



**Photo 1** - Le portage des pathogènes chez l'abeille mellifère est un phénomène sous-estimé qui joue un rôle prépondérant dans les surmortalités hivernales. Les effets synergétiques avec les pesticides et les conditions d'élevages intensifs ne feraient qu'aggraver la situation.

# Portage des pathogènes : solutions naturelles pour un désastre sanitaire

**Le nombre élevé de colonies mortes chaque année nous interpelle sur l'ampleur du phénomène qui paraît s'être installé à hauteur de 30 % comme seuil incontournable auquel la seule réponse proposée actuellement est le renouvellement annuel des reines. Avec un tel niveau de mortalité, une réponse aussi radicale que l'élevage intensif des reines apparaît comme une aberration pour tout autre type d'élevage. Par comparaison, l'élevage intensif des volailles, (très critiquable pour ses impacts environnementaux et pour son mépris du bien-être animal) estime qu'un taux de mortalité supérieur à 2% est synonyme d'échec...**

Afin de comprendre les raisons de cette hécatombe, pour la cinquième année consécutive, une enquête nationale sur le ressenti des apiculteurs face aux mortalités hivernales a été mise en place sous l'égide de la plateforme ESA, plateforme nationale d'épidémiologie apicole, en collaboration avec ADA France, l'ANSES, la DDCCPP, la FNOSAD, GDS France, GNTSA, l'INRAE, l'ITSAP et la SNGTV. 64 361 apiculteurs ont été sollicités, 20 858 ont répondu (soit 32,4%), et cette énorme mobilisation a permis de publier les résultats figurant dans le tableau 1 (voir tableau 1 page 29).

Il est cependant possible d'apporter plus de précisions sur les raisons de ces mortalités et nous en avons fourni la preuve en évaluant l'importance du portage des pathogènes chez les abeilles en bonne santé apparente. Il est également possible de diminuer ce portage avec des mesures adaptées.

Après avoir présenté l'impact, sans symptômes visibles, des virus et de *Nosema ceranae* sur la santé des colonies, nous aborderons les moyens d'évaluer le niveau de leur portage et nous rapporterons divers exemples de réduction de ce portage à l'aide de moyens alternatifs.

## LES NOSÉMOSES

### Point de vue conventionnel

La maladie de catégorie 1 résulte de l'action pathogène de *Nosema apis* ou de *Nosema ceranae*. Classiquement, la maladie due à deux sporozoaires microsporidies, présente un cycle sous une forme amiboïde se reproduisant par division dans les cellules intestinales de l'abeille, et sous une forme spore très résistante dans le milieu extérieur.

La maladie est surtout décrite dans son expression digestive avec traces de diarrhée bien visibles sur la façade



## Texte

Gilles Grosmond

Vétérinaire et formateur, Gilles Grosmond s'efforce de comprendre les mécanismes fondamentaux du monde vivant pour lui appliquer le concept One Health dans les solutions alternatives qu'il propose.

de la ruche au moment des premières sorties printanières. Cette description correspond aux troubles liés à *Nosema apis*, forme la plus répandue en France jusqu'au début des années 2000. Depuis *Nosema ceranae* est de loin la plus fréquente (90%), la plus agressive et la plus discrète en terme de symptômes.

### Ce que la recherche nous apprend sur *Nosema ceranae*

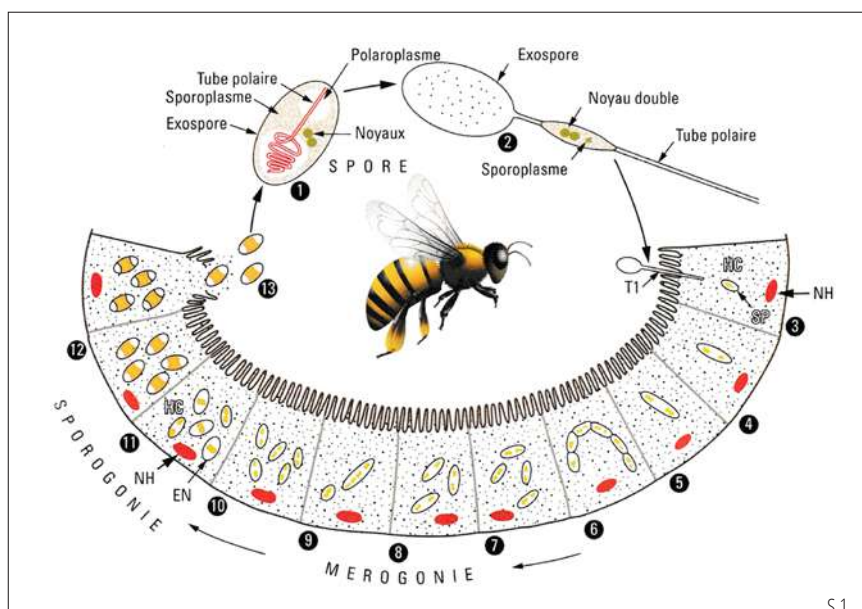
*Nosema ceranae*, par prédation d'une partie des aliments et par diminution de leur absorption intestinale, réduit la durée de vie individuelle des abeilles et entraîne de fait une diminution globale des effectifs des colonies<sup>3,4</sup>. Le parasite perturbe l'équilibre énergétique des butineuses, diminue leur capacité de vol et réduit considérablement leur retour à la ruche<sup>1, 8, 9, 16</sup>. Pire, le parasite provoque une véritable addiction des butineuses au sucre, avec altération profonde de leur comportement puisqu'elles refusent de partager le nectar qu'elles ont récolté, créant une véritable famine énergétique au niveau du couvain<sup>7</sup>.

La mortalité élevée des butineuses modifie l'organisation de la colonie avec passage anticipé des nourrices vers la fonction de butineuses, butineuses jeunes et inexpérimentées dont la durée de vie est fortement abrégée<sup>5, 1, 6, 16</sup>. En fin d'hiver, les abeilles âgées de plusieurs mois sont fortement contaminées et peuvent contaminer la reine en la nourrissant<sup>10</sup>. Ces mêmes abeilles de fin d'hiver subissent, de la part de *Nosema ceranae*, un stress énergétique qui se traduit par une «faim de sucre» et pousse les ouvrières à sortir de la ruche pour butiner. Malheureusement, en cette période de l'année, ces sorties sont infructueuses et les abeilles meurent en dehors de la ruche, dans une sorte de recherche suicidaire de sucre.

Si l'on examine l'effet des doses sublétales de pesticides (doses qui entraînent des troubles non mortels) sur des effectifs porteurs de *Nosema ceranae*, on constate une synergie d'effets entre ces agresseurs abiotiques et biotiques pour aboutir à un effondrement systématique des colonies<sup>11, 12, 13</sup>. La principale source

Effectifs	Je ne sais pas	Non concerné	Météo-Climat	Colonies faibles	Problème de reines	Réserves insuffisantes	Varroa	Frelon	Autre danger sanitaire	Contaminants chimiques	Autres causes
< 10 colonies	4,4	5,8	8,6	33	12	5,6	8,4	7,8	0,5	2	2,1
10 à 50 col	3,4	4	6,6	37	7,6	6,3	9,1	6,3	0,5	1	2,1
> 50 colonies	3,3	0,7	7,7	31,3	20,2	6	21,6	4,4	0,5	2	2,4

**Tableau 1** - Ressenti des apiculteurs vis-à-vis des mortalités hivernales des colonies – La santé de l'abeille n°331 – Sept-Oct 2022.



**Schéma 1** - Cycle de vie de *Nosema apis* ©Samuel Boucher – Maladies des abeilles – Ed. France Agricole 20162.

### Références bibliographiques

1- Higes, M. and all - 2008 - *How natural infection by Nosema ceranae causes honeybee colony collapse.*  
 2- Traver, B.E. and all - 2012 - *Low natural level of Nosema ceranae in Apis mellifera queens.*  
 3- Khoury, D.S. and all - 2011 - *A quantitative model of honey bee colony population dynamics.*  
 4- Martin-Hernandez, R. and all - 2011 - *Comparison of the energetic stress associated with experimental Nosema ceranae and Nosema apis infection of honeybees (Apis mellifera).*

5- Wang, D.I. and all - 1970 - *The division of labor and queen attendance behaviour of Nosema infected worker honeybees*  
 6- Botias, C. and all - 2010 - *Negative effects of Nosema infection in honey production and vitality of honey bee (Apis mellifera) colonies in Spain*  
 7- Naug, D. and all - 2009 - *Behavioral changes mediated by hunger in honeybees infected with Nosema ceranae*



1

**Photo 1** - Les virus sont des particules à la limite du monde vivant, qui ne peuvent exister et se multiplier qu'à l'intérieur d'une cellule qu'ils parasitent.

de pesticides se situe dans le pain d'abeille, et sa consommation en fin d'hiver par des abeilles âgées très largement porteuses de *Nosema ceranae* explique une partie des mortalités hivernales. Dans de telles conditions, l'apiculteur ne perçoit aucun symptôme si ce n'est une suspicion quand il constate une baisse inexplicable dans la récolte de miel<sup>6, 14</sup>. En effet, les symptômes liés à *Nosema ceranae* sont quasi-inexistants, alors que les colonies meurent (on peut observer parfois des diarrhées post-hivernales dues à *Nosema apis*) ! Pour anticiper ces pertes hivernales, les apiculteurs ont pris l'habitude d'un renouvellement des reines en fin d'été. Avec de nouvelles reines la ponte est abondante et les jeunes abeilles sont peu contaminées<sup>15</sup>.

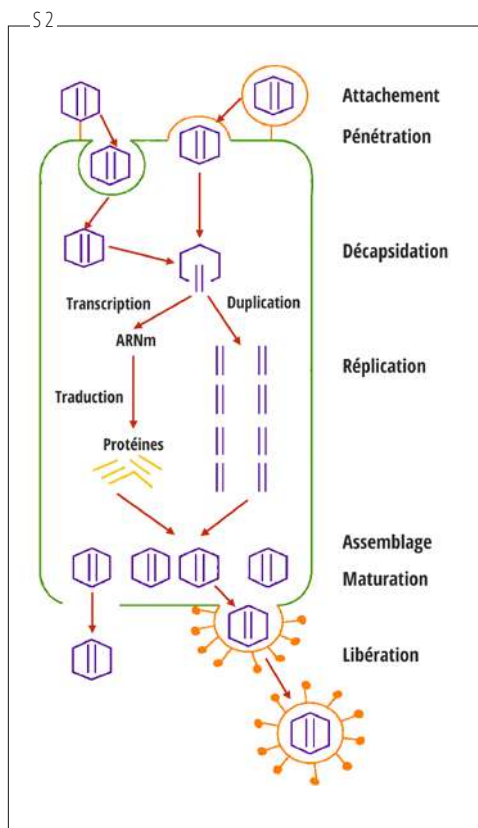
composés d'une capsule, parfois entourée par une enveloppe, contenant un ADN ou un ARN, sans aucun autre organe intra-cellulaire (voir schéma 2). Le cycle évolutif d'un virus se décompose en trois étapes :

- **Étape 1** : adhérence à la cellule à parasiter, entrée dans cette cellule et décapitation pour libération de son matériel chromosomique.
- **Étape 2** : phase de réplication et production par la cellule hôte des éléments constitutifs du virus parasite : matériel chromosomique et protéines virales constitutives de la capsid.
- **Étape 3** : assemblage des éléments constitutifs du virus à ARN dans le cytoplasme de la cellule hôte, dans le noyau puis dans le cytoplasme pour le virus à ADN.

### Ce qu'il faut retenir de *Nosema ceranae*

*Nosema apis* est plus fréquent en Europe du Nord, *Nosema ceranae* est presque exclusif en Europe du Sud. L'absence de symptômes aigus cache en réalité une action très délétère vis-à-vis de la colonie et participe pour une part importante à son effondrement. De mon point de vue, la présence de *Nosema ceranae* représente le risque potentiel le plus élevé pour la colonie, d'autant plus qu'il trouve dans les pesticides environnementaux des partenaires qui amplifient grandement ses effets délétères.

**Schéma 2** - Cycle évolutif d'un virus



### LES VIRUS

Les virus sont des particules, à la limite du monde vivant, qui ne peuvent exister et se multiplier qu'à l'intérieur d'une cellule qu'ils parasitent. Ils sont

Les virus peuvent rester à l'état latent dans la cellule hôte ou être expulsés par bourgeonnement ou éclatement de celle-ci avec manifestation des symptômes de la maladie virale. Avec l'évolution des moyens d'investigation, le nombre de virus découverts chez les abeilles ne cesse d'augmenter. À ce jour, trente-deux virus ont été identifiés et un organisme est chargé d'enregistrer leur appellation : *International committee on taxonomy of viruses (ICTV)*<sup>17</sup>. Jusque dans les années 80, leur nombre est resté limité à une dizaine d'espèces dont le virus de la paralysie chronique également appelé « Maladie noire », et le virus du couvain sacciforme. Chaque virus était présenté comme un agent pathogène agissant seul et pouvant épisodiquement provoquer la mort de la colonie. L'arrivée de *Varroa destructor* a totalement changé le paysage viral et ce bouleversement, d'abord passé inaperçu, n'a pu être réellement mis en évidence qu'après étude des derniers territoires envahis par *Varroa*. C'est ainsi que, simultanément à

8- HIGES, M. and all - 2009a - Honeybee colony collapse due to *Nosema ceranae* in professional apiaries  
 9- HIGES, M. and all - 2010 - *Nosema ceranae* in Europe : an emergent type C nosemosis  
 10- HIGES, M. and all - 2009b- Horizontal transmission of *Nosema ceranae* (Microsporidia) from worker honeybees to queens (*Apis mellifera*)  
 11- WU, Y.J and all - 2012 - Honey bees (*Apis mellifera*) reared in brood combs containing high levels of pesticide residues exhibit increased susceptibility to *Nosema* (Microsporidia) infection

12- BROMENSHENK, J.J. and all - 2010 - Iridovirus and microsporidian linked to honey bee colony decline  
 13- BACANDRITSOS, N. and all - 2010 - Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies

l'apparition de *Varroa*, l'étude des populations virales aux Îles Hawaï ou en Nouvelle-Zélande a permis de comprendre la relation entre le parasite et les populations virales et entre les populations virales elles-mêmes<sup>18, 19</sup>.

## Transmission des virus

### Transmission verticale

La présence de virus, principalement DWV, BQCV, et SBV, est clairement démontrée dans le tissu ovarien, la spermathèque, à la surface et dans les œufs pondus<sup>20, 21</sup>. Cette présence systématique explique la courte durée de fonctionnement des ovarioles des reines et met en garde sur les risques sanitaires inévitables lorsque l'élevage de reines s'organise à partir de souches contaminées. Les mâles n'échappent pas à cette transmission verticale tant par la contamination des spermatozoïdes que par la possible contamination vénérienne.

### Transmission horizontale

Les abeilles peuvent se contaminer au moment de l'échange de nourriture par trophallaxie bien que la teneur en particules virales des miels soit plutôt faible<sup>22</sup>. La contamination par la fréquentation simultanée des mêmes aires de butinage représente un risque réel pour les abeilles domestiques de différentes colonies, mais également pour les abeilles sauvages au voisinage des abeilles domestiques<sup>23, 24, 25, 26</sup>. C'est ainsi que les populations de *Bombus terrestris* utilisées à des fins de pollinisation dans les serres se contaminent systématiquement quand elles se situent dans le voisinage des abeilles domestiques. 75% des bourdons (*Bombus terrestris*) vendus avec une garantie «Pathogens free» sont en réalité contaminés par une ou plusieurs espèces de virus de l'abeille domestique.

### Rôle de *Varroa destructor* dans la transmission des virus

L'étude des populations virales dans les derniers territoires conquis par *Varroa destructor* met en évidence l'existence de virus avant l'arrivée du parasite<sup>18, 19</sup>. Ces infestations évoluent à bas bruit et connaissent une brutale flambée à l'arrivée de *Varroa* avec émergence systématique de DWV. Le parasite transmet de façon passive les virus présents, soit en direction des larves, soit en direction des abeilles adultes et chaque transmission s'accompagne d'une multiplication virale probablement du fait du pouvoir immunodépresseur de *Varroa destructor*<sup>27</sup>. Le plus souvent la population virale est proportionnelle au niveau d'infestation parasitaire mais elle est parfois très élevée sans que la population de parasites le soit simultanément<sup>28, 29</sup>.

### Mécanisme d'action de DWV ou d'autres virus des abeilles adultes

Le portage viral est très souvent asymptomatique mais il exerce, sur le même mode que *Nosema ceranae*, une forte influence sur le passage anticipé des abeilles d'intérieur vers le statut de butineuse<sup>30, 31</sup>. Cette mutation accélérée s'accompagne d'une diminution de la vitellogénine aux dépens de l'hormone juvénile dont le taux augmente. Les jeunes butineuses présentent une augmentation des non-retours à la ruche entraînant une baisse de l'élevage et un affaiblissement rapide de la colonie<sup>32</sup>. Ce scénario, sans trouble apparent, peut survenir avec n'importe quel virus des abeilles adultes à la suite d'un stress. Nous constatons qu'un virus qui, en quelques semaines, passe de 30 cycles thermiques à 20 (voire à 15 en RT-PCR) entraîne fatalement un effondrement de la colonie.



Photo : ©Adobe Stock



Photo : ©Adobe Stock

**Photo 2** - Les abeilles peuvent se contaminer au moment de l'échange de nourriture par trophallaxie.

**Photo 3** - Les populations de *Bombus terrestris* utilisées à des fins de pollinisation dans les serres se contaminent systématiquement quand elles se situent dans le voisinage des abeilles domestiques.

14- Botias, C. and all - 2011 - *Nosema* spp. parasitization decreases the effectiveness of acaricide strips (Apivar®) in treating varroosis of honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) colonies.

15- Botias, C. and all - 2012a- *The effect of induced queen replacement on Nosema* spp. infection in honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) colonies.

16- Kralj, J. and all - 2009 - *Nosema* sp. influences flight behavior of infected honey bee (*A. mellifera*) foragers.

17- McMenamin, A.J. and all - 2018 - *Recently identified bee viruses and their impact on bee pollinators.*

18- Mondet, F. and all - 2020 - *On the Front Line: Quantitative Virus Dynamics in Honeybee* (*Apis mellifera* L.) Colonies along a New Expansion Front of the Parasite *Varroa destructor*.

19- MARTIN, S.J. and all - 2012 - *Global Honey Bee Viral Landscape Altered by a Parasitic Mite.*



1

**Photo 1** - Des chercheurs ont suivi pendant plusieurs années des colonies férales et ont constaté leur préférence pour des habitats plus petits que la ruche Dadant et l'importance de l'essaimage sur la survie des colonies.

### Réponses immunitaire des abeilles

La voie actuellement la plus explorée est celle de la production des peptides antimicrobiens et du rôle joué par l'ARN interférent<sup>34, 35</sup>. L'accent est largement mis sur la qualité des pollens consommés par l'abeille pour permettre cette forme d'expression de l'immunité individuelle. Pourtant, une multitude de faits évoquent d'autres mécanismes tels que le rôle de certaines bactéries du microbiote intestinal, l'existence de divers types d'hémocytes avec des fonctions de défense très spécifiques, le rôle du métabolisme énergétique des mitochondries pour déclencher la production des peptides antimicrobiens<sup>38</sup>, le stress oxydant plus important chez les abeilles d'une apiculture productiviste que chez les abeilles d'une apiculture plus traditionnelle<sup>39</sup>.

### Influence des pratiques apicoles

Des chercheurs ont suivi pendant plusieurs années des colonies férales et ont constaté leur préférence pour des habitats plus petits que la ruche Dadant et l'importance de l'essaimage sur la survie des colonies<sup>40</sup>. Les colonies férales affichent un taux de survie plus élevé

malgré une présence accrue de virus. Cela viendrait d'une meilleure tolérance immunitaire des colonies férales aux virus<sup>41</sup>. L'absence de traitement acaricide pourrait également favoriser l'apparition de phénotypes de DWV moins virulents. L'essaimage quant à lui, demeure un merveilleux mécanisme de survie.

### Ce que nous pouvons retenir à propos des virus

Leur omniprésence est en lien avec celle de *Varroa* et la mondialisation des échanges. Aucun virus n'est anodin et tous peuvent entraîner l'effondrement d'une colonie en relation avec les effets délétères de *Nosema ceranae* ou des pesticides. Leur transmission verticale pollue lourdement les élevages, leur transmission horizontale les autres pollinisateurs. Les virus menacent à tout moment la survie de colonies en apparente bonne santé.

20- CHen, Y.P. and all - 2005 - *Prevalence and Transmission of Honeybee Viruses.*

21- Amiri, E. and all - 2018 - *Quantitative patterns of vertical transmission of deformed wing virus in honey bees.*

22- Schittny, D. and all - 2020 - *Honey Bee Virus Transmission via Hive Products*

23- Singh, R. and all - 2010 - *RNA Viruses in Hymenopteran Pollinators : Evidence of Inter-Taxa Virus*

*Transmission via Pollen an Potential Impact on Non-Apis Hymenopteran Species.*

24- Manley, R. and all - 2015 - *Emerging viral disease risk to pollinating insects : ecological, evolutionary and anthropogenic factors.*

25- Graystock, P. and all - 2013 - *The trojan hives: pollinator pathogens, imported and distributed in bumblebee colonies.*

26- Alger, S.A. and all - 2019 - *RNA virus spillover*

## LES OUTILS POUR MENER À BIEN NOS INVESTIGATIONS

Les questions posées sont simples : le portage de pathogènes représente-t-il une menace pour la santé des abeilles ? Quelle est la nature de ces pathogènes ? Peut-on démontrer leur présence dans une pratique apicole normale ? Peut-on minimiser leur impact sur la santé des abeilles ?

Pour répondre à ces questions, nous avons retenu deux outils : d'abord un outil diagnostique (la PCR - RT-PCR) pour l'identification et la quantification des pathogènes. Puis un outil de soutien de la santé des abeilles à l'aide d'un cocktail d'oligo-éléments et d'huiles essentielles.

De nombreuses publications existent sur l'usage des huiles essentielles, mais aucune n'aborde dans son ensemble l'intérêt des oligo-éléments dans la santé de l'abeille. Nos mesures sur l'assimilation et les effets des oligo-éléments seront brièvement abordées pour justifier l'intérêt de leur usage.

## Détection des pathogènes

### La méthode PCR- RT-PCR

Cette méthode permet d'identifier un pathogène par similitude d'une partie de son génome à un génome de référence, appelé amorce, séquence de nucléotides spécifiques du pathogène que l'on cherche à identifier. L'analyse permet, par amplification, de traiter en plusieurs étapes de très petits échantillons (Schéma n°3).

Les différentes étapes sont réalisées dans un appareil appelé thermocycleur (voir photo n°2). Chaque cycle de PCR s'effectue en 3 étapes : dénaturation thermique de l'ADN à 95°C, hybridation des amorces à 50-65°C, élongation à 72°C. À chaque cycle, le nombre d'ADN conforme à l'ADN du pathogène est multiplié par deux dans une progression exponentielle. L'addition sur les amorces d'un marqueur fluorescent permet d'enregistrer un signal proportionnel à la quantité de pathogène présent dans l'échantillon (Schéma n°4). La majorité des virus des abeilles sont des virus à ARN. Pour réaliser leur détection, ces

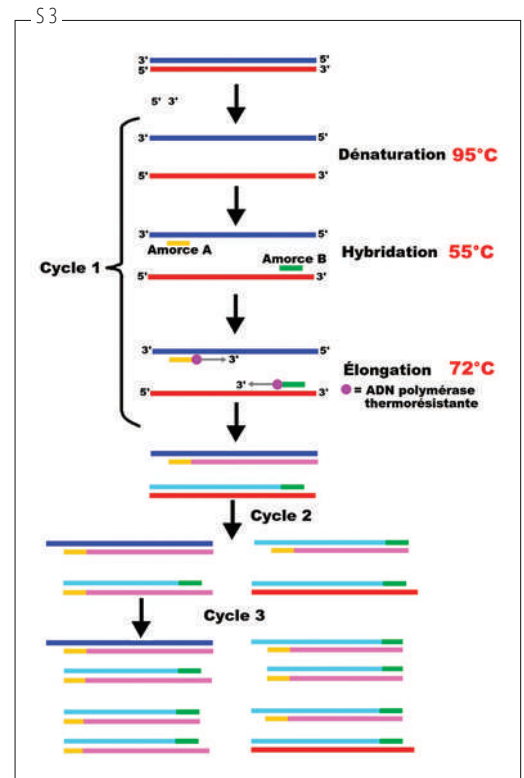


Schéma 3 - Chronologie de la PCR (Polymerase Chain Reaction) - Cobas Amplicor® - microbiologie médicale.fr

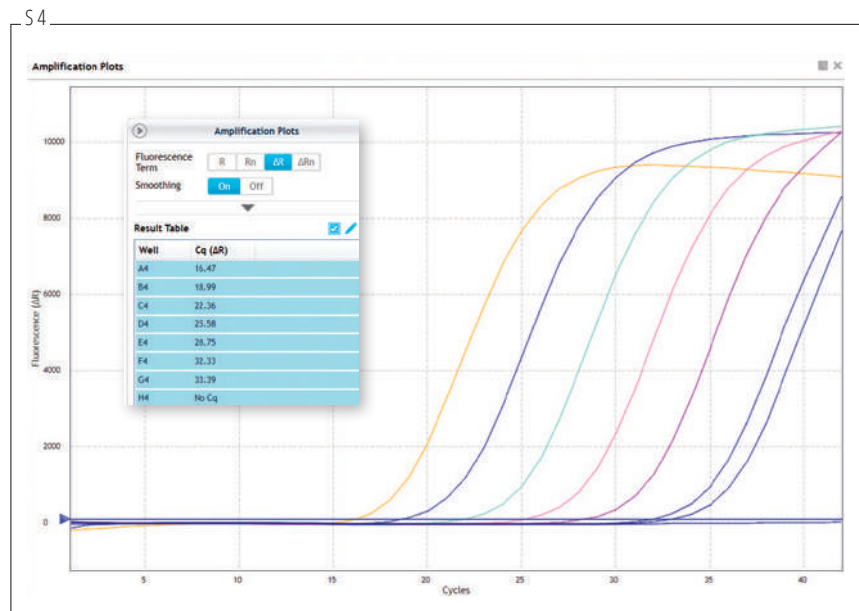


Schéma 4 - Courbes de validation - Capture écran ADNucléus

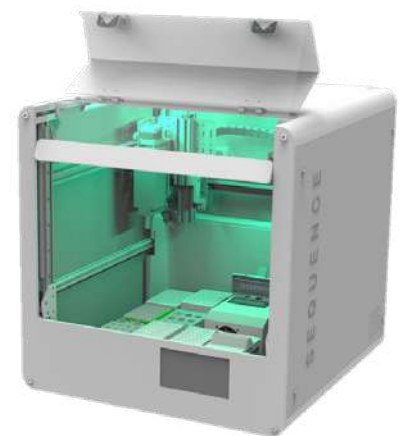


Photo 2 - Thermocycleur d'ADNucléus

from managed honeybees (*Apis mellifera*) to wild bumblebees (*Bombus* spp.)

27- Shen, M. and all - 2005 - *The role of varroa mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWW) in honey bees.*

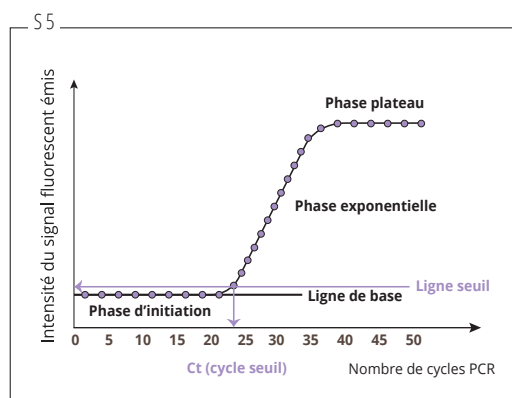
28- Roy, M.F. and all - 2013 - *Varroa-Virus Interaction in Collapsing Honey Bee Colonies.*

29- Ryabov, E.V. and all - 2019 - *Dynamic evolution in the key honey bee pathogen deformed wing virus :*

*Novel insights into virulence and competition using reverse genetics.*

30- Traniello, I.M. and all - 2020 - *Meta-analysis of honey bee neurogenomic response links. Deformed wing virus type A to precocious behavioral maturation.*

31- Natsopoulou, M.E. and all - 2015 - *Parasites modulate within-colony activity and accelerate the temporal polyethism schedule of a social insect, the honey bee*



**Schéma 5** - Courbe théorique de PCR en temps réel

ARN sont transformés en un brin d'ADN complémentaire à l'aide d'une enzyme virale : la Reverse Transcriptase (RT), d'où le terme RT-PCR.

### Conséquences pratiques et interprétation des résultats

Le point de décolllement de la courbe d'amplification correspond à un cycle thermique en relation avec la teneur initiale du prélèvement en pathogènes. Plus le nombre de cycles thermiques (Ct) est élevé, plus il témoigne de la difficulté à identifier le pathogène en raison de son faible effectif initial (voir schéma n°5). Des cycles thermiques de 10 à 22 indiquent une contamination forte, le plus souvent synonyme d'effondrement de la colonie. Des Ct de 23 à 30 témoignent de la présence du pathogène, avec risque non négligeable d'effondrement. Des Ct de 31 à 40 indiquent la présence de pathogène avec un niveau de risque très faible au moment de l'analyse.

### Oligo-éléments comme outils de soutien de la santé

Les oligo-éléments ou éléments traces agissent en très petites quantités pour faciliter les réactions biochimiques du vivant en réduisant considérablement les dépenses énergétiques. Les oligo-éléments que nous avons explorés en priorité, Zinc, Cuivre, Manganèse, Sélénium concernent la gestion de l'oxygène dans le travail musculaire et les mécanismes de défense. Dans les deux cas, ces fonctions pour être efficaces sont très consommatrices d'oxygène et font apparaître ce que l'on nomme le stress oxydant.

Ainsi, les premières lignes de défense des êtres vivants (végétaux, animaux, humains) dirigent contre les pathogènes des processus oxydants pour les neutraliser. Ces processus sont efficaces mais le plus souvent non sélectifs et surtout délétères, car les radicaux oxygénés

qu'ils libèrent peuvent créer des lésions dans les tissus de l'hôte. Ces effets délétères peuvent être atténués par la capacité de l'hôte à maîtriser le stress oxydant qu'il initie pour se défendre. Les quatre oligo-éléments précités et les systèmes enzymatiques dont ils sont co-facteurs permettent d'atténuer les effets secondaires des mécanismes de défense.

### Mesures

Le système immunitaire inné des mammifères est souvent évalué à travers la mesure des systèmes enzymatiques dépendant de Zn, Cu, Mn et Se, mais aucune mesure de ce type n'avait été pratiquée sur des abeilles. Pour réaliser cette mesure, les abeilles, après euthanasie, sont dissoutes dans une solution d'acide nitrique et introduites dans un appareil ICP-MS. Les abeilles lysées sont chauffées en présence d'un gaz (argon) et soumises à un fort champ électromagnétique qui transforme leurs constituants métalliques en ions. Ce plasma est dirigé vers un analyseur qui émet un signal proportionnel à la concentration en ions. Les constituants des abeilles sont mesurés et exprimés en mg/kg ou en partie par millions (ppm). (Cf. Photo n°1 ci-contre).

Les mesures ont permis de quantifier les oligo-éléments contenus dans l'ensemble du corps des abeilles, en accord avec les mesures validées chez les mammifères.

### Résultats des mesures au rucher expérimental

Le rucher se compose d'une quinzaine de ruches Dadant 10 cadres peuplées d'abeilles hybrides de Buckfast, de provenances très diverses car constituées d'essaims naturels confiés par des apiculteurs bénévoles, sympathisants de notre cause. Le portage de pathogènes est très varié à l'image des ruchers de notre secteur. Cette diversité est volontairement retenue afin de diversifier au maximum



**Photo 1** - Abeilles et lysat d'abeilles

33- TENTCHEVA, D. and all - 2004 - Prevalence and Seasonal Variations of Six Bee Viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* Mite Populations in France

34- BRUSCHER, L.M. and all - 2015 - Antiviral defense mechanisms in honey bees

35- Mc MENAMIN, A.J. and all - 2016 - Abiotic and

biotic factors affecting the replication and pathogenicity of bee viruses

36- HAMILTON, P.T. and all - 2013 - Host Defense via Symbiosis in *Drosophila*

37- HILLYER, J.F. and all - 2014 - Mosquito hemo-cyte-mediated immune responses

le portage de pathogènes. Seul *Varroa d.* fait l'objet d'un traitement systématique à l'arrivée des essaims avec des applications répétées d'acide lactique et d'huiles essentielles. Les populations de *Varroa d.* sont contrôlées à l'aide des chutes naturelles, une intervention à l'acide oxalique mi-décembre par dégouttement complète le protocole à l'acide lactique.

Depuis le début de 2023, des mesures d'efficacité de la méthode par confusion olfactive en début de saison apicole sont entreprises. Habituellement, les pratiques pour une expérimentation impliquent dans le protocole un lot témoin, un lot traité. La taille de l'effectif ne permet pas un tel dispositif, nous avons fait le choix de pratiquer une conduite apicole alternative et de suivre l'évolution de chaque colonie au cours de plusieurs saisons apicoles. Cette méthode de type exploratoire permet de suivre la chronologie et la grande diversité des événements propres à chaque colonies. Pratiquer 4 à 5 fois par an une RT-PCR par colonie permet de constater les circonstances d'apparition des développements ou des affaiblissements des colonies, de mesurer la récupération d'une colonie après administration du cocktail d'oligo-éléments et huiles essentielles, de voir s'effondrer une colonie après un stress.

Parmi toutes les observations accumulées, dans une présentation simplifiée, voici quelques-uns des faits constatés.

## Mesures sur le portage des pathogènes

### Confirmation de la transmission verticale des pathogènes

Les résultats des analyses par RT-PCR des colonies n°5 et sa fille n°17, n°1 et sa fille n°13, nous indiquent clairement une similitude des pathogènes à des niveaux comparables entre une colonie mère et sa colonie fille issue par division. (Tableau 2). Dans le sché-

ma habituel du négoce des essaims, la transmission verticale est assurée à la fois par la reine (dans et à la surface des ovocytes) et par les faux bourdons (spermatozoïdes contaminés et transmission vénérienne). Ces essaims, achetés par des apiculteurs amateurs, n'atteignent même pas la plupart du temps une seconde saison apicole et disparaissent sans autre explication. Il est urgent qu'un certificat sanitaire accompagne le négoce des abeilles.

### Confirmation de la transmission horizontale des pathogènes

Les analyses RT-PCR ont été réalisées en 2020 sur une colonie férale et une colonie domestique B distantes l'une de l'autre de 150 mètres (tableau 3). Les populations virales sont identiques dans les deux colonies partageant la même aire de butinage et dépourvues par ailleurs des deux *Nosemas*. La colonie domestique B faisait l'objet d'un contrôle conventionnel de la population de *Varroa d.* La colonie férale ne recevait aucun traitement anti-varroa.

### Il n'y a pas de virus anodin

L'analyse du 5 août fait état sur la colonie n°22 de la présence des *Nosemas* sans caractère de gravité et de la présence d'un seul virus BQCV très préoccupant à 18 CT alors que la moyenne du rucher est à 26 Ct. BQCV est réputé peu virulent, donc pas d'inquiétude particulière (tableau 4). La mort de la colonie a été constatée quatre semaines après l'analyse. À noter que cette colonie a subi un stress très violent deux mois auparavant. Suite à une violente tempête (vent et pluie) avec arrachage du toit et de ses 3 hausses pleines, la ruche est restée dans cet état 5 jours du fait de mon absence.

La brutale augmentation de la population virale un mois après le stress a provoqué la mort de la colonie très performante jusqu'alors.

	Colonie n°5	Colonie n°17 (issue de 5)	Colonie n°1	Colonie n°13 (issue de 1)
<i>Nosema apis</i>	32,64	33,16	32,49	33,16
<i>Nosema ceranae</i>	34,66	31,12	20,50	31,12
VdV1	27,03	28,20	26,39	27,02
DWV	25,43	25,93	25,31	28,06
BQCV	26,45	27,55	26,5	28,95
Autres	ND	ND	ND	ND

Tableau 2 - Recherche pathogènes sur colonies mères/filles

	Colonie férale dite sauvage	Colonie B dite domestique
DWV	24,31	25,37
VdV1	31,04	32,67
BQCV	28,49	26,08
CBPV	35,07	32,02
SBV	28,49	26,02
SBPV	34,4	31,43

Tableau 3 - Recherche pathogènes sur colonie férale et colonie domestique partageant la même aire de butinage

<i>Nosema apis</i>	30,6
<i>Nosema ceranae</i>	29,62
BQCV	17,97

Tableau 4 - Exemple d'un virus peu préoccupant avec présence forte

38- CHEN, Y.P. and all - 2014 - Israeli Acute Paralysis Virus : Epidemiology, Pathogenesis and Implications for Honey Bee Health

39- TARIC, E. and all - 2020 - Oxidative Stress, Endoparasite Prevalence and Social Immunity in Bee Colonies Kept Traditionally vs. Those Kept for Commercial Purposes

40- CARTER LOFTUS, J. and all - 2016 - How Honey Bee Colonies Survive in the Wild : Testing the Importance of Small Nests and Frequent Swarming

41- HINSHAW C. and all - 2021 - The Role of Pathogen Dynamics and Immune Gene Expression in the Survival of Feral Honey Bees



	5 août 2022	13 novembre 2022
<i>Nosema apis</i>	32,17	ND
<i>Nosema ceranae</i>	31,32	ND
VdV1	13,19	26,37
BQCV	24,03	ND
KBV	24,84	ND
SBV	ND	33,85
SBPV	ND	34,76

**Tableau 5** - Évolution du portage viral sous l'effet d'une administration d'oligo-éléments et d'huiles essentielles

<i>Nosema ceranae</i>	30,6
DWW	22,07
VdV1	26,45
CBPV	37,58
BQCV	25,48
SBV	28,42

**Tableau 6** - Portage de pathogènes à haut risque

Oligo-éléments	Colonie férale	Colonie domestique B
Se	0,009	0,003
Mn	1,398	1,532
Zn	0,954	0,988
Cu	0,231	0,237

**Tableau 7** - Alimentation et teneurs en oligo-éléments exprimés en ppm

**Graphique 1** - Comparaison de la courbe des oligo-éléments entre 2 colonies non complétées et colonie n°23 complétée (en ppm).

Oligo-éléments	Colonie férale	Colonie domestique B	Colonie fille 23
Se	0,009	0,003	0,004
Mn	1,398	1,532	2,98
Zn	0,954	0,988	2,614
Cu	0,231	0,237	0,524

### Se méfier des situations à risques : 2 Nosemas + 5 virus

Au cours du contrôle effectué le 5 août 2022 sur la colonie n°19, l'analyse révèle un taux élevé de VdV1 qui annonce la mort imminente de cette colonie (voir tableau 5).

Une tentative de sauvetage est aussitôt décidée avec l'administration de 250 ml de sirop 50/50 additionné d'oligo-éléments et d'huiles essentielles, 3 fois à 2 jours d'intervalle. Le contrôle effectué trois mois plus tard indique une très forte régression de VdV1, la détection impossible des *Nosemas*, de BQCV et KBV, la présence à un niveau faible de SBV SBPV. Parallèlement, l'observation de la colonie a permis de vérifier le passage d'une très faible activité en août 2022 à une activité normale en novembre 2022.

Le protocole démontre que les situations à haut risque ne sont pas désespérées et qu'en l'absence de RT-PCR, l'observation au trou de vol peut révéler une alerte qui implique la mise en place immédiate de ce protocole.

### Portage viral et pratiques apicoles

Deux essaims d'abeilles noires issus d'un conservatoire ont réalisé une remarquable récolte de trois hausses chacun et se sont brutalement effondrés deux mois après le retrait simultané de leurs trois hausses. La RT-PCR pratiqué au moment du retrait des hausses révèle un important portage de pathogènes à des taux proches pour certains des taux à risque. (Voir tableau 6).

La brutale réduction de 50% de volume habitable pour des colonies très développées provoque une forte gêne pour le déplacement des abeilles dans ce nouvel espace avec frottements excessifs de leurs pilosités, cassures des poils et micro-lésions cuticulaires. Ces multiples portes d'entrée facilitent la contagion virale car cette voie nécessite mille fois moins de virus pour infester un nouvel individu que par trophallaxie. Le retrait simultané d'un nombre élevé de hausses doit s'accompagner de la pose immédiate d'une hausse vide afin d'éviter la compression excessive de la colonie.

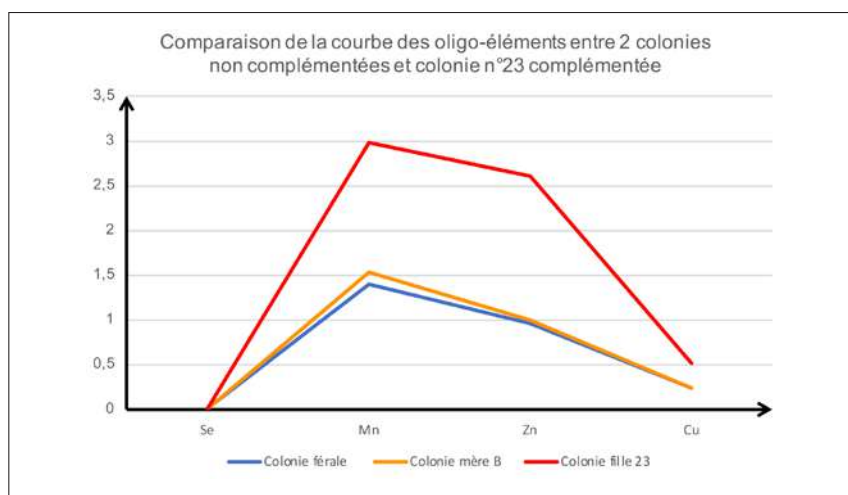
### Mesures sur les teneurs des abeilles en oligo-éléments

#### À nourriture égale, compositions égales

Selon ce modèle, la comparaison des teneurs en oligo-éléments des abeilles d'une colonie férale et d'une colonie domestique B, distantes de 150 mètres et partageant la même aire de butinage, nous indique pour ces deux colonies des teneurs en oligo-éléments identiques. Les résultats sont exprimés en ppm (voir tableau 7).

#### Oligo-éléments distribués

La colonie n° 23 issue de la colonie B, a reçu 30 jours après division, dans un sirop de stimulation 50/50, 7 ml / litre d'une solution d'oligo-éléments et d'huiles essentielles. La distribution s'est faite en cinq apports de ¼ de litre toutes les 48 heures.



Trente-cinq jours après cette distribution, la mesure des oligo-éléments à la colonie n°23 s'adresse à une population majoritairement nouvelle (cf. graphique 1 page 36, et tableau 8).

### Résultat de la distribution

Cette observation constitue un acquis fondamental. Les oligo-éléments ont indirectement servi de traceur et démontré que le protocole mis en place permet d'apporter des aliments complémentaires à destination des larves (et probablement de la reine). Nous avons tortu le cou à l'explication habituellement avancée sur l'effet euphorisant des sirops de stimulation sur la ponte de la reine.

### CONCLUSION

Cette étape obligatoire dans notre communication est l'occasion de réaffirmer ce qui est acquis et d'ouvrir un débat sur le champ des possibles.

Nous avons travaillé sur un effectif restreint de 15 colonies, mais nous avons multiplié tout au long des trois années les analyses, ce qui nous a permis de suivre la cinétique des événements, de saisir des faits inattendus, d'être témoins d'effondrements ou de reconstruction des effectifs, bref de connaître au fil des ans l'histoire de chaque colonie et parfois de sa descendance (toujours par division). Au cours de ces exercices maintes fois répétés, nous avons pu affiner nos méthodes analytiques pour présenter une identification et quantification fiables des pathogènes, une évaluation de risques spécifiques à chaque rucher, une stra-

tégie pour éviter ces 30% de mortalités et pertes confondues que les enquêtes successives ont fini par imposer comme une norme incontournable. L'observation tout au long de trois années apicoles nous a permis de comprendre certaines circonstances d'effondrement des colonies, d'acquérir une expérience d'anticipation sur ces risques, de constater le bien-fondé d'une complémentation avec des oligo-éléments et des huiles essentielles, même dans des situations à hauts risques. Les recherches de pathogènes<sup>1</sup> sur des abeilles en apparence bonne santé nous ont permis de mesurer l'importance de leur portage pour ajuster ensuite le niveau des mesures correctives<sup>2</sup>.

Des garanties sanitaires sur le portage de pathogènes seraient les bienvenues dans le négoce des abeilles, dans le statut des colonies faisant l'objet de protocoles expérimentaux, dans les lignées soumises à sélection, ou dans l'analyse de certaines pratiques apicoles comme la transhumance. Il est recommandé à tout apiculteur soucieux de réduire la mortalité de ses colonies de procéder à l'évaluation des pathogènes présents dans son cheptel et de mettre en place des mesures correctives. L'essentiel est bien de retenir que le protocole proposé est par nature partie intégrante de l'approche alternative de l'apiculture, comme l'est également le rôle fondamental de l'apiculteur.

1- Laboratoire auteur du kit de dépistage qui réalise les analyses : Laboratoire ADNucleis

2- Société qui commercialise le cocktail oligo-éléments et huiles essentielles : Solu'Nature SAS

Oligo-éléments	Colonie mère B	Colonie fille 23
Se	0,003	0,004
Mn	1,532	2,98
Zn	0,988	2,614
Cu	0,237	0,524

Tableau 8 - Distribution des oligo-éléments à colonie fille

**Photo 1** - Des garanties sanitaires sur le portage de pathogènes seraient les bienvenues dans le négoce des abeilles, dans le statut des colonies faisant l'objet de protocoles expérimentaux, dans les lignées soumises à sélection ou dans l'analyse de certaines pratiques apicoles comme la transhumance...

