

Etude des cas de Loque Européenne « atypique » : résultats et perspectives

Julien Vallon (ITSAP-Institut de l'abeille, UMT PrADE), Laurianne Paris et Stéphanie Franco (Anses, Sophia Antipolis, UMT PrADE)

Après 3 années de recueils d'échantillons de couvain atteint de loque européenne avec un caractère « atypique », l'Anses a sélectionné 22 prélèvements provenant de 18 ruchers où la maladie présentait un caractère récurrent d'une année à l'autre. Cette étude exploratoire a permis une description fine des signes cliniques et l'identification de certains facteurs susceptibles de favoriser la maladie grâce à un questionnaire associé au protocole. Enfin, l'ITSAP a interrogé les apiculteurs à propos des interventions réalisées sur les colonies symptomatiques de 2018 et sur l'évolution de la maladie dans le cheptel en 2019, afin d'identifier les bonnes pratiques dans la gestion des colonies atteintes. Nous présentons ici les résultats après deux années d'études qui complètent les premiers résultats déjà communiqués au printemps 2019.

Genèse et développement du projet :

Le projet ECLEA (Etude des Cas de Loque Européenne Atypique) réalisé dans le cadre de l'UMT PrADE fait suite à de nombreux témoignages d'apiculteurs concernant des cas de loque européenne particulièrement virulents : persistance de signes cliniques, cas récurrents d'une année à l'autre et/ou impact important de la maladie sur la santé et la productivité des colonies. Alors qu'un phénomène similaire était décrit en Suisse, aux États-Unis et en Italie, l'Anses a initié cette première étude de la situation en France. L'objectif était de caractériser les cas sur le plan i) clinique : recherche de l'agent causal et descriptions lésionnelles, ii) épidémiologique : identification des situations ou des pratiques favorables, et iii) microbiologique : identification d'autres agents pathogènes présents afin de distinguer d'éventuels facteurs de risque pouvant être associés à la maladie.

Les objectifs et besoins de l'étude ont été communiqués aux apiculteurs sur le blog de l'ITSAP, par le réseau national des ADA et ADA France, via le réseau des GDS et GDS France, ainsi qu'aux vétérinaires apicoles via la SNGTV ou la presse spécialisée (Halfon, 2018, 2019). Tous les signalements reçus par l'Anses ont fait l'objet d'une validation de l'intérêt du cas avant un prélèvement et l'envoi d'échantillon : un cadre de couvain présentant les signes cliniques recherchés (couvain « en mosaïque » présentant des larves mortes dans les cellules), accompagné d'un questionnaire visant à caractériser l'ampleur du phénomène aux niveaux de la colonie prélevée et du cheptel, ainsi que les conditions d'apparition. L'Anses a pris en charge l'envoi des prélèvements et l'analyse des cadres symptomatiques : examen visuel et analyse bactériologique microscopique, avec si besoin confirmation par analyse moléculaire (PCR) pour le diagnostic des agents des loques européenne et américaine. En retour, le résultat de l'analyse bactériologique a été communiqué gratuitement aux apiculteurs participants. Les coûts inhérents aux visites et aux prélèvements ont été pris en charge par les opérateurs réalisant les visites. Pour faire suite à ces analyses, une enquête téléphonique a été réalisée en 2019 par l'ITSAP auprès de sept des dix apiculteurs toujours en activité ayant participé à l'étude en 2018, afin de connaître les actions de gestion mises en place, et de comprendre si celles-ci permettaient de juguler la maladie dans leur cheptel.

Origine des cas recensés au cours de l'étude

En 2017, année de mise en place des collectes de cadres symptomatiques, seuls deux cas ont été transmis à l'Anses tandis que des témoignages faisaient état de troubles plus répandus dans certaines régions de France métropolitaine. Les modalités de l'étude ayant évolué par la suite, ces deux cas n'ont

¹ <http://blog-itsap.fr/etude-cas-de-loque-europeenne-atypique-eaclea-premiers-resultats-de-lanalyse-cas-remontes-2018/>

pas été intégrés dans ce bilan dans un souci de cohérence des résultats présentés. Après trois ans, et une communication active dans les réseaux apicoles, la presse et les événements techniques vétérinaires, le nombre total d'échantillons collectés est de 46 cadres provenant de 37 ruchers, avec une augmentation régulière de la collecte au cours de l'étude (Figure 1). A l'exception d'un cas qui s'est révélé être un cas de maladie du couvain sacciforme (*Sac Brood Virus / SBV*), les analyses ont confirmé la présence de l'agent étiologique de la loque européenne, la bactérie *Melissococcus plutonius*, dans tous les prélèvements réalisés. La carte des prélèvements présentée en **Erreur ! Source du renvoi introuvable. ne représente en aucun cas la répartition de la loque européenne, atypique ou non, en France**, mais bien les départements dans lesquels des apiculteurs ont participé de manière volontaire à l'étude. Des précédents témoignages font, par exemple, écho de cas de « couvain morveux » régulièrement observés dans le sud-est de la France quand un seul cas issu de cette région est remonté au cours des trois années de l'étude.

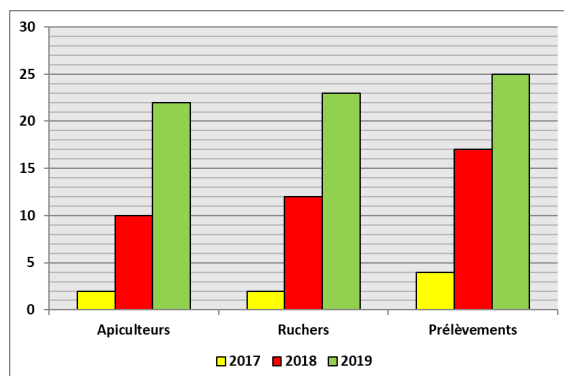


Figure 1. Nombre d'apiculteurs participants, de ruchers visités et de prélèvements effectués dans le cadre d'ECLEA

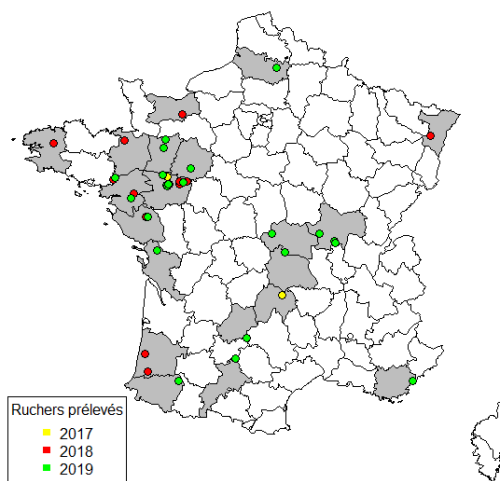


Figure 2. Localisation des ruchers prélevés dans le cadre de l'étude ECLEA.

En gris : les départements où des prélèvements ont été réalisés au cours des 3 années de l'étude.

Les divers réseaux de communication ont permis de toucher les deux catégories d'apiculteurs : environ la moitié des participants à l'étude (48%) pratiquent l'apiculture de loisir, 39% sont apiculteurs professionnels et 13% semi-professionnels.

Virulence des cas recensés et catégorisation des échantillons récoltés

Bien qu'il soit difficile de définir le caractère atypique des cas de loque européenne (du fait de l'absence de description claire de ces types de cas principalement caractérisés par leur caractère récurrent), une catégorisation a été établie pour distinguer plusieurs profils dans les échantillons sur la base de critères observés à l'échelle du cheptel (Tableau 1).

Tableau 1. Définition des catégories d'échantillons de l'ECLÉA, nombre d'échantillons et provenance.

	Réurrence des signes cliniques	1 ^{ère} année d'observation des signes cliniques
30 % ou plus de colonies atteintes	Catégorie 1 : 7 échantillons provenant de 6 ruchers.	Catégorie 3 : 5 échantillons provenant de 5 ruchers.
Moins de 30 % de colonies atteintes	Catégorie 2 : 15 échantillons provenant de 12 ruchers.	Catégorie 4 : 9 échantillons provenant de 9 ruchers.

Seuls les échantillons positifs pour la loque européenne² et présentant un caractère récurrent ont été considérés comme « atypiques », ce qui n'a pas pu être établi pour les échantillons des catégories 3 et 4, puisque les signes cliniques étaient alors observés pour la première fois dans ces ruchers. Le bilan des cas de loque européenne « atypique » qui suit est ainsi basé sur 22 prélèvements en provenance de 18 ruchers différents.

Le **caractère récurrent** peut être considéré de plusieurs façon : des symptômes observés chaque année (pour 80% des 18 ruchers considérés) ou sur le même emplacement (56% des ruchers), voire sur les mêmes colonies (38% des ruchers). Les premières observations remontent parfois à plus d'une dizaine d'années. Dans la majorité des ruchers (56%) peu de colonies, c'est à dire moins de 10%, sont atteintes, mais parfois (6% des ruchers) ce sont plus de la moitié des colonies d'un même rucher qui sont touchées.

D'après les apiculteurs, les colonies malades expriment une **perte de population** plus ou moins importante en fonction du développement de la maladie. Dans notre étude, la dépopulation ne concerne, pour 40% des ruchers, que 10% des cadres de couvain mais elle peut parfois être sévère et toucher jusqu'à 50 à 60 % des abeilles et 50 à 70 % des cadres de couvain (pour 16% des ruchers). Dans la majorité des cas, le degré d'atteinte du couvain est élevé et concerne une grande partie des cadres : 80% des colonies prélevées présentaient plus de la moitié et jusqu'à la totalité des cadres de couvain touchés.

Description des lésions du couvain

Les **lésions du couvain ouvert** sont celles classiquement décrites dans les symptômes de la loque européenne : une consistance molle et gluante des cadavres de larves, généralement de couleur marron. Dans près de la moitié des cas, les larves ont une position anormale dans la cellule. Cependant, les larves peuvent parfois (37% des cas) présenter un aspect filant selon le « test de l'allumette », similaire à celui des larves atteintes de loque américaine. Les cadres présentent simultanément des larves filantes et non filantes une fois sur quatre. Des écailles, résultant du dessèchement complet de la larve morte sur la paroi de la cellule, peuvent être présentes (18% des lésions observées).

Bien que la loque européenne soit décrite comme une maladie touchant principalement le couvain ouvert, l'examen du **couvain fermé** a montré plusieurs lésions qui pourrait être confondantes avec celles de la loque américaine : la présence de cadavres de larves de consistance gluante et de couleur marron, sous des opercules affaissées et percées, sont des lésions généralement attribuées à la loque américaine. Le caractère filant des larves mortes sous l'opercule ne concerne qu'une partie des cas (33%) et il est possible de trouver des larves filantes et non filantes dans le couvain operculé du même cadre (19% des cas). En revanche, aucun couvain analysé ne présentait d'écaille à l'intérieur des cellules operculées.

² ...et négatifs pour la loque américaine : ainsi un cas de co-infection par les deux types de loque a été observé et écarté de l'étude.

Résultats des analyses bactériologiques

Bien entendu, puisque qu'il s'agissait d'un des critères de sélection des cas retenus dans l'étude, la bactérie *M. plutonius* a été détectée en microscopie dans le couvain ouvert de la totalité des cadres, mais aussi dans la grande majorité du couvain fermé analysé (95% des larves atteintes). La bactérie *Paenibacillus alvei* (agent saprophyte qui se multiplie de façon secondaire en cas de loque européenne, non impliqué dans le déclenchement de la maladie) a également été identifiée dans la plupart des échantillons (77%) et pourrait être à l'origine de l'odeur particulière et difficile à identifier que présentaient certains couvains analysés. D'autres bactéries ont été observées mais n'ont pu être identifiées en microscopie.

Etude des facteurs de risque potentiels en lien avec l'environnement et les ressources alimentaires

Le contexte environnemental des ruchers atteints a été décrit par les apiculteurs dans le questionnaire accompagnant les échantillons, qui reprenait les principaux facteurs de risque connus pour la loque européenne. Ainsi, bien que la moitié des ruchers prélevés n'étaient pas situés dans un **environnement particulièrement « froid et humide »**, ceux qui l'étaient concernaient uniquement des échantillons de la catégorie 1, c'est-à-dire issus de cas récurrents et particulièrement impactant en termes de nombre de colonies atteintes. Par ailleurs, le **manque de ressources** n'a pas été identifié comme un facteur de risque dans les cas étudiés : ni par les apiculteurs, ni au cours de l'observation des cadres de couvain qui présentaient des réserves en miel et/ou en pollen. Enfin, les signes cliniques ont pu être constatés tout au long de la **saison** : toujours au printemps, parfois en été et plus rarement en automne.

Le **type d'abeille** élevé ne semble pas influencer la maladie puisque, d'après l'appréciation visuelle du phénotype faite par les apiculteurs, un tiers des colonies est décrit comme de race « Buckfast », un tiers comme de type « hybride », et environ 20% de « Noires ».

Influence des pratiques sanitaires appliquées pour la gestion des colonies touchées

La gestion des cas fait appel à plusieurs approches diversement partagées par les apiculteurs ayant fait remonter des cas récurrents (catégories 1 et 2) : transvasement, isolement du reste du rucher, nourrissage des colonies, retrait et destruction des cadres de couvain atteints, voire destruction des colonies atteintes. Les interventions semblent mises en œuvre de façon couplée et successivement selon l'état de la colonie, ainsi qu'en fonction des moyens disponibles pour l'apiculteur. En 2019, nous avons donc voulu décrire plus précisément ces mesures de gestion sanitaire et faire un suivi de l'état des colonies malades lorsqu'elles ont été conservées. Des entretiens téléphoniques avec l'ensemble des participants (catégories 1 à 4) à l'étude en 2018, et encore en activité en 2019, ont ainsi été conduits, soit sept apiculteurs répartis en deux groupes bien distincts : le premier regroupait quatre apiculteurs appartenant aux catégories 1 et 2 et possédant un cheptel important (de 90 à 2500 colonies³, réparties sur 7 à 30 ruchers dont plus de la moitié étaient touchés par la loque européenne) ; Le second groupe comportait trois apiculteurs (catégories 3 et 4) possédant 30 colonies ou moins, réparties sur 1 à 3 ruchers dont un seul était touché.

La découverte de cas symptomatiques entraîne systématiquement la mise en œuvre de mesures de nettoyage et désinfection du petit matériel (lève-cadres, gants) et des ruches, plus ou moins rapidement après la découverte. Il semble que les principales différences en termes de gestion concernent les mesures sanitaires prises en routine. Ainsi, si la plupart des apiculteurs de l'étude emploient des corps de ruche en bois (parfois avec un plancher plastique), et que tous désinfectent de façon routinière à la flamme, la javel ou la soude les éléments des ruches réformées, mais seuls les apiculteurs des catégories 3 et 4 désinfectent régulièrement leur petit matériel apicole (lève cadre, enfumoir...).

³ 2500 colonies élevées pour le compte d'une entreprise de semences avec l'aide d'une équipe de 6 apiculteurs.

La taille du cheptel et les moyens disponibles sont les principaux éléments influençant la rapidité et le type d'intervention : les apiculteurs de la catégorie 1 sont intervenus généralement après avoir attendu que les signes disparaissent à l'occasion de facteurs environnementaux plus favorables (comme le retour d'une miellée), et ont généralement effectué un transvasement associé à un changement de reine, quand les apiculteurs des catégories 3 et 4 sont intervenus dès qu'ils ont pu, en associant un nourrissage à la suite du transvasement. Seules les colonies trop faibles (ou vieillissantes) ont été détruites à la place d'un transvasement.

Il est à noter le cas particulier de l'apiculteur gérant 2500 colonies : il déclare intervenir dès l'apparition des signes cliniques, ce qui est rendu possible grâce à une bonne gestion de l'équipe et, *in fine*, semble indispensable pour écarter tout risque de contamination du reste du cheptel. Par ailleurs, il est le seul à déclarer remplacer 5 à 6 cadres chaque année afin d'assurer une prophylaxie du nid à couvain. Globalement les mesures sanitaires appliquées en routine se veulent tout aussi drastiques du fait de la multiplicité des intervenants : utilisation de gants en plastique jetables, lève-cadres passés à la flamme entre chaque rucher. Ainsi, bien que touché de façon récurrente, il est le seul à avoir moins de 30% de son cheptel atteint.

Autres facteurs possibles d'aggravation

Les entretiens téléphoniques ont également permis de recueillir des informations complémentaires sur les autres facteurs de risque ou d'aggravation de la loque européenne. Tous les apiculteurs, indépendamment de la taille de leur cheptel ou de son degré d'atteinte par la loque, assurent une traçabilité des colonies touchées qui leur permet d'observer, pour quatre d'entre eux, que des essaims tirés de colonies symptomatiques présentent eux aussi des signes cliniques de loque européenne.

Par ailleurs, le traitement défaillant de varroa ou la pression du frelon asiatique sont des facteurs d'affaiblissement des colonies qui peuvent ainsi favoriser le développement de la loque européenne, mais les éléments fournis par les apiculteurs ne permettent pas de les rapprocher des situations les plus virulentes de loque européenne dans notre étude.

Enfin, les apiculteurs déclarent ne pas avoir utilisé d'antibiotique⁴ pour lutter contre les loques dans les dix dernières années.

Devenir des colonies touchées

Malgré les mesures de prophylaxie et de lutte mises en œuvre (transvasement et/ou destruction des colonies symptomatiques, mesures d'hygiène et de désinfection), l'ensemble des apiculteurs interrogés a observé à nouveau des signes évocateurs de loque européenne dans leurs ruchers en 2019 sur environ 10 % de leurs colonies (tous ruchers confondus) : sur des ruchers ou sur des colonies déjà atteintes en 2018, et qui avaient pourtant été transvasées. A l'inverse, certaines colonies ayant été transvasées en 2018 n'ont pas développé de nouveaux signes cliniques en 2019. Néanmoins, malgré la récurrence de cas, la mise en œuvre de mesures sanitaires strictes et précoces semble limiter l'impact de la maladie.

Perspectives de l'étude

Seuls quelques facteurs de risque potentiels ont été investigués pour cette première étude (environnement, quelques facteurs zootechniques). D'autres mériteraient sans doute par la suite d'être d'avantage étudiés (ex : impact de la pression parasitaire par *Varroa destructor*, stress en lien avec la pression de prédation par le frelon asiatique). L'Anses et l'ITSAP ont initié cette démarche *via* la réalisation d'entretiens avec les apiculteurs participants de 2018. Les informations recueillies ne permettent pas de dégager de piste sur ces facteurs de risques.

⁴ Pour rappel : l'usage d'antibiotiques pour le traitement des abeilles et de leur colonie est une pratique actuellement interdite.

La récurrence des cas de loque européenne d'une année sur l'autre semble être un facteur important pour qualifier ces cas de loque européenne « atypique ». Ainsi, réaliser un suivi des cas dans le temps permettrait de mieux comprendre l'efficacité des mesures prises pour éliminer la maladie.

Pour finir, afin de mieux comprendre ces formes de loque européenne « atypique » en France, il serait nécessaire de mener une étude scientifique plus poussée, notamment sur la diversité génétique des souches françaises de *M. plutonius* et leur potentielle virulence, basée sur les travaux précédemment réalisés dans d'autres pays et sur l'utilisation d'outils biomoléculaires et bio informatiques. Par ailleurs, une analyse plus approfondie de l'influence d'autres facteurs en co-exposition (autres agents pathogènes biotiques ou abiotiques) pourrait également être une piste à explorer.

Conclusion

Bien qu'il soit difficile d'extraire des conclusions claires quant à la distinction entre des cas de loque européenne dits « atypiques » et des cas plus classiques, cette étude a permis toutefois de pointer quelques aspects particuliers de cette forme de loque européenne qui pourrait tendre à biaiser son diagnostic sur le terrain et la confondre avec des cas de loque américaine (et *vice versa*). La loque européenne est souvent décrite comme une maladie touchant le couvain ouvert et parfois le couvain operculé. Dans cette étude, tous les prélèvements de couvain positifs pour la loque européenne, et issus de cas récurrents, présentaient des larves atteintes dans le couvain ouvert et fermé. La majorité de ces larves présentaient un caractère filant, ce qui accentue le risque de confusion des deux maladies et montre l'importance d'un diagnostic différentiel en laboratoire.

La présence quasi-systématique de *P. alvei* peut également engendrer des risques de confusion avec la loque américaine en microscopie au laboratoire, les spores de *P. alvei* ayant une morphologie proche de celle de *Paenibacillus larvae* (agent étiologique de loque américaine). Une vigilance particulière doit donc être adoptée lors de l'analyse, et un recours à des techniques de biologie moléculaire (PCR) peut être nécessaire pour confirmer l'identification des spores.

Recommandations sur la gestion des cas :

Concernant l'environnement du rucher, le manque de réserves de pollen ou de miel ne semble pas être une cause majeure du développement de la maladie, mais il n'est cependant pas exclu qu'un environnement froid et humide puisse être un facteur aggravant de la loque européenne et serait donc à éviter lors du choix de l'implantation du rucher, comme le recommandent déjà les bonnes pratiques apicoles.

La question du traitement appliqué aux colonies atteintes, générant des non-valeurs, voire des pertes, et le besoin qu'il soit plus drastique se pose au vu de la difficulté des apiculteurs à éliminer la loque européenne dans leur cheptel. De même, pour éviter la propagation de la maladie au sein de ce dernier, les mesures de désinfection du matériel apicole comme le lève cadre, particulièrement après l'ouverture d'une ruche suspecte, semble être d'autant plus importante. Des informations détaillées sur les modalités de nettoyage des ruches et du matériel utilisé au rucher, en routine ou en cas de signes de maladie, peuvent être consultées dans le Guide des bonnes pratiques apicoles (ITSAP 2014).

Le transvasement des colonies fortes et faiblement atteintes avec secouage des abeilles au pied d'une ruche propre, et la destruction de l'ensemble des cadres de la ruche d'origine peuvent être une mesure d'assainissement (à réaliser au plus tôt, i.e. dès l'apparition des premiers signes de maladie). Dans ce cas, la colonie est à maintenir à l'écart du cheptel sain. Un suivi drastique est également à réaliser à la suite du transvasement, afin de détecter précocement tout nouveau déclenchement de la maladie. Dans les cas les plus graves, ou si un suivi de la colonie post-transvasement ne peut être mis en œuvre, la destruction de la colonie peut être préférable.

Références précédentes au projet sur le Blog ITSAP :

<http://blog-itsap.fr/etude-loque-europeenne-atypique/>

<http://blog-itsap.fr/projet-detude-cas-de-loque-europeenne-atypique-eclea/>

<http://blog-itsap.fr/etude-cas-de-loque-europeenne-atypique-eclea-premiers-resultats-de-lanalyse-cas-remontes-2018/>

Références bibliographiques

Halfon, T. 2018. La loque européenne atypique sous la loupe des chercheurs. Page 34 La Semaine Vétérinaire.

Halfon, T. 2019. La loque européenne atypique pose toujours question. Page 30 La Semaine Vétérinaire.

ITSAP. 2014. Guide des bonnes pratiques apicoles. Institut Technique et Scientifique de l'Apiculture et de la Pollinisation.