Figure 1 : Foyers en 97 (gris clair), 98 (gris foncé), 99 (noir)

*Faut-il détruire les ruches en présence de spores de loque américaine (*Paenibacillus larvae*) dans le miel récolté ? Cette question alarmiste fut posée le 17 mars à Louvain -la-Neuve lors de la table ronde consacrée à la loque américaine.*
Pour l'instant, c'est le cas, mais d'autres solutions existeront probablement à l'avenir. Avant d'entrer dans ce débat, voyons quelle est la situation en Belgique.

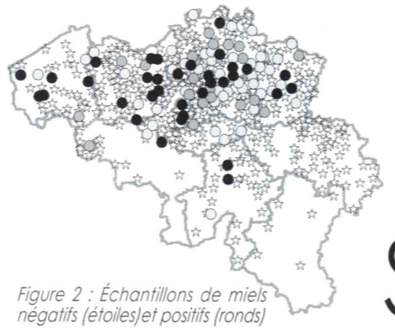

Figure 2 : Échantillons de miels négatifs (étoiles)et positifs (ronds)

Loque américaine

Spores dans les miels et destruction de ruches

Étienne BRUNEAU & Dirk de GRAAF

La loque américaine est une très grave maladie du couvain qui peut mener à la mort de la colonie. Elle est très contagieuse et fait partie des pathologies à déclaration obligatoire dans les différents pays européens. Les spores sont transmises aux larves au moment du nourrissement larvaire. Au-delà d'un certain seuil de contamination, les larves contractent la maladie et en meurent. Ce seuil va dépendre de la virulence de la souche de *Paenibacillus larvae* et du niveau de tolérance des colonies à cette maladie. Tout le monde connaît le fameux test de l'allumette plongée dans la larve morte, devenue gluante. Un fin fil de plus d'un centimètre se forme lorsqu'on retire l'allumette. Une larve morte peut contenir un nombre incalculable de spores qui vont se répandre dans toute la ruche. Les spores sont très résistantes et peuvent survivre pendant de nombreuses années sur du matériel apicole (vieilles ruches, cadres, etc). La désinfection est très difficile. Pour ces raisons, en cas de présence (et même de suspicion) d'un cas de loque, en Belgique comme dans d'autres pays européens, surtout dans le nord de l'Union, on détruit la ou les colonies. En parallèle, on définit un périmètre de sécurité dans lequel non seulement tout transport de matériel est interdit, mais où l'on effectue également un contrôle des colonies pour vérifier la présence du pathogène. Avant 1999, on ne déclarait que les cas cliniques (symptômes visibles de la maladie). Depuis, lorsqu' on détecte des spores dans une ruche ou dans le miel de cette ruche, même sans symptôme clinique (forme sub-clinique), elle est détruite. Ces destructions s'inscrivent dans une stratégie d'éradication. Heureusement, très peu de cas sont signalés annuellement. Malgré une recrudescence de cette maladie, seuls 27 cas ont été analysés de 1997 à 1999 (voir figure 1) et certaines régions n'ont pas connu de cas ces dix dernières années. C'est très peu, car notre pays compte près de 10.000 apiculteurs et non loin de 100.000 ruches.

L'enquête

Cette situation assez privilégiée par rapport à d'autres pays nettement plus infestés a donné l'idée à Dirk de Graaf du CERVA (Centre de Recherche Vétérinaire et Agrochimique) et Wim Dobbelaere de la RUG (Rijksuniversiteit van Gent) d'analyser l'influence de la proximité d'un cas de loque sur le niveau de contamination en spores des miels. De même, il était intéressant de connaître l'influence de la présence de spores dans les miels en 1999 et les cas de loque américaine en 2000. L'influence de la conduite apicole sur le niveau de contamination du miel était également un objectif.
Puisqu'en Belgique, il n'existe aucun recensement officiel des apiculteurs et des ruchers, les questionnaires n'ont pas été envoyés de façon aléatoire mais sur base de volontariat. Les associations apicoles se sont chargées de la diffusion du questionnaire accompagné d'un pot hermétique pour y déposer un échantillon de miel du rucher. L'anonymat devait être préservé au risque de déclarer officiellement tous les cas positifs (ruches à détruire). On demandait simplement aux apiculteurs de mentionner leur code postal. Dès réception des échantillons, ceux-ci ont été conservés à 4°C jusqu'à analyse. Le nombre de questionnaires rentrés est assez impressionnant : 1.328 données valides (échantillon de miel + questionnaire). Ceci représente 13 % des apiculteurs belges. Ces données, bien que prises de façon non aléatoire, sont cependant significatives.
Les analyses bactériologiques ont été réalisées au départ de 5 g de miel : mise en solution de l'échantillon(15 min à 50°C), centrifugation, suppression de bactéries thermo-sensibles (15 min à 80°C), mise en culture du culot sur un milieu sélectif (MYPGP- acide nalidixique et acide pipémidique, 4 jours à 37°C). Le premier jour, les bactéries à croissance rapide sont dénombrées. Le comptage de colonies présentant l'aspect spécifique du bacille recherché se fait le 4ième jour. Un nouveau test d'identification génétique (PCR) développé par Wim Dobbelaere est réalisé pour les confirmations.

	Belgique	W-Vla	O-Vla	A'pen	Limburg	Brabant	Hainaut	Liège	Namur	Luxemb
# échant.	1328	66	178	353	317	228	28	81	69	8
Positifs	146 (11.0)	11 (16.7)	18 (10.1)	48 (13.6)	27 (8.5)	35 (15.4)	4 (14.3)	0	3 (4.3)	0
Niveau 1	71 (5.3)	3 (4.6)	6 (3.4)	26 (7.4)	13 (4.1)	21 (9.2)	1 (3.6)	0	1 (1.4)	0
Niveau 2	31 (2.3)	3 (4.6)	2 (1.1)	11 (3.1)	5 (1.6)	8 (3.5)	2 (7.1)	0	0	0
Niveau 3	44 (3.3)	5 (7.6)	10 (5.6)	11 (3.1)	9 (2.8)	6 (2.6)	1 (3.6)	0	2 (2.9)	0

Tableau 1

Les différences nord - sud

146 échantillons étaient positifs (voir figure 2, tableau 1 : Localisation par province des résultats) :
71 échantillons avec de 1 à 10 spores/5g (niveau 1 - ronds gris clair)
31 échantillons avec de 11 à 50 spores/5g (niveau 2 - ronds gris foncé)
44 échantillons avec plus de 50 spores/5g (niveau 3 - ronds noirs)
Les 11 % d'échantillons positifs se localisent principalement dans le nord du pays. On peut s'étonner d'un tel résultat, que personne n'aurait imaginé avant ce test.
Un second tableau (2) présente les réponses aux questions posées dans l'enquête. On peut y voir que dans les provinces du nord, les apiculteurs travaillent plus souvent avec la race carnica, contrairement au sud du pays, où l'abeille noire est plus répandue, les apiculteurs transhument peu, les transferts de matériel biologique sont rares et les nourrissements au miel sont plus fréquents.
Pour analyser l'influence d'un foyer de loque américaine sur la présence de spores dans les miels, des zones d'apparition potentielle de la maladie (ZA) ont été dessinées autour de chacun de ceux-ci. Ces zones reprennent toutes les zones des codes postaux situées (même partiellement) dans un rayon de 5 km d'un foyer. Certaines de ces zones postales sont reprises dans plusieurs zones d'apparition une même année. On analyse alors la fréquence de présence d'un code postal dans une zone d'apparition (# ZA). La carte reprise à la figure 2 illustre cette situation.

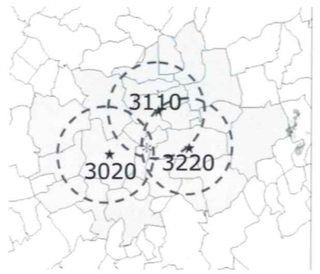

Figure 3

Fig. 3 : Exemple de zone d'apparition en 1998
Quatre foyers sont indiqués : deux en 3020, un en 3220 et un en 3110. Les zones d'apparition sont reprises sur la

carte. On n'en voit que trois, car deux d'entre elles (2020) recouvrent le même diamètre de 5 km. La zone d'intersection des quatre cercles, marquée d'un astérisque, a une fréquence de 4.
Tous ces éléments ont été analysés avec un logiciel statistique (SPSS version 8.0).

L'analyse difficile

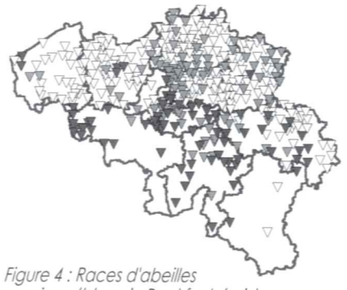

Figure 4 : Races d'abeilles carnica *(blanc), Buckfast (gris),* mellifera *(noir)*

Tableau 2

	Belgique	W-Vla	O-Vla	A'pen	Limburg	Brabant	Hainaut	Liège	Namur	Luxemb
Mellifera	103 (7.8)	2 (3.0)	3 (1.7)	0	1 (0.3)	26 (11.4)	21 (75)	14 (17.3)	33 (47.8)	3 (37.5)
Carnica	759 (57.2)	40 (60.6)	95 (53.4)	243 (68.8)	249 (78.5)	92 (40.4)	0	35 (43.2)	3 (4.3)	2 (25.0)
Couvain étranger	133 (10.0)	9 (13.6)	27 (15.2)	40 (11.3)	24 (7.6)	25 (11.0)	1 (3.6)	4 (4.9)	3 (4.3)	0
Transhu.	518 (39.0)	21 (31.8)	48 (27.0)	211 (59.8)	174 (54.9)	48 (21.1)	0	6 (7.4)	9 (13.0)	1 (12.5)
Nourris. miel	381 (28.7)	17 (25.8)	38 (21.3)	92 (26.1)	87 (27.4)	59 (25.9)	6 (21.4)	37 (45.7)	41 (59.4)	4 (50.0)

Dans une première approche statistique (par la régression logique à une variable), on constate que le risque était accru de trouver des spores de loque dans les zones géographiques proches des ruchers loqueux en 1998 (voir tableau 3). La présence d'un miel contenant moins de 10 spores est liée tant à " la zone d'apparition des cas cliniques en 1998 " qu'à la " la fréquence des zones d'apparition de cas cliniques en 1998 ". Si le nombre de colonies est corrélé avec la présence de spores, ce paramètre n'a en pratique aucune influence, la différence de probabilité étant proche de 1 (0,96). On peut s'interroger sur le fait que l'on a beaucoup moins de chances de trouver des miels fortement contaminés dans les zones d'apparition de la loque en 1999. C'est cependant assez logique, puisque la stratégie d'éradication a été mise en place cette année-là et que l'on a détruit les colonies présentant des cas tant cliniques que sub-cliniques. Les risques de contamination grave ont dès lors été fortement réduits.

Dans une analyse multifactorielle des données portant sur la conduite apicole, seul le facteur " renouvellement des cadres " était significatif. On avait près de deux fois moins de chances (facteur 0,46) de retrouver des spores chez les apiculteurs qui pratiquent cette technique (voir tableau 4). Les paramètres suivants n'ont pas permis de mettre en évidence une différence significative :

- apport d'essaims au rucher (au cours des 5 dernières années);
- apport de couvain au rucher (au cours des 5 dernières années);
- apport de jeunes reines au rucher (au cours de la dernière année);
- transhumance (au cours de la dernière année);
- infestation sévère de nosémose (au cours de la dernière année);
- cas d'acariose (au cours de la dernière année);
- utilisation de matériel d'occasion (au cours des 5 dernières années);
- nourrissement au pollen/miel (au cours des 5 dernières années);
- utilisation de matériel collectif.

Tableau 3

	P. larvae > 0	*P. larvae* > 10	*P. larvae* > 50
ZA 1998	0.001 (3.04)	0.08	0.52
# ZA 1998	0.004 (1.48)	0.17	0.90
# subclin + clin. ZA 1999	0.58	0.56	0.047 (0.12)
Nombre de ruches	0.14	0.046 (0.96)	0.051 (0.95)
Sévère infestation de *Varroa*	0.50	0.48	0.050 (0.30)
Renouvellement des cires	0.53	0.23	0.074 (0.53)

Tableau 4

	P. larvae > 10
Nombre de ruches	0.069
	P. larvae > 50
# subclin + clin. ZA 1999	0.65
Nombre de ruches	0.13
Infestation sévère de *Varroa*	0.15
Renouvellement des cires	0.033 (0.46)

Il n'a pas été possible non plus d'analyser l'influence de la race d'abeilles car il n'y a pas de répartition uniforme des races (voir figure 4). D'autres paramètres tels que la végétation ou la conduite différente des ruches interviennent également.
L'étude (tableau 5) a aussi pu mettre en évidence une relation entre les échantillons de miels contenant des spores (> 0 et > 10) en 1999 et les cas de loque enregistrés en 2000 (respectivement, probabilité augmentée d'un facteur 2,64 et 3,58). La figure 5 situe les cas observés en 2000. Cela montre l'intérêt de l'analyse des miels dans le cadre d'un contrôle sanitaire et d'une évaluation des risques d'apparition de nouveaux foyers de loque.

Tableau 5

	Foyer de LA en 2000
# *P. larvae* > 1	0.017 (2.64)
# *P. larvae* > 10	0.009 (3.58)
# *P. larvae* > 50	0.22

Perspectives

Figure 5 : Foyers en 2000 (carte du haut) que l'on peut comparer aux échantillons de miels positifs (carte du dessous)

La législation actuelle représente un frein majeur à la généralisation d'une telle analyse étant donné que la seule issue possible est la destruction des ruches. Il faudrait arriver à une modification rapide de la législation pour permettre aux apiculteurs de faire analyser la situation sanitaire de leur rucher sans risque de destruction. Ils pourraient ainsi, avec l'aide des Services vétérinaires, adopter une solution appropriée. Depuis de nombreuses années, on sait que l'on peut guérir une colonie loqueuse peu infestée en détruisant tout le couvain et en passant les abeilles par un stade d'essaim nu pendant deux jours sans alimentation. La ruche et le petit matériel doivent être désinfectés (par ex. : passage des corps dans la cire micro-cristalline). On sait également aujourd'hui que les risques de contamination viennent bien moins de la dérive des abeilles que du pillage des colonies fortement affaiblies par la maladie ou que l'on tarde à détruire. Par une bonne connaissance de la situation de terrain et par une sensibilisation appropriée des apiculteurs (désinfection du matériel, renouvellement régulier des cadres, sélection de colonies nettoyeuses, envoi d'échantillons pour analyse sanitaire, élimination des colonies faibles...), on pourra probablement arriver à améliorer l'état sanitaire de notre cheptel.

Ce texte a été rédigé par E. Bruneau au départ de : "Epidemiological survey on the presence of *Paenibacillus larvae* spores in Belgian honey", présentation Power Point de Dirk de Graaf du CODA-CERVA lors de la rencontre avec les assistants sanitaires à Uccle le 14 décembre 2000,
et de l'article :
D.C. de Graaf, D. Vandekerchove, W. Dobbelaere, J.E. Peeters, F.J. Jacobs –2001 – Influence of the proximity of American foulbrood cases and apicultural management, Apidologie 32 (6), p 587 - 600

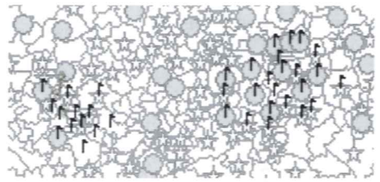

Figure 6 : Un gros plan nous montre les zones d'apparition en 1998 et la présence de spores dans les miels.