

anses

agence nationale de sécurité sanitaire  
alimentation, environnement, travail



*Connaître, évaluer, protéger*

Rencontres  
scientifiques  
de  
l'Anses



# Santé des abeilles : risques émergents et pesticides

Dossier du participant

# 08

décembre 2016

Société européenne de cardiologie  
Sophia Antipolis



## Éditorial

L'Anses, qui accueille au sein de son laboratoire de Sophia Antipolis le laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE) sur la santé des abeilles, organise pour la 5<sup>e</sup> année consécutive ses rencontres scientifiques internationales dédiées à la santé des abeilles.

Cette année, elles se déroulent à Sophia Antipolis à l'occasion des 40 ans de référence du Laboratoire de Sophia Antipolis. Ouvertes à un large public, ces rencontres abordent les travaux de recherche et d'expertise française les plus récents en matière de risques émergents, biotiques et abiotiques.

Elles sont l'occasion d'échanges entre les professionnels, les parties prenantes et les scientifiques de tous horizons, autour de ce sujet emblématique des missions de l'Agence, à la croisée des domaines de la santé animale et de celle de notre environnement. Cette année, l'intérêt des techniques « omiques » en recherche apicole sera particulièrement souligné.

Cette journée d'échanges débute par deux conférences introductives permettant de faire le point sur les risques émergents et sur l'exposition des abeilles aux pesticides. Les apports de la génomique sur la connaissance de la génétique des abeilles et la sélection de certains caractères de résistance, ainsi que la contribution du séquençage à la meilleure compréhension des bio-agresseurs de l'abeille, sont également présentés.

Devenue un rendez-vous important, pour les chercheurs comme pour les professionnels, cette journée se conclue par une table ronde sur « La structuration de la référence et de la surveillance en Europe et en France ».

Gageons que cette 5<sup>e</sup> journée de l'Anses sur la santé des abeilles sera l'occasion d'échanges fructueux entre les différents acteurs de ce domaine, pour mieux comprendre les causes de mortalité des abeilles et mieux les endiguer.

**Roger GENET**  
Directeur général de l'Anses

## Modérateurs

### **Marie-Pierre CHAUZAT**

*Laboratoire de Sophia-Antipolis - Anses*

Marie-Pierre CHAUZAT est responsable adjointe du Laboratoire de référence de l'Union européenne pour la santé de l'abeille et expert OIE pour les maladies de l'abeille. Biologiste de formation elle a effectué sa thèse en entomologie et conduit des recherches sur l'écotoxicologie de l'abeille. Elle travaille sur l'épidémiologie des maladies des abeilles au plan national et européen.

### **Richard THIÉRY**

*Directeur du laboratoire de Sophia Antipolis - Anses*

Richard THIÉRY est docteur en biophysique moléculaire et titulaire d'une habilitation à diriger les recherches. Son principal domaine de recherche concerne la virologie animale. Ses travaux scientifiques portent sur la description des espèces virales, la mise au point d'outils diagnostiques, l'épidémiologie moléculaire, et la recherche de moyens de prévention. Directeur du laboratoire de l'Anses à Sophia Antipolis, il participe notamment au projet de recherche européen SmartBees portant sur la résistance de l'abeille à la varroose et au virus DWV.

# Session 1

## Focus sur les dangers pour la santé des abeilles

### Risques émergents en apiculture

**Dirk DE GRAAF**

*Université de Gand*

Prof. de Graaf est chef de service en charge d'un laboratoire de recherche et directeur d'une plate-forme de collaboration (Honeybee Valley) à l'Université de Gand. Après une formation de biologiste moléculaire, il aborde les problèmes de l'apiculture avec des technologies sophistiquées. Cependant, en raison de son relation excellente avec le secteur apicole belge, il sait remettre ces informations complexes dans son contexte, en particulier les pertes des colonies d'abeilles.

#### Résumé

Le nombre d'agents pathogènes et d'espèces nuisibles affectant l'abeille a augmenté ces dernières années. Actuellement, la surveillance est axée sur les maladies déjà connues et ne permet pas de détecter de nouvelles menaces. Néanmoins, les progrès technologiques rendent possible leur découverte, et ce, de façon non biaisée. Cette approche a conduit au recueil simultané de diverses informations sur des colonies d'abeilles sauvages : la présence d'agents pathogènes et les plantes nourricières associées, l'état physiologique des abeilles, etc. Le traitement des informations recueillies devient une difficulté car il existe de grandes différences de comportement de ces nouveaux agents pathogènes. Pour éviter leur présence, un contrôle médicamenteux n'est pas nécessairement une solution en raison de la présence de résidus. Les principaux leviers pour avoir des colonies d'abeilles saines résident principalement en la sélection de populations d'abeilles accompagnée de bonnes techniques apicoles.

### Du développement à la validation d'une méthode mesurant les effets de faibles doses de pesticides sur le vol de retour à la ruche chez l'abeille domestique

**Julie FOURRIER**

*Acta/Itsap - Institut de l'abeille*

Ingénieure d'étude depuis 2008 à l'ACTA, en charge d'études écotoxicologiques sur les abeilles dans le cadre de projets de recherche et développement publics. Elle est également directrice d'études en prestations

de service selon les bonnes pratiques de laboratoires ainsi que pour l'ITSAP-Institut de l'Abeille depuis 2014, notamment pour la validation internationale de la méthode mesurant les effets de faibles doses de pesticides sur le retour à la ruche des butineuses.

## Résumé

Depuis les années 90, les faibles doses d'insecticides neurotoxiques utilisés en enrobage de semences sont suspectés par les apiculteurs d'être à l'origine de problèmes de non retour à la ruche des butineuses et de phénomènes de dépopulations des colonies. Pour répondre à ces interrogations, il a été nécessaire d'acquérir des techniques de suivi automatisé d'individus identifiés en conditions naturelles. A partir d'un partenariat regroupant l'UMT PrADE, l'Inra du Magneraud, le CNRS et le Ctis, nous avons développé et finalisé une méthode basée sur la technologie RFID (Radio Frequency IDentification) entre 2006 et 2010. Cette méthodologie a été valorisée en écotoxicologie à partir de 2011 (Decourtye *et al.* 2011 ; Henry *et al.* 2012, 2014, 2015 ; méthode CEB n°230 du groupe français abeilles, 2014) pour suivre le retour à la ruche des butineuses exposées à de faibles doses d'insecticides. Dans le cadre d'un projet porté par l'Itsap-Institut de l'Abeille en partenariat avec l'Acta et l'Inra du Magneraud, notre objectif est maintenant de valider cette méthode et de la proposer à l'inscription dans les lignes directrices internationales référentes de l'OCDE dans le cadre des procédures d'évaluation du risque conduites avant la mise sur le marché des pesticides. Cette volonté s'inscrit dans le cadre de la révision actuelle du principe d'évaluation du risque des pesticides sur les abeilles pour laquelle l'Autorité européenne a demandé de nouveaux moyens d'évaluation (Efsa, 2013). Dans son document guide, l'Efsa (2013) a identifié un test de retour à la ruche pour évaluer les effets de faibles doses de pesticides.

Le projet a démarré en 2014 avec une première phase de validation conduite dans nos laboratoires où nous avons reproduit avec succès les résultats précédemment publiés (Henry *et al.* 2012). Notre objectif était également de choisir le mode d'administration du pesticide, en comparant une exposition orale individuelle des butineuses à une exposition orale collective en groupe d'individus. Aucune différence significative n'ayant été trouvée en termes de succès de retour entre les deux modes d'exposition, nous avons validé le mode d'exposition collectif, plus simple à mettre en œuvre pour la standardisation méthodologique.

En 2015, un groupe européen d'une dizaine de laboratoires volontaires (Italie, Allemagne, Suisse, Angleterre, France) a été créé pour tester à leur tour la méthode. Ce test circulaire permet d'évaluer la reproductibilité des résultats dans des contextes différents et conditionne l'inscription de la méthode dans les procédures officielles. Nous avons testé les effets de la dose sublétales de thiamethoxam testée par Henry *et al.* (2012) et en 2014 ainsi que deux doses inférieures. Sept laboratoires sur dix ont pu mener le test et ont trouvé comme précédemment un effet de la plus forte dose testée sur le succès de retour à la ruche. Un point limitant de la méthode concernait l'implantation d'une parcelle de phacélie. Cette dernière permettait de s'assurer que les butineuses étaient familières de la parcelle grâce au pollen facilement reconnaissable ramené par les butineuses. Trois laboratoires n'ont pas pu mettre en œuvre le test en raison de problème avec la parcelle. Nous avons donc testé une méthode alternative permettant toujours de s'assurer de l'expérience du site de relâché des abeilles testées. Cette technique a été validée en 2016 pour la poursuite du test circulaire. En 2016, tous les laboratoires participants ont pu mener le test de retour à la ruche. La méthode alternative s'est révélée plus simple à mettre en œuvre et a montré son intérêt dans le cadre du test circulaire et pour la standardisation méthodologique. En 2015 et 2016, la variabilité des résultats de succès de retour à la ruche du test circulaire a été analysée en fonction de facteurs explicatifs possibles comme les conditions climatiques (températures). Un prochain test circulaire est prévu en 2017 avec l'objectif de finaliser cette procédure de validation et de fixer le critère de validité du test, correspondant au succès de retour minimum acceptable des abeilles témoins.

**Remerciements :** Ce travail est financé par le programme communautaire européen pour l'apiculture et coordonné par le ministère chargé de l'Agriculture (FranceAgriMer), ainsi que par la fondation Lune de Miel®

## Session 2

# Le séquençage/la génétique : comment l'utiliser dans le domaine de l'apiculture ?

## L'intérêt et l'apport de la caractérisation génétique des populations de l'abeille domestique afin de contribuer au développement d'une apiculture durable.

**David BIRON**

*Centre national de la recherche scientifique (CNRS)*

David BIRON est chercheur au CNRS au sein de l'UMR CNRS 6023. Biologiste des populations, il est reconnu à l'échelle nationale et internationale pour ses études. Sa principale thématique de recherche est le « le décryptage des stratégies parasitaires : un levier pour appréhender la dynamique de la biodiversité ». Il est l'initiateur de nouveaux axes de recherches en parasitologie et en biologie évolutive

### Résumé

L'homme dépend de la biodiversité. Elle lui est nécessaire notamment pour l'alimentation à travers l'agriculture, l'élevage et la pêche qui constituent les activités humaines les plus liées au vivant. Mais cette biodiversité n'est pas stable et varie continuellement au fil des siècles et des millénaires selon un processus de sélection dû aux conditions environnementales. Le taux d'extinction d'espèces à l'heure actuelle est estimé entre 100 et 1 000 fois plus élevé que le taux moyen d'extinction qu'a connu jusqu'ici l'histoire de l'évolution de la vie sur Terre. En effet, les progrès technologiques depuis l'ère industrielle ont permis à l'homme de modifier de manière importante les milieux, provoquant une perturbation non négligeable dans l'équilibre des réseaux trophiques et des services écosystémiques dont la pollinisation assurée par l'abeille domestique. Comme de nombreuses espèces naturelles, les populations européennes de l'abeille domestique sont confrontés sans cesse à la pression croissante de facteurs biotiques et abiotiques : (i) stress environnementaux (malnutrition, urbanisation, molécules et résidus issus de l'activité agricole et industrielle, mauvaise gestion apicole, changement climatique, la perte et la fragmentation d'habitats); (ii) la diversité génétique; (iii) le parasitisme. D'ailleurs, puisque l'abeille domestique est une espèce d'intérêt agronomique, sa structure naturelle a été perturbée notamment en France par l'introduction délibérée de reines et d'essaims issus de sous-espèces et d'hybrides non indigènes au territoire, cela tend à homogénéiser la diversité génétique naturelle, et par conséquent, mettre en danger de nombreuses sous-espèces de l'abeille domestique.

La répartition naturelle des sous-espèces d'*Apis mellifera* et la pureté des sous-espèces pur-sang utilisées par les apiculteurs professionnels ont probablement été perturbées et affectées depuis plusieurs décennies (i) par les techniques usuelles d'apiculture, (ii) par le commerce international des abeilles (ex : colonies, reines, faux-bourçons) et (iii) aussi par les produits et stratégies utilisés pour tenter de freiner le déclin de l'abeille domestique. Par exemple, l'apiculture a favorisé la répartition de sous-espèces avec des traits spécifiques apicoles à l'extérieur de leur aire de répartition naturelle, généralement au détriment des autres sous-espèces ce qui a causé une baisse de la diversité génétique nécessaire pour faire face à des agents pathogènes indigènes

ou invasifs introduits par les colonies d'abeilles commerciales. Dans le cadre de la présentation, l'histoire évolutive de l'abeille domestique et les outils pour caractériser ses sous-espèces seront présentés. Egalement, l'intérêt de caractériser la diversité génétique et éco-éthologique des abeilles mellifères de la lignée d'Europe occidentale (lignée de M), et ii) de protéger, préserver la diversité génétique de ces populations afin de constituer une réserve de diversité utilisable par l'industrie apicole et les apiculteurs seront présentés et discutés.

## BeeStrong : mise au point de marqueurs génétiques pour la sélection d'abeilles domestiques résistantes au parasite *varroa*

**Fanny MONDET**

*Institut national de la recherche agronomique (Inra)*

Fanny Mondet est ingénieur de recherche à l'Inra d'Avignon et est spécialisée en pathologie de l'abeille. Ses recherches s'orientent principalement autour de l'acarien *Varroa destructor* et des interactions hôte-parasite entre l'abeille domestique, le *varroa* et les virus associés. Elle s'intéresse également au développement de nouvelles méthodes de lutte contre le *varroa*, et notamment à la capacité de certaines abeilles à survivre naturellement aux infestations du parasite.

### Résumé

Dans un contexte d'échec de la plupart des solutions actuelles de contrôle du parasite *varroa*, la sélection et l'élevage d'abeilles naturellement résistantes au *varroa* apparaît comme une solution prometteuse et durable. Le principal frein au développement de telles populations d'abeilles provient de la difficulté d'évaluer la capacité de résistance des colonies. Les colonies qui survivent au *varroa* mettent en place des défenses comportementales qui permettent de maintenir la population de parasite sous contrôle en impactant son succès de reproduction. Ce caractère de suppression de la reproduction des acariens est appelé SMR (Suppressed Mite Reproduction) ; son utilisation comme critère de sélection permet d'améliorer les capacités de résistance des colonies.

Le projet BeeStrong vise à mettre au point un nouvel outil à destination de la filière apicole pour mesurer la capacité de résistance de colonies au *varroa* par le biais du développement de marqueurs génétiques spécifiques du caractère SMR. Ces marqueurs seront identifiés par le biais du séquençage complet du génome des colonies échantillonnées, en parallèle de leur phénotypage pour le caractère SMR. Trois partenaires (Inra, Itsap et Labogena) se sont regroupés afin de mener à bien ce projet qui doit aboutir à la mise sur le marché d'un nouvel outil de diagnostic de la résistance au parasite *varroa*, sous forme de prestation de génotypage de colonies d'abeilles domestiques.

## Interactions virus-pesticides : un exemple entre le virus

## de la paralysie chronique et le thiaméthoxam

**Eric DUBOIS**

*Laboratoire de Sophia-Antipolis - Anses*

Eric Dubois est ingénieur de recherche au sein de l'Anse depuis près de 20 ans. Il a exercé différentes missions scientifiques en virologie dans les domaines de l'hygiène des aliments et de la santé des ruminants domestiques et sauvages. Virologue dans l'unité de pathologie de l'abeille depuis trois ans, il encadre les travaux de doctorants sur un virus important de l'abeille : le virus de la paralysie chronique.

### Résumé

Pour contribuer à expliquer les effets adverses sur l'abeille domestique des faibles doses de pesticides, le laboratoire de Sophia Antipolis de l'Anses conduit depuis deux ans des travaux de recherches sur les interactions entre le virus de la paralysie chronique (CBPV) et le thiaméthoxam. Le CBPV est un virus fréquemment détecté dans les colonies sans signes cliniques apparents. De façon sporadique, il peut conduire à des mortalités massives chez les abeilles adultes. Le thiaméthoxam, dont le métabolite est la clothianidine, est un pesticide de la famille des néonicotinoïdes. Dans leur environnement naturel, les abeilles peuvent être exposées à des doses inférieures à la dose létale. Toutefois, des mortalités de colonies impliquant ce pesticide ont été rapportées. La synergie d'une infection virale et d'une intoxication (même à de faibles doses) pourrait soit rendre l'abeille plus sensible au pesticide, soit favoriser la multiplication du virus (voire combiner les effets). En condition expérimentale, l'exposition d'abeilles émergentes à des doses environnementales de thiaméthoxam et au CBPV montre des taux de mortalité supérieurs à ceux d'abeilles exposées au virus ou au pesticide seul. La charge virale apparaît sensiblement plus importante 10 jours après la co-exposition des abeilles aux deux dangers. Ces premiers résultats ouvrent des pistes de recherches intéressantes, relatives à la modulation de l'expression des gènes de l'abeille, impliqués dans l'immunité ou le métabolisme des pesticides, par la co-exposition virus-pesticide. La connaissance des facteurs aggravant la sensibilité des abeilles aux infections virales et/ou aux pesticides permettrait de mieux évaluer les effets non intentionnels des traitements utilisés en agriculture.

## Diversité génétique de l'agent de la loque américaine en Europe

**Fabrice SIRCOULOMB**

*Laboratoire de Sophia-Antipolis - Anses*

Fabrice SIRCOULOMB est chercheur au sein de l'unité de pathologie de l'abeille au laboratoire Sophia Antipolis de l'Anses. Ses précédentes recherches ont porté sur l'utilisation des techniques omiques (génomique et transcriptomique) pour comprendre comment la plasticité des génomes influence le développement cancéreux. Son intérêt pour le rôle de l'évolution des génomes durant les phases d'adaptation à l'environnement l'on conduit



à participer au projet EuroPLarva qui est présenté aujourd'hui.

## Résumé

La loque américaine est une infection systémique contagieuse des larves d'abeille causée par la bactérie *Paenibacillus larvae*. Elle peut former des spores extrêmement résistants, infectant les larves d'abeilles lors de leur alimentation. Une fois ingérer, la forme végétative de *P. larvae* se multiplie dans le tube digestif de la larve et commence la colonisation de l'hôte jusqu'à sa mort. Cette maladie, présente dans le monde entier, peut engendrer la mort de colonies. A ce titre, elle est réglementée au niveau national (danger sanitaire de catégorie 1), européen et appartient à la liste des maladies de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE). Le diagnostic s'établit à trois niveaux. Tout d'abord, les symptômes sont l'observation d'un couvain en mosaïque et la présence de larve mortes brunes et « filantes ». Ensuite, l'observation microscopique révèle la présence de bactéries s'apparentant à *Paenibacillus larvae*. Enfin la détection moléculaire par PCR confirme l'identité de *P. larvae* dans les échantillons symptomatiques.

La plasticité génomique contribue à la dynamique des populations bactériennes notamment grâce à l'acquisition de gènes provenant d'autres organismes lors de transferts horizontaux. En modifiant le génome, elle peut compliquer la détection moléculaire des pathogènes et conduire à l'émergence de souches plus virulentes et/ou résistantes. Une étude portant sur deux échantillons suggère que le génome de *P. larvae* est fréquemment réarrangé et plastique. Ainsi, il nous paraît donc intéressant d'étudier la variabilité génétique de *P. larvae* sur une échelle géographique importante afin d'évaluer l'évolution de cette agent. En outre, une telle étude pourrait permettre l'optimisation des outils de diagnostic.

Le séquençage nouvelle génération (NGS) est un outil moléculaire permettant de définir rapidement le génome complet de plusieurs échantillons. En comparant les échantillons, il est notamment possible d'optimiser les outils de détection, d'étudier l'évolution des populations bactériennes et de définir les gènes de virulences et de résistances. Le NGS est donc une méthode pertinente pour l'étude de la variabilité du génome de *P. larvae*. Ces observations, nous ont conduits à initier une étude de la variabilité génétique de *P. larvae* à l'échelle européenne grâce à l'utilisation du séquençage nouvelle génération. Ainsi, en collaboration avec les laboratoires nationaux de référence de 22 pays de l'UE nous avons collecté 64 échantillons de *P. larvae*. Le génome de chaque échantillon est séquençé en collaboration avec la plateforme de génomique de l'Anses à Ploufragan. L'analyse de la qualité et du contenu des génomes reconstruit sera présenté et discuté au regard de leur localisation géographique.

## Table ronde

### La structuration de la référence et de la surveillance en Europe et en France

#### ANIMATION

**Bruno ROUGIER**

*Journaliste – France Info*

#### PARTICIPANTS

**Anne BRONNER**

*Direction générale de l'alimentation (DGAL)*

Après avoir travaillé en administration départementale et nationale dans le domaine de la santé animale, Anne BRONNER a effectué une thèse d'université en épidémiologie et modélisation, avec notamment l'objectif d'explorer les perspectives d'amélioration de la surveillance des maladies animales, appliquées aux maladies abortives chez les bovins. Depuis 2011, Anne BRONNER est en charge de l'amélioration de la surveillance en santé animale et végétale à la DGAL, incluant le domaine apicole.

**François GERSTER**

*Membre du Conseil général de l'alimentation, de l'agriculture et des espaces ruraux (CGAAER)*

Le Dr François GERSTER est vétérinaire, diplômé de l'Enva, lauréat de la faculté de Médecine de Créteil et spécialiste en Santé publique vétérinaire. Nommé en 1985 directeur départementale des services vétérinaires, il mène une double carrière dans le domaine de la santé publique vétérinaire et dans le management de la qualité au niveau national. Il est à l'origine de la démarche de mise sous assurance qualité des services de la DGAL (première direction générale accréditée par le Cofrac). Il est devenu référent en matière de management de la qualité dans les services publics au niveau national et international (notamment pour l'OIE). Nommé responsable de la qualité à l'Afssa, il prend également la tête de la direction scientifique de l'Agence. Responsabilités qu'il conservera au sein de l'Anses. Stéphane Le Foll lui a confié la coordination ministérielle de l'apiculture en France. A ce titre, il pilote l'application du plan de développement durable de l'apiculture qu'il a proposé au ministre en octobre 2012. Inspecteur général de la santé publique vétérinaire, il est membre depuis deux ans du CGAAER.

**Magali RIBIERE-CHABERT**

*Laboratoire de Sophia-Antipolis - Anses*

Virologue de formation, Magali RIBIERE-CHABERT a effectué sa thèse sur le virus de la paralysie chronique de l'abeille. Elle est responsable de l'unité pathologie de l'abeille du laboratoire de l'Anses Sophia Antipolis et du laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE) pour la santé de l'abeille. Elle est cheffe d'une unité multidisciplinaire de référence et de recherche qui travaille sur les maladies et dangers biologiques et chimiques majeurs menaçant la santé de l'abeille.

## **Frank ALETRU**

*Terre d'abeilles et syndicat national d'Apiculture*

Frank ALETRU est apiculteur professionnel en Vendée depuis 1983. Il a 33 années d'expérience apicole en zones de grandes cultures, de bocage et dans le parc naturel du marais poitevin. Il est vice-président du syndicat national d'apiculture, vice-président de l'ONG Terre d'Abeilles®, membre du groupe méthodes/pesticides/abeilles (DGAL / ministère de l'Agriculture) et membre du conseil d'orientation stratégique de la fondation pour la recherche sur la biodiversité (FRB).

## **Etienne BRUNEAU**

*Apimondia*

Etienne BRUNEAU est le fondateur et l'administrateur délégué du CARI asbl à Louvain-la-Neuve en Belgique. Il est le président du groupe de travail miel du COPA-COGECA, syndicat européen des agriculteurs et des coopératives apicoles. Le groupe miel représente les principales associations et coopératives apicoles européennes. Il est également Président de la Commission technologie et qualité d'Apimondia qui porte tant sur la conduite apicole que sur les produits de la ruche.

## **Thomas MOLLET**

*Itsap*

Non transmis

