

Dépistage précoce de la loque européenne par PCR en temps réel

Valérie Grangier^{1,2,3}, Luc Belloy¹, Jean-Daniel Charrière², Marcus G. Doherr³, Albert Fritsche⁴, Andreas S. Waldvogel¹

¹ Institut Galli-Valerio, Rue César-Roux 37, 1014 Lausanne

² Centre de recherches apicoles, Agroscope Liebefeld-Posieux, Schwarzenburgstrasse 161, 3003 Berne-Liebefeld

³ Institut VPH, Université de Berne, Schwarzenburgstrasse 155, 3097 Liebefeld

⁴ Vétérinaire cantonal Saint-Gall, Blarerstrasse 2, 9001 Saint-Gall

La Suisse est confrontée depuis une dizaine d'années à une recrudescence de cas de loque européenne, maladie qui affecte les larves des abeilles et causée par la bactérie *Melissococcus plutonius* (Figure 1). Conformément à la loi sur les épizooties, cette pathologie fait partie des « épizooties à combattre » et est soumise à une obligation d'annonce. Selon la législation suisse, un cas de loque européenne est défini par la présence de symptômes cliniques (Figure 2). Dès lors qu'un cas est découvert, une zone de séquestre d'un rayon d'un kilomètre est établie. Ainsi, l'inspecteur des ruchers responsable devra

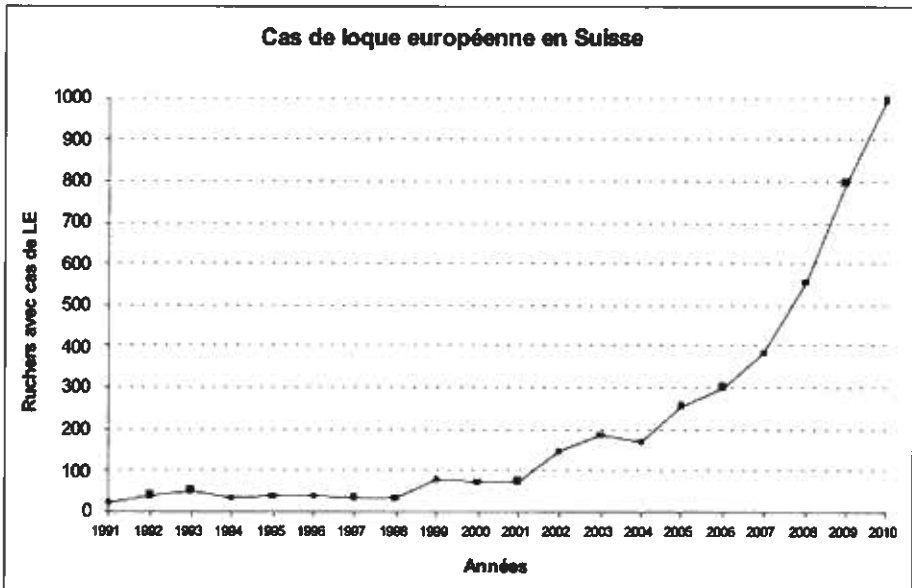


Figure 1: Recrudescence de cas de loque européenne ces dernières années

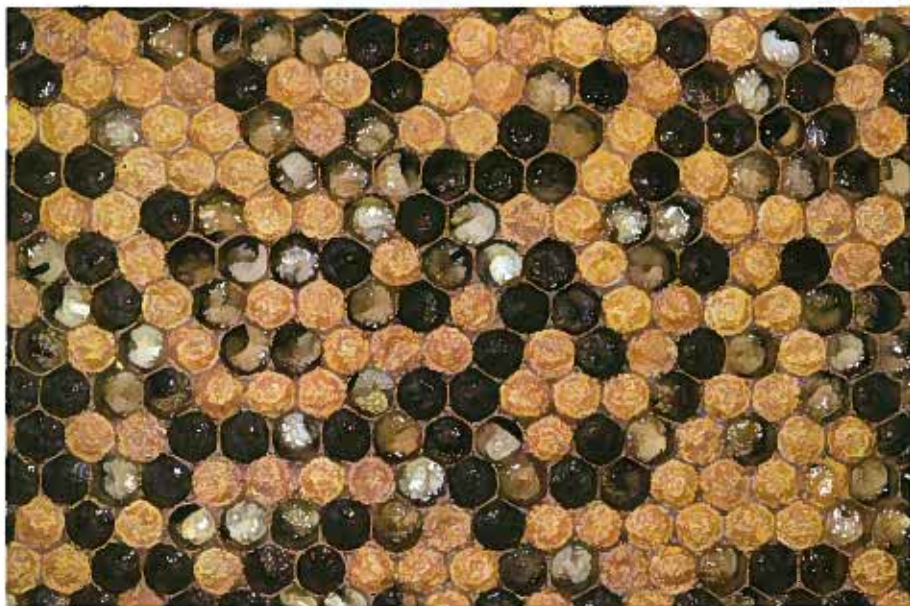


Figure 2: **Couvain fortement atteint de loque européenne** (Photo : K. Ruoff)

contrôler toutes les colonies présentes dans cette zone. Dans les régions avec une grande densité de ruchers, cette mesure représente une importante charge de travail. Par conséquent, afin d'aider les inspecteurs dans leur tâche, il serait souhaitable de pouvoir cibler les contrôles visuels uniquement sur les ruchers où l'agent infectieux est présent. Ce projet pilote a pour but de tester à grande échelle une technique de diagnostic biomoléculaire (PCR en temps réel) à partir d'abeilles prélevées par les apiculteurs. Cette analyse permet de mettre en évidence par amplification génique *in vitro* la présence ou non de la bactérie responsable de la loque européenne. Les inspecteurs n'auraient alors à visiter que les ruchers dans lesquels la bactérie est présente. Il est à noter cependant que la présence de bactéries dans une colonie ne signifie pas obligatoirement que cette colonie est malade.

Pour ce faire, des échantillons d'abeilles provenant de 88 ruchers de Suisse (cantons de Berne, Soleure et Appenzell Rhodes Intérieures) ont été récoltés dans des zones de séquestre durant la saison apicole 2010. Aucun germe de loque européenne n'a été détecté dans 34 des 88 ruchers testés (38.6%), alors que *M. plutonius* était présent dans 54 ruchers (61.4%). Lors de l'échantillonnage, il a été demandé aux inspecteurs d'indiquer s'il y avait une suspicion ou non de loque européenne. Ainsi, en comparant les résultats du contrôle visuel avec ceux obtenus par la PCR en temps réel, nous avons montré que la sensibilité de la méthode PCR (capacité du test à donner un résultat positif lorsque la maladie est présente) était de 93.3%. En d'autres termes, les germes de

loque européenne ont été détectés dans la quasi-totalité des ruchers (14/15) qui présentaient des symptômes. En revanche, la spécificité (capacité du test à donner un résultat négatif lorsque la maladie n'est pas présente) n'était que de 45.2% (33/73) puisque la bactérie a été mise en évidence par PCR dans de nombreux ruchers (40) alors que ces derniers ne présentaient aucun symptôme clinique visible. Ceci démontre que soit la technique n'est pas assez spécifique, ou plus probablement, que nombreuses sont les colonies porteuses de la bactérie tout en ne développant pas ou pas encore la maladie.

Un mois après le premier échantillonnage, 35 des 54 ruchers avec *M. plutonius* ont à nouveau été testés. En comparant ces deux échantillonnages, on observe que dans 14% (5/35) des ruchers, la bactérie n'a pas pu être mise en évidence à la seconde analyse. Cependant, dans 8 des 9 ruchers où des symptômes avaient été découverts au premier échantillonnage, la bactérie était toujours décelée au contrôle un mois plus tard, malgré les mesures d'assainissement, ce qui montre la difficulté à éliminer cette bactérie.

Au printemps 2011, 46 ruchers dans lesquels *M. plutonius* était présent à l'échantillonnage initial de 2010 ont à nouveau été testés. Entre le premier échantillonnage de 2010 et celui de 2011, nous n'avons plus détecté la présence de *M. plutonius* dans 35% (16/46) de ces ruchers. Sur le long terme, on observe tout de même une diminution des ruchers contenant la bactérie.

Dans cette étude, les apiculteurs et les inspecteurs ont également été interrogés sur l'état du rucher et son historique notamment. Grâce aux réponses du questionnaire, différents facteurs de risque potentiels ont été comparé avec la présence de symptômes cliniques. Les seules corrélations mises en évidence étaient une faible quantité de réserve de nourriture, la faiblesse des colonies ainsi qu'un mauvais état du couvain. Ces trois facteurs sont corrélés de manière significative avec les symptômes cliniques. Ces deux derniers facteurs sont-ils des conséquences ou sont-ils les déclencheurs de la maladie? Quant aux réserves de nourriture, il est difficile de savoir si les colonies avec peu de réserve de nourriture ont un risque plus élevé de développer la maladie, ou si les colonies malades sont plus faibles et collectent donc moins de nourriture.

Afin de soutenir les inspecteurs dans leur travail, l'idée serait de déléguer la prise d'échantillons (Figure 3) aux détenteurs des colonies se trouvant dans les zones de séquestre. Après analyse de ces abeilles, les inspecteurs n'iraient visiter que les ruchers contenant le germe. Ceci éviterait la visite des ruchers exempts de *M. plutonius*, et ainsi permettrait une réduction potentielle des coûts. Malheureusement, après le calcul de différents scénarios (selon l'exemple



Figure 3: Prélèvement d'abeilles du nid à couvain au moyen de boîtes d'allumettes

de rétribution du canton de Berne, soit le salaire horaire de l'inspecteur à CHF 30.-/heure; CHF 0.90/km; CHF 85.-/analyse PCR), soit le pourcentage de ruchers à visiter, les coûts sont supérieurs à ceux de l'application des directives en vigueur consistant à aller visiter systématiquement tous les ruchers de la zone de séquestre.

En conclusion, cette étude démontre que l'analyse par PCR en temps réel à partir d'échantillons d'abeilles collectés par les apiculteurs ne peut pas remplacer à moindre coûts les inspections visuelles des inspecteurs. Cependant, averti de la présence de *M. plutonius* dans son rucher grâce à cette technique PCR, l'apiculteur pourra mettre à profit cette information en étant plus attentif à ses colonies, et en prenant éventuellement des mesures supplémentaires pour éviter le développement et la propagation de la maladie. L'apiculteur pourrait ainsi procéder régulièrement à un contrôle systématique du couvain, renouveler plus rapidement ses vieux cadres, renoncer à l'échange de cadres et autre matériel entre colonies et entre ruchers, éviter la disette et le pillage et ne pas laisser du matériel à lécher à proximité du rucher. L'information fournie par l'analyse peut potentiellement éviter le développement de la maladie à moyen terme, mais dans cet essai on n'a pas tenu compte de cet aspect. En outre, l'analyse par PCR en temps réel est un outil utile pour démontrer l'absence de *M. plutonius*, permettant ainsi aux apiculteurs, avec l'accord du vétérinaire cantonal, de déplacer leurs colonies hors d'une zone de séquestre ou pour un éleveur d'aller tout de même en station de fécondation sans risque de propager le germe. Cela pourrait également être une méthode efficace pour vérifier si les mesures d'assainissement, ainsi que des techniques supplémentaires comme la formation d'essaims artificiels, ont été accomplies avec succès.

Remerciements

Ce projet n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide des inspecteurs des ruchers que nous remercions chaleureusement: Max Tschumi, Martin Fässler et ses collègues, Robert Oeschger, Adolf Stucki, Hans Reber, Hanspeter Beer, Alfred Höhener ainsi que Walter Gasser. Nous remercions également l'office vétérinaire fédéral pour le financement de cette étude et Alexandra Roetschi (ALP) pour les conseils techniques.

TRAITEMENT HIVERNAL

Evaporateur Varrogaz

Sans batterie, fonctionne avec une lampe à gaz, efficace à 98 %, simple, rapide, par le trou de vol, adaptable à tous les système de ruches.

Testé par le Liebefeld

(voir journal RSA mai 2004)

Prix : Fr. 140.- + frais de port

**Robert Praz, Rte du Sanetsch 54,
1950 Sion, tél. 027 322 48 19**

