



DES INSTRUMENTS NOVATEURS POUR L'APICULTURE :

Les tests diagnostics VITA pour les loques américaine et européenne

Jérôme Trouiller



La politique de recherche de Vita et de Swarm

VITA (Europe) Limited (Royaume-Uni) et son partenaire français SWARM SAS, spécialistes de la santé de l'abeille, ont une politique extrêmement dynamique de recherche. Les derniers nés de cette activité sont deux tests de détection de terrain, les Vita Diagnostic Kit. L'un est pour la détection de la loque américaine et l'autre pour la détection de la loque européenne.

< le test kit

LES LOQUES AMÉRICAINE ET EUROPÉENNE

Tout lecteur connaît la virulence et la forte contagiosité des loques. L'agent pathogène de la loque américaine, *Paenibacillus larvae larvae* en particulier, est une bactérie formant des spores extrêmement résistantes aux antibiotiques, à la chaleur et aux désinfectants classiques. Une spore peut rester viable pendant des décennies.

Le processus pathogène de la loque européenne est moins bien compris, il n'y a qu'un seul agent pour certains auteurs et ils sont multiples pour d'autres. La bactérie principale *Melissococcus plutonius* ne forme pas de spore et est plus facilement éliminable par des mesures sanitaires simples.

Toutefois, le développement de l'une et de l'autre loque entraîne la fabrication de centaines de millions de spores par chaque larve infectée. Ces spores vont à leur tour contaminer les colonies voisines, par le pillage, les outils ou le matériel contaminé et la dérive des butineuses. Pour cette raison, toute méthode de détection précoce et mesure sanitaire précoce permettront de limiter au mieux la contamination des ruches et des ruchers voisins.

DIAGNOSTIC DES LOQUES

Les symptômes des loques sont très souvent décrits dans les revues et les ouvrages apicoles. Le symptôme caractéristique de la loque américaine est la larve filante du fameux test de l'allumette. Toutefois, à des stades précoces de la maladie, les loques peuvent être confondues avec d'autres maladies du couvain voire même avec de simples refroidissements du couvain. Il existe aussi les loques atypiques qui par définition présentent les mêmes symptômes que les loques mais ne sont pas causées par les agents pathogènes cités plus haut et de ce fait sont des manifestations bénignes. De plus, on peut aussi hésiter entre loque américaine et européenne.

L'une des difficultés du diagnostic des loques est qu'il est parfois nécessaire d'envoyer par courrier des échantillons de couvain pour une analyse en laboratoire. La réponse de ces analyses est parfois longue, ce qui favorise la contamination des ruches voisines.

Un autre problème lié aux loques est que sa déclaration entraîne une quarantaine et une réputation parfois néfaste du rucher concerné. Pour cette raison, certains apiculteurs attendront une

déclaration extrême de la maladie avant de réagir ou d'informer les services compétents.

TEST DE DETECTION VITA

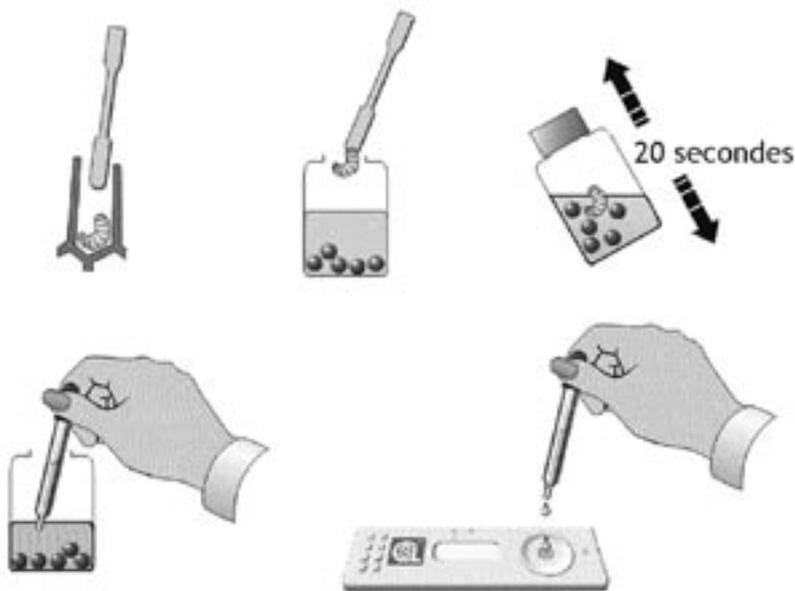
Pour faciliter la surveillance sanitaire, le National Bee Unit (Royaume-Uni) a développé, en collaboration avec VITA (Europe) Limited, un test permettant d'obtenir un diagnostic sûr et rapide des loques sur le terrain.

Ce sont des tests de type ELISA, une technologie identique aux fameux tests de grossesse. Ces deux tests diagnostics sont issus de tests de laboratoire officiels de routine développés par le National Bee Unit. Ils sont basés sur la parfaite spécificité des anticorps produits par les mammifères par rapport à une cible microbiologique donnée.

Parmi les centaines d'anticorps réagissant naturellement avec une bactérie donnée (par exemple la loque américaine), un seul type d'anticorps (anticorps monoclonal) a été sélectionné pour être utilisé dans le test car il réagit uniquement avec l'agent pathogène concerné et avec toutes les variantes de cet agent. Le test est donc parfaitement spécifique.

MODE D'EMPLOI DU TEST

Le kit de détection comprend plusieurs outils (spatule, flacon, pipette et plaque de test) permettant de mener à bien une analyse du couvain.



1. Extraire une larve ou une nymphe ayant des symptômes suspects. 2. Déposer la larve dans la bouteille contenant la solution tampon. 3. Secouer le flacon pendant 20 secondes pour disperser la larve. 4. Avec la pipette, prélever un peu de liquide du flacon. 5. Déposer doucement 3 gouttes de l'échantillon dans le puits de la plaque de test. Après 3 minutes, regarder le résultat.

INTERPRETATION DES RÉSULTATS DU TEST



Plaque de test résultat

Après 3 minutes la ligne de contrôle (C) est clairement visible dans la fenêtre de la plaque de test, elle indique que le test a fonctionné. Si seule la ligne C est présente, ceci indique que la loque n'est pas présente dans la larve. Si les deux lignes C et T sont présentes ceci indique que la larve échantillonnée contient la loque correspondant au test utilisé (soit américaine ou soit européenne). Pour résumer, la présence deux lignes signifie que la loque est présente dans l'échantillon testé et une ligne signifie que la loque n'a pas été détectée.

Il existe un test pour la loque européenne (jaune) et un autre, blanc, pour la loque américaine. Ces tests sont à usage unique.

PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT DU TEST

Les anticorps spécifiques de l'agent pathogène sont présents dans le puits de la plaque de test et sur la ligne T de la fenêtre de la plaque. Lorsque les bactéries sont présentes dans l'échantillon qui est déposé dans le puits, elles se fixent aux anticorps liés à des billes microscopiques colorées en bleu. L'ensemble anticorps - bactérie migre par capillarité vers la fenêtre. A la ligne T, les bactéries sont de nouveau piégées par les anticorps et marquent ainsi une ligne bleue.

Sur la ligne C, des anticorps spécifiques des anticorps permettent de s'assurer que le liquide a bien migré dans la fenêtre d'observation.

VALIDATION DU TEST

Les tests ont été rigoureusement expérimentés par le National Bee Unit du CSL de York (Royaume-Uni), l'INA de Bologne (Italie), l'Université de Milan et le

USDA de Beltsville (USA). Ces instituts ont comparé ces tests avec les méthodes officielles de détection utilisées en laboratoire.

Nous avons vu qu'une réponse positive correspond toujours à la présence de l'agent pathogène testé dans l'échantillon. Il n'y a pas de faux positif.

La sensibilité du test correspond à 10 millions de spores par millilitre de la suspension testée. Ceci correspond à l'utilisation d'une larve à un début d'infestation juste avant l'operculation, donc à un stade bien plus précoce que celui de la larve filante. Le test réagit évidemment avec les larves filantes de vraie loque et aux écailles de loque.

DANS QUELS CAS UTILISER LE TEST ?

La sensibilité du test dépend aussi de la manière de choisir la larve à analyser. En prenant une larve saine (donc sans spore) dans une colonie très touchée par la loque, la loque ne sera pas identifiée car elle n'est pas produite à l'intérieur de cette larve. Il est important de bien choisir la larve à analyser, choisir une larve ou une nymphe suspecte, par exemple brune ou terne.

Ce test ne permet pas de s'assurer que la loque est totalement absente d'une colonie donnée car l'agent pathogène n'est produit que par les larves malades. Prélever des larves saines n'a en soi que peu d'intérêt.

Le test n'est pas utilisable pour la détection des spores de loque dans le miel, qui demanderait une sensibilité 1000 fois supérieure.

Ce test est une confirmation de diagnostic ou permet de donner une réponse en cas d'hésitation (présence de larves anormales, hésitation sur les symptômes...). Le test permet de confirmer ou d'infirmer la présence de loque dans une colonie suspecte.

Le grand avantage de ce test est d'être très facile d'emploi et de ne demander aucune formation particulière. Il est parfaitement adapté à l'utilisation sur le terrain. Il donne, sur le rucher lui-même, un résultat en trois minutes et permet ainsi de réagir au plus vite pour limiter la dispersion de la loque dans le rucher et les ruchers environnants.

Il permet par exemple à un agent sanitaire de convaincre un apiculteur que la loque est présente. Il permet de suivre l'évolution d'une colonie ayant déjà eu la



peste. Il permet aussi d'avoir une information confidentielle pour un apiculteur qui aurait préféré laisser la maladie se développer plutôt que de faire appel à un expert apicole. Il est aussi utilisable par un laboratoire d'analyses voulant économiser son temps.

DÉVELOPPEMENTS FUTURS

Ce test est à usage unique et est conçu à l'origine pour ne tester qu'une seule larve par test. Toutefois, il est possible d'utiliser plusieurs larves en même temps pour un seul test, ce qui permet de renforcer la richesse de l'échantillonnage dans une même ruche ou de tester plusieurs colonies à la fois.

Dans le futur, nous pensons développer des tests pour les autres maladies de l'abeille dont les viroses. Ceci permettra à terme d'avoir un outil diagnostique puissant, simple et rapide pour les principales maladies de l'abeille. ■

OÙ TROUVER LE TEST ?

Le test est disponible soit auprès des revendeurs de matériel apicole soit, en cas de commande importante (plus de 50), directement auprès de SWARM SAS. Pour toute information complémentaire, veuillez contacter :

SWARM S.A.S.

2, côte de la Jonchère - 78380 Bougival
Tél. 01 30 82 29 89 - Fax 01 30 82 27 77
E-mail : swarm.SA@wanadoo.fr