

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Loque américaine: une maladie bactérienne du couvain de l'Abeille mellifère

Eva Forsgren*

* Auteur correspondant : eva.forsgren@slu.se

Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Ecology, Uppsala, Suède

Résumé

La loque américaine, due à *Paenibacillus larvae*, est une maladie bactérienne sévère du couvain de l'Abeille mellifère. La loque américaine n'est pas seulement létale pour les larves individuellement, mais potentiellement aussi pour les colonies infectées. La bactérie est globalement enzootique chez l'Abeille mellifère et est transmise par les mouvements des matériels de la ruche et des abeilles. Dans de nombreux pays européens, la maladie est contrôlée par la destruction par le feu des colonies symptomatiques et la mise en place de pratiques apicoles pour éviter la dissémination de l'agent infectieux aux ruches saines. Cet article traite de certaines stratégies de contrôle et de prévention de cette maladie dévastatrice.

Mots-clés

Loque américaine, *Paenibacillus larvae*, abeille mellifère, quarantaine

Abstract

American foulbrood – a bacterial disease in honeybee brood

American foulbrood (AFB), caused by Paenibacillus larvae, is a severe bacterial brood disease of honeybees. AFB is lethal not only to individual larvae but also potentially lethal to infected colonies. The pathogen is enzootic to honeybees world-wide and is readily transmitted via the movement of hive equipment or bees. In many European countries, the disease is controlled through burning of symptomatic colonies and the use of beekeeping management techniques to avoid the spread of the infectious agent to uninfected hives. This text discuss some key points of the control and prevention strategies of this devastating disease.

Keywords

American foulbrood, Paenibacillus larvae, Honeybee, Quarantine

La loque américaine (AFB, de l'anglais American foulbrood) de l'Abeille mellifère est une maladie bactérienne contagieuse très largement répandue à travers le monde, qui cause des pertes économiques considérables dans le monde apicole (Genersch, 2008). La maladie est classée à déclaration obligatoire dans la quasi-totalité des pays du monde. La maladie n'affecte que les stades larvaires de l'Abeille mellifère (*Apis* spp). La loque américaine est très infectieuse, létale pour la larve d'abeille au niveau individuel, et potentiellement létale pour la colonie infectée. Dans l'Union européenne (UE), la loque américaine est une maladie à déclaration obligatoire, dans le cadre des obligations commerciales et d'exportation (directive 92/65/CEE). Dans de nombreux pays européens, la maladie est contrôlée par la destruction par le feu des colonies symptomatiques et la mise en place de pratiques apicoles pour la dissémination de l'agent infectieux aux ruches saines. La législation actuelle ne permet pas aux apiculteurs européens d'utiliser des antibiotiques, car il n'y a pas de limite maximale de résidus (LMR) fixée pour les antibiotiques utilisés dans le contrôle de l'AFB (oxytétracycline et tylosine). Par conséquent, aucun antibiotique ne peut être légalement utilisé, car il y a une tolérance zéro pour les résidus d'antibiotiques dans le miel (Anonymous, 2010a).

Biologie

La maladie est due à la bactérie sporulée *Paenibacillus larvae*, qui produit des exospores extrêmement résistantes à la déshydratation, à la chaleur, au froid et aux agents désinfectants. Les spores sont la seule forme de la bactérie qui peut rester infectieuse sur un matériel contaminé pendant des dizaines d'années (Genersch, 2010). Les jeunes larves sont infectées lorsqu'elles sont nourries avec des aliments contaminés par des spores de *P. larvae*. Les spores pénètrent dans la lumière de l'intestin moyen et y germent, puis elles se multiplient avant d'atteindre l'épithélium de l'intestin moyen, de l'envahir et de tuer la larve (Yue et al., 2008). Les bactéries continuent à se multiplier dans le tissu de la larve morte jusqu'à ce que son cadavre soit intégralement décomposé en une masse brunâtre, filandreuse et collante (Figure 1). Lorsqu'elle a consommé l'essentiel des nutriments du cadavre de la larve, *P. larvae* sporule et la masse collante se dessèche jusqu'à n'être plus qu'une écaille au fond de la cellule du couvain. Une écaille desséchée contient plus de deux milliards de spores bactériennes contagieuses. La production massive de spores extrêmement persistantes dans les colonies infectées rend très difficile le contrôle de la maladie.



Figure 1. Test de l'allumette. Larve infectée retirée avec une allumette. Photo: S Camazine

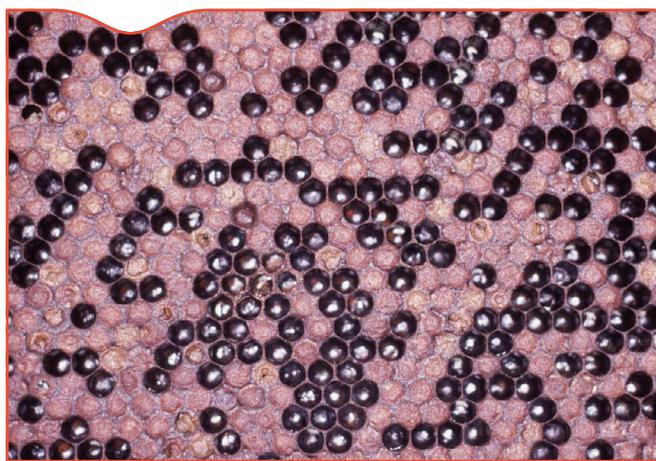


Figure 2. Couvain inégal ou dit « en mosaïque ». Photo: H. Hansen



Figure 3. Écailles séchées de loque américaine. Photo: P. Kristiansen

Seules les jeunes larves sont infectées et elles sont plus sensibles à l'infection au cours des douze à 36 heures suivant l'éclosion. Une larve infectée meurt dans un délai de sept à douze jours et, le plus souvent, les larves meurent après que la cellule a été operculée, ce qui rend plus difficile pour les abeilles la détection et l'élimination du couvain malade (Genersch, 2010).

La quantité de spores nécessaire pour causer une maladie clinique dans une colonie d'abeilles est très variable. On peut retrouver un grand nombre de spores dans le miel, les débris de la ruche ou sur les abeilles adultes sans qu'il n'y ait de signe clinique d'infection. Il n'existe pas de corrélation simple entre la quantité de spores de *P. larvae* présentes dans les colonies d'abeilles adultes et la déclaration clinique de la loque américaine (Hansen & Brødsgaard, 1999). Il peut y avoir plusieurs raisons expliquant que certaines colonies succombent à l'infection, tandis que d'autres non, mais ces différences reposent principalement sur la capacité des abeilles à éliminer les larves malades. Il s'agit d'un trait génétique qui, dans une certaine mesure, peut être développé en élevage. D'autres facteurs influent sur la diffusion de la maladie, notamment les pratiques apicoles, comme l'utilisation d'anciens cadres de cire ou d'autres matériels usagés, potentiellement contaminés. Les facteurs de stress, tels que l'altération de la répartition des âges (changements de la proportion d'abeilles adultes par rapport au couvain) ou un manque de nectar et de pollen, peuvent contribuer à l'apparition des signes cliniques de la maladie dans les ruches ayant un risque élevé d'infection (par ex. charges élevées de spores bactériennes).

Diagnostic

Inspection visuelle et diagnostic sur le terrain

L'inspection des cadres nécessite de rechercher visuellement des signes de loque américaine sur tous les cadres de la ruche. Dans les colonies malades, le couvain est inégalement réparti, avec des opercules enfoncés, perforés ou plus foncés (Figure 2). La consistance des larves et des pupes tuées par la loque est flasque, collante, de plus en plus filandreuse et brunâtre. Le diagnostic des cellules suspectes peut se faire à l'aide du test de l'allumette. Pour réaliser le test, il faut introduire un petit bâton (par ex. le bout d'une allumette) dans la larve ou la puce suspecte, mélanger et retirer délicatement l'allumette. Si le couvain est malade, les tissus retirés auront l'aspect d'un fil fin (Figure 1). Le cadavre de larve collant finira pas se dessécher en écailles foncées, qui adhèrent aux parois de la cellule et qui sont difficiles à éliminer pour les abeilles (Figure 3). Pour cette raison, il vaut toujours mieux rechercher également la maladie dans les cellules operculées, lorsque l'on est alerté par l'aspect des cellules voisines plus anciennes.

Diagnostic en laboratoire

Le diagnostic de la loque américaine en laboratoire repose normalement sur l'examen d'échantillons de cadre de couvain. Dans les cellules du cadre de couvain, on recherche les signes à l'examen visuel, et dans les restes de larves suspects, on recherche la présence des spores bactériennes au microscope. Pour confirmer la présence de *P. larvae*, l'échantillon de larves/pupes suspectes peut être mis en culture dans un milieu de culture artificiel et les colonies bactériennes suspectées peuvent être identifiées par des techniques biochimiques ou moléculaires. Il est également possible de déterminer si *P. larvae* est présent dans une colonie, sans couvain. La bactérie peut être mise en culture à partir d'échantillons d'abeilles adultes, de miel, de cire et de débris de la ruche. Il convient de souligner que la présence de spores bactériennes dans la colonie n'entraîne pas nécessairement chez les larves la présence de signes cliniques. Ce type d'infection, non détectable visuellement, est appelé infection infraclinique ou inapparente. À des niveaux infra-cliniques, la présence de *P. larvae* peut être détectée par culture bactérienne ou par des méthodes

moléculaires à partir d'échantillons de miel, d'abeilles adultes et de débris de la ruche. Par exemple, en République Tchèque et en Finlande, on utilise la mise en culture de la bactérie, à partir de miel et de débris, pour la surveillance programmée de la loque américaine. Les résultats chez des colonies malades au stade clinique montrent que la valeur pronostique de la numération bactérienne dans des échantillons d'abeilles est plus fiable que la numération bactérienne à partir des débris et du miel, et que les méthodes de mise en culture sont plus précises pour détecter les colonies malades que les méthodes moléculaires ayant récemment fait l'objet de publications. Cependant, si l'objectif est de surveiller la présence de la bactérie, quels que soient les signes, la meilleure méthode est clairement de réaliser des recherches moléculaires sur des débris de ruche accumulés pendant l'hiver (Nordström et al., 1995; Forsgren et al., 2014).

Dissémination

Au sein de la colonie

La dissémination de *P. larvae* au sein de la colonie d'abeilles se fait principalement via les abeilles nourricières qui nourrissent les larves avec des aliments contaminés. Ces abeilles non seulement alimentent les larves, mais éliminent également le couvain, dont la mort a été causée par la loque américaine, et contaminent ainsi les aliments des larves avec des spores bactériennes provenant de leur région buccale. Les cellules de couvain vides qui ont contenu des larves mortes de la maladie peuvent réinfecter une nouvelle larve, même si les abeilles ont nettoyé la cellule.

Entre les colonies

La propagation naturelle de *P. larvae* entre les colonies se produit par la dérive et le vol d'abeilles porteuses de spores bactériennes. La transmission entre les colonies est plus fréquente dans les zones où la densité de ruches est importante, car les pratiques apicoles facilitent la propagation de l'agent pathogène entre les colonies. En plus de ces voies « naturelles » de transmission, les pratiques apicoles courantes, comme le transport et la réutilisation de matériel apicole contaminé et le transfert d'abeilles, représentent des voies de transmission beaucoup plus importantes. Tout le matériel qui a été en contact avec des colonies malades est potentiellement infectieux s'il n'a pas été correctement décontaminé. Les hausses extraites sont les parties le plus souvent échangées entre les ruches et sont probablement l'une des principales sources de propagation de la maladie. Le miel peut contenir un grand nombre de spores bactériennes et représente une source d'infection bien connue. Le miel et le pollen provenant d'une colonie malade peuvent être une source d'infection s'ils sont donnés à d'autres colonies. Les abeilles dans les essaims de colonies infectées sont également porteuses de spores de *P. larvae*, mais le risque de développer des signes de la maladie est faible si les abeilles sont transférées sur de la cire gaufrée propre (Fries et al., 2006).

Il est important, pour les apiculteurs, de garder à l'esprit que l'agent infectieux, les spores bactériennes, peut être présent dans une colonie d'abeilles sans qu'il n'y ait aucun signe visible de la maladie. Toutefois, cela ne signifie pas pour autant que des spores bactériennes sont présentes dans toutes les colonies ou tous les ruchers. Les résultats d'une étude nationale récente menée en Suède sur des échantillons composites d'abeilles adultes provenant de ruchers sélectionnés de façon aléatoire ont montré que *P. larvae* pouvait être détecté dans 6 % des ruchers sélectionnés (Forsgren et al., 2017; Figure 4). La prévalence de la loque américaine au stade clinique au cours des dix dernières années est restée stable, à 0,5-1,0 % du nombre total estimé de ruchers, d'après les rapports des inspecteurs apicoles en Suède. La prévalence totale de la loque américaine au stade clinique observée dans les pays participant au programme pan-européen de surveillance Epilobee était également faible, soit 2,36 et 1,88 %,

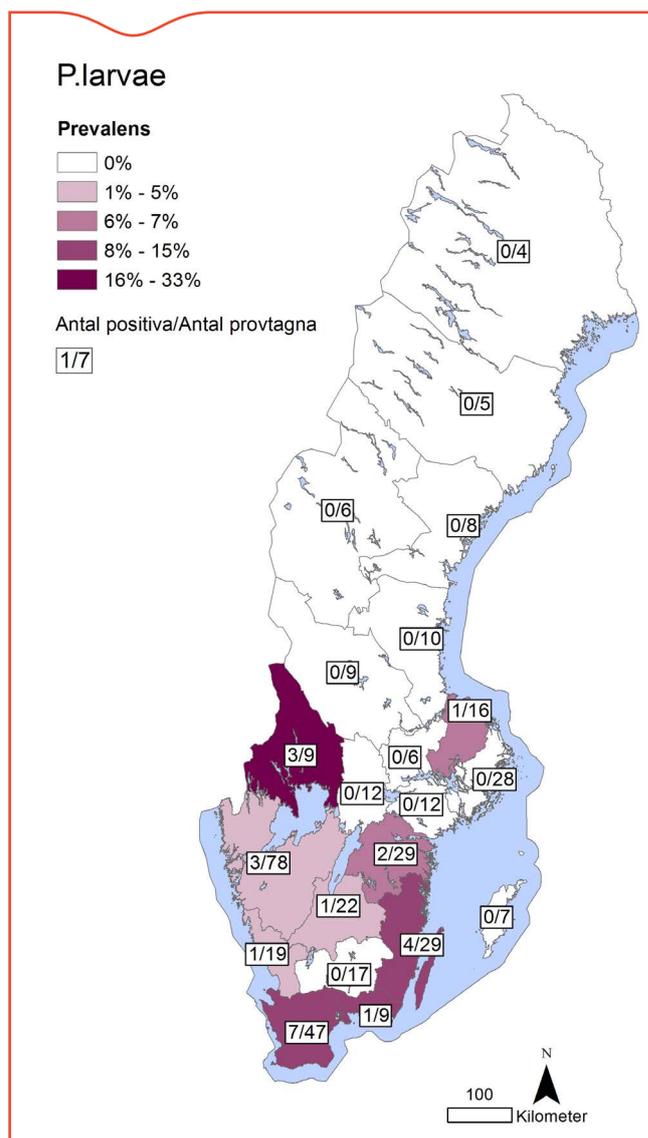


Figure 4. Prévalence de *Paenibacillus larvae* dans les ruchers en Suède (loque américaine au stade infraclinique). Illustration: Linda Svensson, National Veterinary Institute

respectivement au printemps et en été (Chauzat et al., 2016). Cependant, la Suède, tout comme la France, ne met en œuvre qu'une surveillance clinique fondée sur la déclaration des cas par les apiculteurs, ce qui entraîne inévitablement une sous-estimation de la véritable incidence. En France, une étude en 2012 a montré que plus de 10 % des ruchers inspectés étaient touchés par la loque américaine (Chauzat et al., 2015).

Lutte

La loque américaine est une maladie à déclaration obligatoire dans l'UE, et à ce titre, doit être signalée aux autorités compétentes; des mesures de lutte doivent également être mises en œuvre, conformément à la législation du pays. Ces mesures sont notamment la destruction par le feu des colonies infectées et du matériel de la ruche. En Suède, la destruction par le feu des abeilles et des cadres provenant des colonies infectées se fait sous la supervision d'inspecteurs apicoles nommés par les conseils régionaux. Cette procédure a permis de réduire considérablement l'incidence de la loque américaine depuis qu'elle a été mise en place au milieu des années 1970. Conformément à la législation européenne (Anonymous 1992), toutes les colonies présentant des signes visibles doivent être brûlées et toutes les ruches dans un rayon de trois kilomètres doivent être inspectées. En Suède, le matériel apicole, comme par exemple

le matériel de la ruche, peut être retiré pour être correctement désinfecté, mais il est interdit de déplacer les abeilles du rucher. L'autorisation de déplacer les abeilles peut être accordée au bout de deux mois au plus tôt, et après une nouvelle vérification de l'absence de la maladie.

Destruction des colonies atteintes de loque américaine

L'entrée d'une ruche malade doit être condamnée, de préférence la nuit, avant de tuer les abeilles de la colonie. Une fois l'ouverture hermétiquement fermée, il suffit de verser de l'essence sur les têtes de cadres pour tuer les abeilles. Il faut attendre 10 à 15 minutes afin que les vapeurs d'essence tuent toutes les abeilles, mêmes celles qui ne sont pas en contact avec l'essence. En Belgique et en France, ainsi que dans d'autres pays de l'UE, les abeilles sont généralement tuées avec des vapeurs de dioxyde de soufre à l'aide de mèches soufrées ou d'aérosols (Anonymous, 2010b). Les abeilles doivent ensuite être brûlées avec le couvain et les cadres de miel de la colonie malade.

Stérilisation du matériel de la ruche

Il est primordial que l'équipement de la ruche des colonies malades soit soigneusement nettoyé, car les spores de *P. larvae* sont extrêmement résistantes et peuvent rester infectieuses pendant des dizaines d'années. Dans de nombreux pays, il est pratique courante de noircir le bois de la ruche au chalumeau. Le matériel doit être gratté avant d'être noirci ou avant d'être lavé avec une solution à 5 % d'hypochlorite de sodium dans de l'eau. L'hypochlorite de sodium peut être utile pour traiter les matériaux de la ruche en plastique, en métal et en bois. Il est recommandé de faire hiverner toutes les autres colonies du rucher touché sur une nouvelle cire gaufrée et avec du matériel de ruche soigneusement désinfecté. Il est également recommandé de changer tous les cadres retirés du rucher infecté.

Prévention

Les colonies d'abeilles mellifères robustes et non exposées à des stress inutiles ont de meilleures chances d'éliminer le couvain malade. Dans certaines colonies, l'apiculteur peut même ne jamais

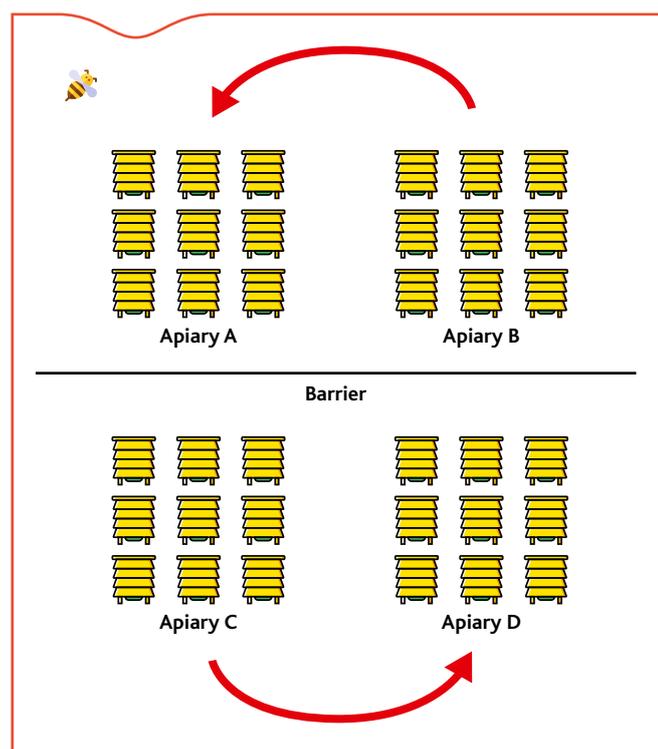


Figure 5. Mise en quarantaine de la zone. Les deux parties sont gérées séparément, sans déplacer les équipements de l'une à l'autre

se rendre compte qu'une larve ou une puppe malade a été produite. Les abeilles ouvrières peuvent les retirer assez efficacement pour éliminer l'infection de la colonie ou *a minima* à un degré où la maladie n'arrive pas au stade clinique. Certaines abeilles montrent des capacités supérieures à d'autres en matière de désoperculation et de retrait; ainsi, élever des abeilles qui présentent ces caractéristiques est le moyen le plus pratique d'améliorer le comportement hygiénique. Le risque pour l'apiculteur réside en ce que, même si certaines colonies parviennent à éliminer complètement la maladie, pour d'autres, il ne s'agira que d'un sursis. L'apiculteur peut diminuer le risque de récurrence de la maladie en renouvelant régulièrement la cire et par d'autres méthodes d'hygiène. La cire des colonies malades de la loque américaine peut contenir un grand nombre de spores bactériennes, cependant, la plupart sont éliminées en faisant fondre et en transformant la cire en cire gaufrée (Gochnauer, 1981). La prise en charge de la maladie, notamment le renouvellement de la cire, peut permettre de diminuer la charge de spores, le risque d'infection et les cas de récurrence dans une exploitation apicole.

Mise en quarantaine

La mise en quarantaine reste un moyen efficace pour limiter et, à terme, éliminer la loque américaine. Ce terme décrit l'isolement du matériel contaminé afin d'empêcher la propagation d'une maladie. C'est un moyen éprouvé de contrôle des maladies, tant chez l'Homme que chez l'animal, qui a fait la preuve de son efficacité pour la loque américaine (Goodwin, 1999).

Mise en quarantaine de la ruche

La mise en quarantaine de la ruche consiste à interdire tout échange de matériel entre les ruches. Un code numérique ou alphabétique est attribué à chaque ruche et tout l'équipement nécessaire est marqué de ce code. Ensuite, plus aucun équipement ne peut être échangé entre les ruches.

Mise en quarantaine du rucher

La mise en quarantaine du rucher consiste à gérer séparément chaque rucher, sans aucun échange de matériel entre eux. Un code numérique ou alphabétique est attribué à tout l'équipement du rucher et une fois marqué, il reste dans ce même rucher. La mise en quarantaine du rucher est une pratique habituelle dans certaines exploitations apicoles et est plus rapide à mettre en œuvre que la mise en quarantaine des ruches. Si une maladie survient, elle touchera probablement les ruches d'un seul rucher et non l'ensemble de l'exploitation.

Mise en quarantaine de la zone

La mise en quarantaine d'une zone consiste à diviser l'exploitation apicole en deux parties. Une partie comprend les ruchers qui ont des antécédents de loque américaine et l'autre partie comprend les ruchers qui n'ont jamais été touchés. Les deux parties sont gérées séparément, sans déplacer les équipements de l'une à l'autre (Figure 5).

Perspectives

L'utilisation d'antibiotiques pour le contrôle de la loque américaine, comme c'est la pratique aux États-Unis, au Canada et dans plusieurs autres pays, n'est pas une solution durable car cela n'élimine pas les spores bactériennes responsables de l'épizootie, mais masque simplement les signes de la maladie. Il a été estimé que dans les régions où les antibiotiques sont utilisés, 10 à 20 % des colonies infectées par la loque américaine meurent de la maladie, si le traitement antibiotique est arrêté ou est devenu inefficace en raison du développement d'une résistance aux antibiotiques (Cantwell, 1980).

Les techniques apicoles pour éviter la propagation de la maladie à d'autres colonies et à d'autres zones, complétées par la destruction des colonies d'abeilles symptomatiques, constituent un moyen

plus durable de contrôler la loque américaine. Des programmes de surveillance programmée, comme ceux basés sur le dépistage de spores de *P. larvae* dans les ruches, sont mis en œuvre dans certains pays européens. Ces programmes apportent des informations plus fiables et plus complètes sur la prévalence, l'incidence et la répartition géographique de l'agent pathogène et son potentiel épizootique, que la surveillance événementielle, basée uniquement sur la clinique et les déclarations spontanées. La surveillance événementielle est basée sur la déclaration spontanée par les apiculteurs de la maladie au stade clinique; par conséquent, elle dépend de facteurs tels que le niveau de formation, les pratiques apicoles ou des facteurs économiques et sociaux, ce qui a pour effet que le nombre de cas signalé est inférieur à la véritable incidence. Une meilleure connaissance de la maladie (ses signes, ses conséquences et les mesures de lutte réglementaires), associée à une indemnisation réaliste pour les apiculteurs concernés pourrait permettre de réduire cette tendance à sous-déclarer la loque américaine aux autorités sanitaires. Des données plus précises sur la prévalence, l'incidence et la distribution de la loque américaine au niveau national ainsi qu'à l'échelle européenne, fourniraient aux autorités une meilleure base pour améliorer les statuts juridiques et les directives en matière de prévention et de contrôle de la loque américaine.

Références bibliographiques

- Anonymous, 1992. The EU council directive 92/65/EEC.
- Anonymous, 2010a. The EU commission regulation 37/2010 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuff of animal origin.
- Anonymous, 2010b. Directives techniques (OFE; RS 916.401) fixant les mesures à prendre en cas d'épizootie de loque américaine des abeilles. Office vétérinaire fédéral OVF, Switzerland.
- Cantwell, G. E. 1980. The use of ethylene oxide to fumigate honeybee equipment in the US and Canada during the 1970s. *Am Bee J* 120: 840-843.
- Chauzat, M-P., Jacques, A., EPILOBEE consortium, Laurent, M., Bougeard, S., Hendrikx, P., Ribière-Chabert, M. (2016). Risk indicators affecting honeybee colony mortality in Europe: one year of surveillance. *Apidologie* 47:348–378.
- Chauzat, M-P., Saussac, M., Kant, V., 2015. Résabeilles – Bulletin No. 3. (Online: http://www.plateforme-esa.fr/index.php?option=com_content&view=article&id=527:resabeilles-bulletin-nd3&catid=1:latest-news).
- Forsgren, E., Laugen, A.T. 2014. Prognostic value of using bee and hive debris samples for the detection of American foulbrood disease in honey bee colonies. *Apidologie* 45: 10-20.
- Forsgren, E., Fabricius-Kristiansen, L., Hallgren, G., Frössling, J. (2017). Sjukdomar hos honungsbin-en baslinjestudie. *Bitidningen* 116, 7/8: 10-13.
- Fries, I., Lindström, A., Korpela, S. 2006. Vertical transmission of American foulbrood (*Paenibacillus larvae*) in honeybees. *Vet Microbiol* 114: 269-274.
- Genersch, E. 2008. *Paenibacillus larvae* and American foulbrood – long since known and still surprising. *J Consum Protect Food Safety* 3: 429-434.
- Genersch, E. 2010. American foulbrood in honeybees and its causative agent *Paenibacillus larvae*. *J Invert Pathol* 103: S10-S19.
- Gochnauer, T. A. 1981. The distribution of *Bacillus larvae* spores in the environs of colonies infected with American foulbrood disease. *Am Bee J* 121: 332-335.
- Goodwin, M. 1999. Elimination of American foulbrood disease without the use of drugs. National Beekeepers' Association of New Zealand, Naiper, New Zealand.
- Hansen, H., Brødsgaard, C. 1999. American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. *Bee World* 80 (1): 5-23.
- Nordström, S., Forsgren, E., Fries, I. 2002. Comparative diagnosis of American foulbrood using samples of adult honey bees and honey. *J Api Sci* 46, 5-13.
- Yue, D., Nordhoff, M., Wieler, L. H., Genersch, E. 2008. Fluorescence in situ-hybridization (FISH) analysis of the interactions between honeybee larvae and *Paenibacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood of honeybees. *Environ Microbiol* 10: 1612-1620.