus importants pour les cultures agricoles et horticoles. Cependant, leur déclin généralisé a suscité une grande attention sur la nécessité de surveiller leur activité afin d'identifier les causes de dépérissement et de mettre en œuvre des contre-mesures. L'enregistrement et l'analyse des signaux utilisés par les abeilles pour leur communication dans la ruche peuvent être un outil très utile pour les apiculteurs pour le contrôle à distance des colonies. Dans la présente étude, nous avons utilisé un ensemble de données d'enregistrement sonore effectuées à l'intérieur des ruches pour détecter automatiquement les sons émis par les abeilles sur une certaine période, en vue de distinguer les états « reine présente » et « orpheline » / « reine absente », et pour trouver les changements apparaissant graduellement dans les colonies orphelines. Contrairement à ce que l'on croyait généralement, des changements notables dans les signaux sonores de toutes les colonies orphelinées ont été observés une heure seulement après le retrait de la reine, tandis que les signaux sonores se sont intensifiés sur une période de 5 h, après quoi le signal transmis s'est stabilisé à l'équivalent du niveau de l'état « orphelin ». Les colonies semblaient revenir à une émission de sons « normaux » 9 à 10 jours après la réintroduction des reines dans les ruches. Notre étude a conclu qu'une détection rapide de l'absence de la reine combinée à l'intervention immédiate de l'apiculteur peut être un facteur déterminant pour atténuer les effets néfastes de la perte de la reine.

Téléchargeable <https://www.mdpi.com/2079-7737/12/11/1392/pdf?version=1698808057>

Mise en évidence d'un nouveau variant du virus de la paralysie chronique (CBPV) en région Auvergne-Rhône-Alpes

Olivier Hartnagel

DMV, DIE Pathologie apicole, 20 Rue Saint-Exupéry, 01160 Pont-d'Ain, France

✉ olivierhartnagel@club-internet.fr

RESUME

Un cas de mortalité massive aiguë d'abeilles adultes concernant trois colonies d'un rucher est investigué suite à une déclaration à l'OMAA AuRA¹. L'hypothèse première est celle d'une intoxication. Cependant, l'enquête environnementale ainsi que les analyses toxicologiques réalisées sur les abeilles mortes prélevées permettent d'exclure cette hypothèse. Dans un premier temps des analyses virologiques par PCR portant sur quatre virus (ABPV, CBPV, DWV-A, DWV-B) mettent en évidence une charge virale importante pour le seul virus DWV-B. Ce résultat ne permet pas d'expliquer le tableau clinique plutôt compatible avec une forme de paralysie chronique (virus CBPV), pourtant écartée par la PCR. Une expertise auprès du Laboratoire National de Référence santé des abeilles de l'Anses confirme les premiers résultats d'analyses virologiques obtenus par la méthode de référence. Une nouvelle analyse PCR, ciblant une autre région du génome de ce virus, permet alors d'identifier une charge virale en CBPV très élevée, en corrélation avec les troubles cliniques observés. Le virus identifié s'avère être un nouveau variant du CBPV.

Intérêt du cas clinique :

Ce cas clinique permet de montrer l'importance dominante de l'examen clinique et des enquêtes de terrain sur les résultats d'exams complémentaires. Il met aussi en avant la nécessaire collaboration entre les vétérinaires cliniciens et les personnels des laboratoires. Ce cas a aussi fait évoluer une méthode d'analyse utilisée en routine par les laboratoires agréés qui intègre désormais ce nouveau variant du virus CBPV.

Présentation du cas clinique

Anamnèse et commémoratifs :

Un apiculteur du Bas Bugéy (01) contacte le guichet unique de l'OMAA AuRA le 25 mai 2021 afin de déclarer un épisode brutal de mortalité d'abeilles. Le rucher est constitué de 10 ruches Dadant 10 cadres, en ligne (**Photo 1**), situé dans un environnement plutôt préservé (prairies, truffière, quelques vignes en production biologique, bois). L'exposition est jugée satisfaisante. Les colonies y ont été transhumées depuis 20 jours, afin de préparer une miellée d'acacia et aucun trouble n'a été observé les années précédentes.

Les conditions climatiques du mois de mai ont été très pluvieuses et venteuses, imposant un confinement forcé à ces colonies très populeuses. Le printemps a été globalement peu favorable au butinage, les ressources alimentaires ayant été limitées par un épisode de gel d'avril. Les abeilles sont de type hybrides Buckfast, les reines sont âgées de deux à trois ans.

L'apiculteur possède une expérience de 30 ans en apiculture et ses pratiques apicoles sont dans l'ensemble bonnes. La conduite du rucher est classique pour la région et ce type d'apiculture de loisir. Des nourrissements sont systématiquement pratiqués en hiver (candi) et au

printemps (sirop 50/50 au besoin). Une gestion du parasite *Varroa destructor* est en place mais semble améliorable : absence de mesures biotechniques, utilisation de lanières à base d'amitrazé APIVAR®, posées assez tardivement début septembre, laissées en place jusqu'à fin décembre, avec un repositionnement en milieu de traitement. Puis pose de nouvelles lanières APIVAR® de fin décembre jusqu'en mars. Des langes sont posés pour évaluer les chutes naturelles de *Varroa* mais aucun comptage précis n'est réalisé.

La dernière visite avant observation de l'anomalie date du 15 mai 2021 ; à l'ouverture des ruches, les colonies semblaient en forme, mis à part un déficit de réserves lié aux conditions météorologiques des dernières semaines.

Les troubles ont été constatés le 18 mai 2021 : sur les trois premières colonies de l'alignement, l'apiculteur observe des tapis d'abeilles devant et au fond des ruches (quantité estimée à plus d'un litre d'abeilles), tapis qu'il photographie (**Photo 2**). Les abeilles mortes sont retirées et un réducteur d'entrée est placé sur les ruches touchées pour limiter le pillage.

La déclaration a lieu sept jours plus tard (25 mai 2021) à l'OMAA AuRA. Elle est classée comme suspicion de Mortalité Massive Aiguë d'Abeilles Adultes (MMAA²) et la Direction Départementale de la Protection des Populations du département de l'Ain (DDPP 01), ainsi que le Service Régional de l'Alimentation (SRAI) reçoivent une copie de la

Relecture:

Agnes Ménage

Monique L'Hostis

Christophe Roy

Sébastien Hoffmann

Mise en page:

Sébastien Hoffmann

Date de publication:

15/11/2023

1. Observatoire des mortalités et des affaiblissements des abeilles de la région Auvergne Rhône Alpes.

2. Une colonie est considérée victime de mortalité massive aiguë d'abeilles adultes (MMAA) lorsque, brutalement et sur une période inférieure à 15 jours, des abeilles adultes sont retrouvées mortes ou moribondes sous forme d'un tapis devant ou dans la ruche (volume d'abeilles touchées supérieur à un litre) ou que la colonie est victime de dépopulation (hors essaimage), c'est à dire qu'il y a disparition d'une grande partie des abeilles adultes avec présence dans la ruche d'une population très réduite d'abeilles avec présence de couvain, de réserves de miel et de pollen en quantité. Un rucher est considéré comme atteint d'une mortalité massive aiguë d'abeilles adultes lorsque, brutalement et sur une période inférieure à 15 jours : au moins 20 % des colonies ou au moins 1 colonie lorsque le rucher en compte 2 à 5 ou 2 lorsqu'il en compte 6 à 10 sont atteintes de mortalité massive aiguë. (Instruction technique DGAL/SASPP/2018-444 publiée le 12/06/2018)



Photo 1 : vue d'ensemble du rucher et de son environnement proche

déclaration. Le lendemain matin, une investigation est réalisée par le vétérinaire mandaté, suivie le surlendemain par une visite du rucher et une enquête environnementale par l'agent assermenté du SRAI.

Examen clinique :

La visite du rucher par le vétérinaire débute par l'examen des colonies asymptomatiques : hormis des réserves faibles au niveau des cadres de rive, un examen attentif ne révèle pas d'anomalies

Les colonies symptomatiques sont ensuite examinées : il reste des cadavres d'abeilles devant les ruches (malgré leur collecte récente par l'apiculteur) sans anomalies morphologiques apparentes. A l'ouverture, les populations sont faibles, les abeilles ont un comportement normal ; les cadres de rive contiennent peu, voire pas de réserves. Une des trois colonies présente des signes de famine (abeilles

mortes la tête dans l'alvéole). Les reines sont visualisées : deux sont en ponte, avec présence d'un peu de couvain ouvert ; la troisième reine est en arrêt de ponte. Il y a très peu de couvain operculé, et celui-ci présente quelques opercules percés et affaissés. Quelques cellules sont désoperculées : de rares nymphes sont mortes, sans anomalies morphologiques décelées. De même, des nymphes encore vivantes observées après désoperculation ne présentent pas d'anomalies morphologiques (notamment au niveau des ailes).

Hypothèses diagnostiques :

Les signes cliniques pourraient être expliqués par :

- 1) un épisode de famine avéré pouvant être à lui seul responsable des mortalités ou être co-facteur de ces dernières par affaiblissement des colonies.



Photo 2 : tapis d'abeilles mortes photographiés par l'apiculteur le 18 Mai 2021

2) une possible surrgravation des mortalités par une virose à CBPV (Chronic Bee Paralysis Virus) concomittente.

3) une exposition à des substances chimiques potentiellement toxiques, même si l'environnement semble peu à risque.

Examens complémentaires

Estimation au rucher de la charge parasitaire à *Varroa destructor* par trois techniques :

Conformément au cahier des charges d'OMAA relatif aux investigations, une estimation de la charge parasitaire à *Varroa* est d'abord réalisée. Dans un premier temps, environ 90 cellules de couvain sont désoperculées afin de rechercher la présence de *Varroa* : un seul est identifié. Un prélèvement de 300 abeilles mortes récoltées devant une des ruches ne met pas en évidence de *Varroa* après un lavage à l'alcool. Des prélèvements d'abeilles vivantes sur quatre colonies révèlent après lavage à l'alcool la présence d'un *Varroa* pour 100 abeilles (colonie asymptomatique) et aucun *Varroa* sur les trois autres (une symptomatique et deux asymptomatiques).

Prélèvements d'échantillons :

Des échantillons d'abeilles mortes sont récoltés devant les ruches (deux échantillons), ainsi que des abeilles vivantes asymptomatiques issues de la troisième colonie atteinte.

Analyses demandées et résultats :

Des analyses toxicologiques ont été effectuées sur un échantillon d'abeilles mortes prélevé le jour de l'investigation et envoyé au Laboratoire Primoris³. Un échantillon d'abeilles mortes est également envoyé au Laboratoire Départemental d'Analyse du Jura⁴ (LDA39) pour un examen virologique. La quantification des génomes des virus ABPV (Acute Bee Paralysis Virus), CBPV (Chronic Bee Paralysis Virus), DWV-A et DWV-B (Deformed Wing Virus) est obtenue par la technique RT-PCR.

Interprétation des résultats d'analyse :

Concernant les recherches de résidus chimiques dans les abeilles mortes, aucun résidu n'est détecté sur 450 molécules testées par les deux méthodes analytiques classiquement utilisées par le laboratoire, semblant exclure une hypothèse toxique. Ceci est corrélé avec l'enquête environnementale de l'agent du SRAI qui n'a pas mis en évidence de facteurs de risque particulier évocateur d'une exposition récente à des xénobiotiques environnementaux

d'origine agricole.

Concernant la recherche de virus, le génome du DWV-B est détecté à une charge virale évocatrice d'une infection

Tableau 1: Résultats d'analyses virologiques laboratoire Primoris

ARN des virus recherchés (sur 10 abeilles)	ABPV	CBPV	DWV-A	DWV-B
Nombre de copies du génome viral/abeille)	Détecté < 2,5.10 ⁴	Détecté < 8.10 ³	Non détecté	Détecté > 10 ¹⁰
Résultat log10	< 4,39	< 3,9	< LD	> 10

LD⁵ et LQ⁵ non disponibles

déclarée (**Tableau 1**). Ce virus n'est cependant pas connu pour entraîner des mortalités massives aiguës telles qu'observées sur ce rucher. Les quantités de génomes viraux pour l'ABPV et le CBPV retrouvées dans les cadavres d'abeilles mortes sont inférieures aux seuils considérés comme compatibles avec l'apparition de signes cliniques.

Pourtant, les facteurs de stress météorologiques du mois de mai, ainsi que la mortalité massive aiguë évoquent fortement une hypothèse d'infection par le CBPV, même en l'absence d'observation d'anomalies morphologiques ou neurologiques des abeilles (absence d'abeilles noires ou tremblantes notamment). Cet écart entre les résultats d'analyses obtenus et le tableau clinique fortement évocateur de cette virose a motivé une demande d'expertise complémentaire auprès du Laboratoire National de Référence (LNR) santé des Abeilles de l'Anses de Sophia Antipolis⁶.

Le LNR confirme d'abord les résultats du LDA39 par la méthode officielle (analyse qRT-PCR sur une partie de l'ARN1) : celui-ci est de 3,4 log 10. (**Tableau 2**)

Une seconde analyse en qRT-PCR ciblant une autre région du génome du virus CBPV (sur le brin d'ARN2) permet, elle, de détecter un variant du virus CBPV, avec une charge virale évocatrice d'une infection déclarée (7,7 log 10).

Tableau 2: Résultats d'analyses virologiques laboratoire Anses

qRT-PCR CBPV (sur 10 abeilles)	Amorce ARN1	Amorce ARN2
Résultats (nombre de copies du génome viral/abeille en log 10)	Détecté 3,4 (indicatif)	Détecté 7,7

(LD = 3,9 ; LQ=3,9)

3. Primoris France - 32, avenue du 21 août 1944, 45270 Bellegarde France

4. LDA39 - 59 rue du Vieil Hôpital - BP 40135 - 39802 POLIGNY Cedex 2

5. LD : limite de détection ; LQ : limite de quantification

6. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail - Laboratoire de Sophia Antipolis

Le résultat des analyses virologiques complémentaires confirme le rôle majeur du virus CBPV auquel on peut imputer un rôle dans les troubles observés.

Traitement

Le lendemain de l'observation du phénomène de mortalité massive par l'apiculteur, après retrait des abeilles mortes et mise en place de réducteurs d'entrée sur les ruches symptomatiques, la mortalité n'a plus été observée. L'activité des abeilles a repris, sans anomalie apparente. Les trois colonies atteintes ont été laissées à leur place, même si l'on aurait pu craindre un phénomène de contagion par dérive ou par pillage. Le vétérinaire n'a pas observé d'extension des signes cliniques aux autres colonies lors de sa visite sept jours après les premiers troubles observés.

Concernant les trois colonies atteintes, il a été conseillé de les resserrer et de les partitionner, de continuer le nourrissage glucidique et de prévoir une complémentation en pollen. Pour la colonie la plus faible, outre la surveillance de la reprise de ponte de la reine, l'ajout d'un ou deux cadres de couvain avec des abeilles a été proposé afin de l'aider à redémarrer. Les reines des colonies impactées par le CBPV pouvant être porteuses d'une charge virale importante et contaminer leur descendance, un changement de reines a été conseillé.

Il est ici également vivement recommandé de revoir la gestion du *Varroa* ; en effet, la forte prévalence du virus DWV-B est évocatrice d'une charge préexistante importante du parasite.

Le traitement antiparasitaire doit être raisonné (estimation de la charge parasitaire avant, pendant et après traitement), appliqué précocement sitôt la dernière miellée, et un traitement hors couvain hivernal avec un médicament à base d'acide oxalique est conseillé. L'utilisation de lanières à base d'amitrazé deux fois de suite dans l'année est quant à elle fortement déconseillée afin de limiter le risque d'apparition de résistances et la contamination des produits apicoles. De plus, les temps de pose doivent respecter le résumé des caractéristiques du produit (RCP).

Suivi et devenir du cas

L'apiculteur a été recontacté et aucune anomalie n'a été constatée sur les autres colonies. La miellée d'acacia, même si elle a été faible, a permis aux colonies de se renforcer.

Discussion

Face à cet épisode de mortalité brutale, l'apiculteur a eu le bon réflexe de contacter l'OMAA. Même si dans ce cas, le contexte environnemental était peu en faveur d'une

intoxication, il importe de sensibiliser les apiculteurs à déclarer le plus tôt possible leurs observations afin qu'un vétérinaire mandaté puisse examiner les colonies et effectuer les prélèvements de matrices apicoles à des fins d'analyse éventuelles.

Le délai de sept jours entre l'observation des signes cliniques et sa déclaration aurait pu induire un biais dans la recherche de toxiques éventuels du fait d'une dégradation rapide de ces derniers dans l'environnement.

Dans le cas exposé, les résultats des analyses virologiques sont fortement positifs concernant le DWV-B et mettent également en évidence une charge virale élevée compatible avec une affection clinique à CBPV. Pour une meilleure connaissance de l'état de santé du cheptel, il aurait été intéressant de quantifier la charge virale en DWV sur les colonies asymptomatiques afin d'affiner les éventuels facteurs favorisants.

Le manque de réserves observé au sein des colonies symptomatiques a probablement représenté un co-facteur conduisant à une baisse d'immunité individuelle et collective.

Les dangers biologiques auraient pu être plus largement investigués, avec notamment une recherche d'acarapodose, de nosérose et des viroses du complexe ABPV/KBV/IAPV. En effet la présence d'autres co-infections pourraient expliquer la nature suraiguë des troubles. Dans ce cas, la co-infection avec le DWV-B pourrait déjà être un élément allant dans ce sens, par la baisse d'immunité de la colonie qu'elle est susceptible d'induire.

Le virus DWV

La virose à DWV s'exprime lorsque les titres sont très élevés, par une déformation des ailes au cours du développement des nymphes, aboutissant à des adultes inaptes au vol après l'émergence. Chez les abeilles infectées à l'état adulte, l'expression des signes cliniques dépend dans une large mesure de la manière dont l'abeille est infectée. Si la transmission s'effectue de manière horizontale (par trophallaxie ou cannibalisme, ou par le nettoyage ou les sécrétions des glandes salivaires) l'infection reste majoritairement asymptomatique[7]. Mais lorsque le virus est inoculé par le parasite *Varroa* (qui le multiplie), l'immunodépression induite peut favoriser l'apparition de formes cliniques d'autres maladies, comme c'est peut-être le cas ici.

Après un traitement contre *Varroa*, la charge virale diminue dans les nymphes d'abeilles, puis elle augmente à nouveau progressivement (réplication virale possible dans les corps gras des abeilles d'hiver)[7]. Ceci pourrait expliquer dans notre cas des comptages en *Varroa* phorétiques faibles, témoignant de l'efficacité du traitement, mais des charges en DWV très élevées, l'infection subclinique persistant après l'élimination du *Varroa*. Le traitement trop tardif contre le

Varroa est potentiellement une cause de persistance de l'infection virale dans les abeilles d'hiver.

Le génotype B du DWV s'avère davantage virulent que le génotype A, en raison de sa plus grande transmissibilité notamment après sa réplication dans les *Varroa*. Ce génotype, répandu dans le monde entier remplace progressivement le génotype A en Europe et contribue à augmenter les pertes de colonies d'abeilles (mortalités hivernales principalement)[8].

Le virus de la paralysie chronique CBPV

Le CBPV est un virus responsable d'une maladie appelée paralysie chronique des abeilles, maladie noire, « mal de mai » ou encore « mal des forêts » par les apiculteurs.

La distribution de cette maladie est mondiale, avec des incidences plus importantes en Asie, Europe, et Amérique du Nord. Une étude réalisée en Angleterre[3] a permis d'observer que les cas sont regroupés spatialement au cours de la plupart des années (ce qui suggère une propagation locale), mais pas entre les années (ce qui suggère une disparition de la maladie avec réintroductions périodiques). Les principaux facteurs de risque identifiés sont d'une part les pratiques apicoles (notamment le déplacement des colonies, la concentration des colonies, l'utilisation de trappes à pollen), et d'autre part l'histoire des importations (en particulier de reines potentiellement porteuses du virus, ou d'abeilles potentiellement plus sensibles aux souches de CBPV auxquelles elles n'étaient pas exposées dans leur pays d'origine).

Les cas d'infections aiguës au CBPV se manifestent sous la forme de deux syndromes possibles : une forme entraînant des modifications morphologiques des individus atteints (absence de poils, individus noirs et abdomen raccourci) et une forme neurologique, avec de la paralysie, une incapacité à voler et de la mortalité, parfois chronique, parfois très aiguë, mimant une intoxication. Les deux syndromes peuvent coexister.

Le CBPV s'avère avoir un neurotropisme : la moitié des copies du génome de CBPV d'une abeille infectée se trouve dans les neurones du cerveau impliqués dans la locomotion, l'apprentissage et l'orientation.

La contamination entre les abeilles se fait par trophallaxie, ou de manière oro-fécale *via* les fèces de congénères contaminés (la charge virale dans les fèces d'abeilles contaminées étant aussi élevée que dans les têtes d'abeilles infectées). Elle est également possible *via* l'ingestion de poils d'abeilles infectées (leurs congénères leur coupant les poils avec les mandibules, d'où l'aspect noir du thorax et de l'abdomen)[3;5]. Les abeilles infectées peuvent être porteuses du virus répliquant jusqu'à six jours avant de présenter des signes cliniques, permettant durant ce temps la contamination d'autres abeilles et d'autres colonies (par pillage ou dérive).

Les facteurs favorisants généralement décrits pour le passage d'une forme subclinique à une forme clinique sont de plusieurs ordres : mauvaises conditions météorologiques (confinement), manque de nectar, famine, manque de diversité pollinique (carences en certains acides aminés essentiels), densité élevée d'abeilles dans les ruches, présence de trappes à pollen, expositions à des produits phytopharmaceutiques (PPP) et co-infections : parasites (*V. destructor*), virus ou *Vairimorpha (Nosema) spp.* (la diarrhée parfois induite augmente les risques de contamination entre individus).

Concernant les co-infections, une charge massive en *Varroa* (et ses virus associés) ou en *Vairimorpha spp.* sont des facteurs prédisposant à la réplication du virus dans les abeilles et donc au passage d'infections cliniques par altération des mécanismes de défense anti-viraux[3;5].

Il aurait été ici intéressant de quantifier les spores de *Vairimorpha spp.* Un effet synergique entre ces deux agents pathogènes a été montré lors d'infections expérimentales. Une inoculation *per os* et trans-cuticulaire de particules virales a permis d'observer une meilleure réplication virale du CBPV au sein des abeilles et la co-infection par les ouvrières atteintes de CBPV et de *Vairimorpha ceranae* par l'une ou l'autre méthode d'inoculation virale a montré une augmentation de la capacité de réplication du CBPV. Ces observations suggèrent qu'une infection simultanée par le CBPV et *V. ceranae* est marquée par une mortalité plus importante d'abeilles et peut expliquer le déclenchement des signes cliniques au sein des colonies mais également entre celles-ci[10].

De même, l'exposition des abeilles à différents PPP (dont les néonicotinoïdes) augmente la sensibilité des colonies d'abeilles aux infections par *Vairimorpha spp.* Concernant la co-exposition du virus CBPV et de certains PPP, il a été montré que le niveau d'expression des gènes immunitaires et les mécanismes du métabolisme d'élimination des PPP sont diminués lors d'une exposition chronique au thiamethoxam, alors que les charges virales en CBPV sont augmentées.[4] Ainsi le thiamethoxam étant rapidement métabolisé en clothianidine, cette dernière impacte les récepteurs à l'acétylcholine des insectes et inhibe le système immunitaire, pouvant favoriser la réplication virale. Dans notre cas, la piste toxicologique a été écartée par l'étude environnementale et les analyses de laboratoire. Il n'existe aucun médicament contre le CBPV mais des mesures sanitaires permettant d'atténuer les signes cliniques existent : nourrissage stimulant, changement de reine, gestion du *Varroa*, retrait des portes et des trappes à pollen et parfois transvasement. La phase clinique du cas présenté a été très brève et s'est spontanément résolue, probablement par amélioration des conditions météorologiques et de la disponibilité en nectar d'acacia, mais peut-être aussi par une mise en place possible de mécanismes de défense.

Les mécanismes de défense de l'abeille

L'expression des maladies virales dépend aussi de la réponse immunitaire des abeilles : synthèse de vitellogénine, d'ARN interférant qui représente la principale défense anti-virale, production de peptides antimicrobiens (défensine, immunité de type humorale), mélanisation (barrière mélanique physique), immunité acquise (*via* le transfert de segments d'ARN viraux par la gelée royale) sans oublier le rôle important de l'immunité sociale (adaptation comportementale avec dépistage et destruction du couvain malade ou d'individus malades, réduction des comportements de trophallaxie, diminution des interactions, refoulement des abeilles malades (par les gardiennes), et fabrication de propolis...[6] Les connaissances actuelles sur l'immunité antivirale des abeilles permettent de comprendre certaines interactions entre des virus pathogènes spécifiques et leurs interactions avec leur hôte.

Les virus peuvent interagir indirectement par leurs effets sur la physiologie, le comportement ou les réponses immunitaires de l'hôte[6].

Le diagnostic de laboratoire des infections virales

Le virus CBPV est un virus à ARN simple brin positif. Son génome est composé de 2 ARN principaux : ARN 1 (3674 nucléotides), codant pour des protéines non structurales, et ARN2 (2305 nucléotides), codant pour des protéines structurales.

La méthode officielle qRT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction en temps réel, aussi appelée quantitative) permet de quantifier le génome viral présent dans le corps des abeilles. Cette méthode a permis de montrer que lors d'infection virale par le CBPV les charges virales sont significativement plus élevées chez les abeilles gardiennes, les abeilles symptomatiques et les abeilles mortes[2]. Une corrélation entre la charge génomique élevée et l'expression clinique a permis de valider une méthode de PCR quantitative depuis 2007. Cette méthode est devenue la norme officielle des laboratoires agréés, sous l'égide du Laboratoire de Référence de l'Union Européenne pour la santé des Abeilles (ANSES Sophia Antipolis)[1;9]. Des seuils de quantification de la charge virale permettent soit d'exclure la présence de virus ou sa présence en quantité non significative, soit de valider une charge en génome viral proche du seuil associé à un tableau clinique (infection subclinique), soit de détecter le génome viral à une charge évocatrice d'une infection clinique[1;9]. Ainsi, les signes cliniques de la paralysie chronique sont généralement associés à un seuil supérieur ou égal à 10^8 copies du génome par abeille (8 log 10). A partir de 6 log 10 copies par abeille, on peut suspecter des cas probables. Des tests comparatifs de reproductibilité entre les différents laboratoires d'analyse

ont été effectués pour valider la fiabilité et la répétabilité de la méthode, et l'agrément des laboratoires.[9] Depuis 2018, trois modifications majeures ont été mises en place par le LNR concernant les protocoles à appliquer par les laboratoires agréés pour les qRT-PCR. La dernière modification a eu lieu en mai 2022 et concerne la détection du CBPV ; elle est en lien avec la détection d'un nouveau variant du virus CBPV : il s'agit d'une conséquence des observations et contre-analyses effectuées par le LNR à partir de notre cas clinique.

Le diagnostic du nouveau variant CBPV

Avant mai 2022, les laboratoires agréés utilisaient une amorce située sur l'ARN1 nommée qCBPV 9.

Le LNR a ici d'abord confirmé le résultat du LDA 39 en utilisant cette amorce classique (qCBPV9), puis a réalisé une seconde qPCR ciblant l'ARN2 (méthode développée initialement à des fins de recherche), qui a permis de quantifier une charge virale en CBPV compatible avec l'infection clinique observée. Le LNR a alors identifié une zone ciblée sur l'ARN1 qui aurait donc subi une mutation expliquant la non-détection de l'amorce qCBPV9. Il a alors été décidé d'utiliser systématiquement la première amorce qCBPV9, associée à une seconde amorce (qCBPV9-2) créée pour repérer et quantifier les nouveaux variants du virus.

La recherche de variants de virus CBPV est difficile en routine car les PCR utilisées ciblent une partie du génome qui doit être spécifique du virus recherché à l'aide d'amorces sens et contre-sens (aux deux extrémités de la partie recherchée) et d'une sonde qui s'intercale entre les deux amorces. Il faudrait idéalement que les amorces et la sonde ciblent des régions absolument stables sur toutes les souches. Cependant, même si une région très conservée est sélectionnée, on ne peut jamais être certain qu'il n'y aura pas une mutation ponctuelle en cet endroit. Dans le cas d'une mutation sur une région ciblée par les amorces ou la sonde, le résultat de la PCR peut être faussement négatif ou sous-évaluer la charge virale. C'est ce qui s'est passé à propos du cas décrit.

Actuellement, et depuis mai 2022, les deux amorces qCBPV 9 et qCBPV 9-2, qui diffèrent seulement d'un seul nucléotide sont utilisées systématiquement pour la quantification du génome du CBPV dans les échantillons d'abeilles[1;Viry A., **Communication personnelle**].

Principaux enseignements

Les signes cliniques et les éléments observés lors des visites d'investigation en apiculture doivent orienter les demandes d'examen complémentaires, et parfois remettre en question la véracité de leurs résultats. Les enquêtes doivent être partagées et multidisciplinaires.

En cas d'incohérence entre les suspicions cliniques et les

résultats de laboratoire, le vétérinaire clinicien, par une expertise approfondie des éléments qu'il a observés, peut suggérer aux laboratoires une « contre expertise » afin d'ouvrir à des analyses complémentaires pour valider (ou infirmer une seconde fois) son hypothèse diagnostique initiale.

Les prélèvements de matrices apicoles doivent être réalisés conformément aux exigences des laboratoires d'analyse et être dupliqués ou triplés en cas de besoin d'analyses complémentaires, même si dans certains cas, notamment lors de dépopulations subtotaux, de désertions, ou de destruction par l'apiculteur, cela s'avère compliqué voire impossible.

Le partage et la publication de nouvelles observations permet aux cliniciens sur le terrain et aux laboratoires de progresser et d'affiner leurs techniques.

Remerciements à Monsieur Alain Viry, LDA 39 pour ses compléments d'information.

Ce travail a été effectué dans le cadre de l'Observatoire des Mortalités et Affaiblissements de l'Abeille mellifère (OMAA), financé par le Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire (Direction Générale de l'Alimentation, DGAI) en lien avec la Direction Régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt de la Région Auvergne-Rhône-Alpes (Service Régional de l'Alimentation, SRAI).

Les analyses ont été effectuées au Laboratoire Départemental d'Analyses du Jura – LDA39 et au Laboratoire National de Référence sur la santé de l'Abeille (Anses, Sophia Antipolis).

Bibliographie

1. ANSES/SOP/ANA-I1.MOA.39 (SOP/INS/0120) - Version 3 Mai 2022 Recherche et quantification des virus de la paralysie aiguë (ABPV), de la cellule royale noire (BQCV), de la paralysie chronique (CBPV), des ailes déformées (DWV- A et DWV-B) et du couvain sacciforme (SBV) par RT-PCR en temps réel sur échantillons d'abeilles
2. Blanchard P, Ribière M, Celle O & Coll. 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 Methods*. 2007 Apr;141(1):7-13.
3. Budge GE, Simcock NK, Holder PJ & Coll. Chronic bee paralysis as a serious emerging threat to honeybees. *Nat Commun*. 2020 May 1;11(1):2164.
4. Coulon M, Schurr F, Martel AC & Coll. Influence of chronic exposure to thiamethoxam and chronic bee paralysis virus on winter honeybees. *PLoS One*. 2019 Aug 15;14(8)
5. Dittes J, Schäfer MO, Aupperle-Lellbach H & Coll. Overt Infection with Chronic Bee Paralysis Virus (CBPV) in Two Honeybee Colonies. *Vet Sci*. 2020 Sep 22;7(3):142.
6. Durand T, Bonjour-Dalmon A, Dubois E. Viral Co-Infections and Antiviral Immunity in Honey Bees. *Viruses*. 2023 May 22;15(5):1217.
7. Locke B, Semberg E, Forsgren E, de Miranda JR. Persistence of subclinical deformed wing virus infections in honeybees following *Varroa* mite removal and a bee population turnover. *PLoS One*. 2017 Jul 7;12(7)
8. Paxton RJ, Schäfer MO, Nazzi F & Coll. Epidemiology of a major honeybee pathogen, deformed wing virus: potential worldwide replacement of genotype A by genotype B. *Int J Parasitol Parasites Wildl*. 2022 May 10;18:157-17.
9. Schurr F, Cougoule N, Rivière MP, & Coll. Trueness and precision of the real-time RT-PCR method for quantifying the chronic bee paralysis virus genome in bee homogenates evaluated by a comparative inter-laboratory study. *J Virol Methods*. 2017 Oct;248:217-225.
10. Toplak I, Jamnikar Ciglencečki U, Aronstein K, Gregorc A. Chronic bee paralysis virus and *Vairimorpha ceranae* experimental co-infection of winter honeybee workers (*Apis mellifera* L.). *Viruses*. 2013 Sep 19;5(9):2282-97.