

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Le laboratoire national et européen de référence pour la santé des abeilles (Anses, Sophia Antipolis)

Stéphanie Franco (1)*, Anne-Claire Martel (1), Véronique Duquesne (1), Marie-Pierre Rivière (1), Magali Chabert (1), Marie-Pierre Chauzat (1,2)

*Auteur correspondant: stephanie.franco@anses.fr

(1) Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis, Unité Pathologie de l'abeille, Sophia Antipolis, France

(2) Anses, Direction de la stratégie et des programmes, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, Maisons-Alfort, France

Résumé

Le dispositif de gestion des risques dans le domaine de la santé animale comprend des laboratoires de référence nationaux et européens qui apportent un appui scientifique et technique aux États membres et à la Commission européenne.

Dans le domaine de la santé de l'abeille, le mandat de laboratoire de référence de l'Union européenne est porté depuis 2011 par le laboratoire de Sophia Antipolis de l'Anses, qui est aussi laboratoire national de référence (LNR) et laboratoire de référence de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE).

Sa mission principale est de coordonner les activités analytiques des réseaux de laboratoires officiels dans un secteur large: maladies parasitaires, bactériennes et virales, espèces invasives et résidus de pesticides.

Des activités de recherche sont également conduites pour la mise au point et la validation de méthodes de diagnostic toujours plus performantes. Le laboratoire est investi dans des missions d'expertise auprès des autorités officielles et de la filière apicole. Ces dernières années, il s'est enfin fortement impliqué dans le domaine de l'épidémiologie à travers notamment la coordination du programme européen Epilobee.

Mots-clés

Laboratoire, référence, abeille

Abstract

Activities of the national and European reference laboratory for Honey bee health

The animal health risk management system includes national and European reference laboratories that provide scientific and technical support to Member States and the European Commission.

In the field of honey bee health, the European Union reference laboratory mandate has been assigned since 2011 to the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (Anses) of Sophia-Antipolis. The laboratory is also the National reference laboratory and a reference laboratory of the World Organization for Animal Health (OIE).

Its main mission is to coordinate the analytical activities of the official laboratories network in a wide area: parasitic, bacterial and viral diseases, invasive species and pesticide residues.

Research activities are also carried out for the development and validation of diagnostic methods. The laboratory is moreover involved in expertise for the official authorities and for the beekeeping sector. Finally, during the recent years, the laboratory was strongly involved in epidemiological surveillance, particularly through the coordination of the European program Epilobee.

Keywords

Laboratory, Reference, Honey bee

L'Abeille domestique joue un rôle important, à la fois pour la production de miel et autres produits de la ruche, mais également en tant que pollinisateur. Elle est la cible de très nombreux agents pathogènes biotiques et abiotiques, dont l'impact sur les colonies est souvent encore mal connu. L'unité Pathologie de l'abeille du laboratoire de Sophia Antipolis de l'Anses consacre depuis de nombreuses années son activité à la santé des abeilles et au diagnostic des maladies et troubles les affectant.

Face à l'augmentation des troubles de la santé des abeilles et à la suite du rapport de l'Autorité européenne de sécurité alimentaire (EFSA) sur les mortalités et la surveillance en Europe (Hendriks et al., 2009), la Commission européenne a désigné, en 2011, le laboratoire de Sophia Antipolis, laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE) pour la santé des abeilles (règlement (UE) N°87/2011 du 2 février 2011)⁽¹⁾. Ce mandat vient compléter les autres missions de référence de l'unité qui est aussi laboratoire national de référence (LNR) pour la santé des abeilles, laboratoire associé au LNR Pesticides sur les denrées alimentaires d'origine animale et laboratoire de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) sur les maladies des abeilles.

La référence au service du diagnostic

Les laboratoires ont un rôle majeur à jouer dans le domaine de la santé animale. L'harmonisation et la validation scientifique des méthodes analytiques permettent le rendu de résultats de laboratoire fiables et consolidés pour la mise en place des mesures de lutte et de prévention des maladies.

Les missions des laboratoires de référence sont définies dans la réglementation et reposent principalement sur la coordination des activités analytiques dans un domaine dédié (article R202-5 du Code rural et de la pêche maritime, règlement (UE) 2017/625 du Parlement européen et du Conseil du 15 mars 2017)⁽²⁾:

- optimisation et mise point de méthodes d'analyse afin de proposer et de diffuser des protocoles standardisés,
- organisation d'essais inter-laboratoires, visant à assurer la qualité des résultats,
- collecte, caractérisation et production d'échantillons et souches de référence pour différents agents pathogènes,
- diffusion de ces matériaux de référence aux laboratoires, afin qu'ils puissent être utilisés pour l'adoption des méthodes d'analyse.

Ils ont également un rôle d'appui technique et scientifique auprès des laboratoires et auprès des autorités de tutelles (Commission européenne, pour les LRUE, et Direction générale de l'Alimentation (DGAL), à l'échelle nationale, pour les LNR).

En tant que LRUE, le laboratoire de Sophia Antipolis interagit avec les laboratoires nationaux de référence des différents États membres. En tant que LNR, il anime et forme les réseaux de laboratoires agréés par la DGAL pour le diagnostic officiel des maladies de l'abeille. Le LNR interagit également avec le laboratoire Girpa qui est agréé pour l'analyse de résidus de pesticides (<http://www.girpa.fr/>).

(1) Règlement (UE) n°87/2011 de la Commission du 2 février 2011 désignant le laboratoire de référence de l'Union européenne pour la santé des abeilles, assignant des responsabilités et des tâches supplémentaires audit laboratoire et modifiant l'annexe VII du règlement (CE) n°882/2004 du Parlement européen et du Conseil.

(2) Règlement (UE) 2017/625 du Parlement européen et du Conseil du 15 mars 2017 concernant les contrôles officiels et les autres activités officielles servant à assurer le respect de la législation alimentaire et de la législation relative aux aliments pour animaux ainsi que des règles relatives à la santé et au bien-être des animaux, à la santé des végétaux et aux produits phytopharmaceutiques, modifiant les règlements du Parlement européen et du Conseil (CE) N°999/2001, (CE) N°396/2005, (CE) N°1069/2009, (CE) N°1107/2009, (UE) N°1151/2012, (UE) N°652/2014, (UE) 2016/429 et (UE) 2016/2031, les règlements du Conseil (CE) N°1/2005 et (CE) N°1099/2009 ainsi que les directives du Conseil 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE et 2008/120/CE, et abrogeant les règlements du Parlement européen et du Conseil (CE) N°854/2004 et (CE) N°882/2004, les directives du Conseil 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE et 97/78/CE ainsi que la décision 92/438/CEE du Conseil (règlement sur les contrôles officiels).

Tableau 1. Principales méthodes d'analyse disponibles au laboratoire Anses de Sophia Antipolis (LNR Pesticides dans les denrées alimentaires d'origine animale et produits à forte teneur en matière grasse 2017, LNR Santé des abeilles 2017)

Agents biologiques	
Nosérose <i>Nosema apis/Nosema ceranae</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Observation et dénombrement des spores en microscopie optique* • Identification de l'espèce de <i>Nosema</i> par PCR*
Loques américaine et européenne <i>Paenibacillus larvae</i> <i>Melissococcus plutonius</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Examen bactérioscopique après coloration de Gram* • Identification par PCR* • Culture bactérienne
Varroose <i>Varroa destructor</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnostic de la varroose par examen lésionnel et recherche des parasites* • Mesure du taux d'infestation d'un lot d'abeilles par <i>V. destructor</i> par lavage à l'alcool
Acariose des trachées <i>Acarapis woodi</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Détection microscopique d'<i>Acarapis</i> spp. sur une broyat de 200 thorax d'abeilles asymptomatiques* (dépistage) • Détection microscopique d'<i>Acarapis</i> spp. sur un broyat de 20 thorax d'abeilles symptomatiques (diagnostic de la maladie clinique)
Petit coléoptère de la ruche <i>Aethina tumida</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Identification par examen morphologique* • Identification par PCR*
Frelon asiatique <i>Vespa velutina</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Identification par examen morphologique*
Acarions du genre <i>Tropilaelaps</i> spp.	<ul style="list-style-type: none"> • Identification par examen morphologique* • Identification par PCR
Mycoses du couvain <i>Ascosphaera apis</i> et <i>Aspergillus flavus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Examen lésionnel et microscopique
Virus Paralysie chronique - CBPV Couvain sacciforme - SBV Paralysie aiguë - ABPV Cachemire - KBV Ailes déformées - DWV Souche israélienne de l'ABPV - IAPV Cellule noire de reine - BQCV	<ul style="list-style-type: none"> • Détection par PCR conventionnelle • Evaluation de la charge virale par PCR quantitative (CBPV*, SBV, ABPV, BQCV, DWV)
Agents chimiques	
Acaricides Coumaphos, amitraze, bromopropylate, tau-fluvalinate, chlorfenvinphos	Détection et dosage par chromatographie gazeuse (miel*)
Pesticides néonicotinoïdes Thiaméthoxam, imidaclopride, clothianidine, thiaclopride, acétamipride	Détection et dosage par LC-MS/MS (abeilles*, pain d'abeilles*, pollen*, miel*, nectar, sirop de nourrissage, larves)
Autres pesticides Organochlorés, organophosphorés, pyréthrinoides de synthèse, dicarboximidés	<ul style="list-style-type: none"> • Détection et dosage par des méthodes multirésidus en chromatographie gazeuse (abeilles, pain d'abeilles, pollen) • Identification par spectrométrie de masse (GC-MS/MS)

* Méthode accréditée par le Cofrac selon la norme ISO 17025

Les activités du laboratoire couvrent un champ large portant sur les principales maladies parasitaires, bactériennes, fongiques et virales de l'abeille ainsi que sur les espèces invasives menaçant le cheptel apicole. L'unité s'intéresse également : i) aux intoxications de colonies par la recherche des résidus des pesticides toxiques pour les abeilles (notamment les néonicotinoïdes), et ii) à la sécurité alimentaire par la recherche de résidus de pesticides dans les miels dans le cadre des plans de surveillance et plans de contrôle (PSPC) organisés chaque année par la DGAL.

Le laboratoire dispose de différentes techniques analytiques : identification morphologique, culture bactérienne, microscopie, identification et quantification des résidus de pesticides par chromatographie en phase liquide (LC-MS/MS) et gazeuse (GC et GC-MS/MS) (Tableau 1).



Figure 1. Les espèces invasives exotiques en Europe: petit coléoptère (*Aethina tumida*) (a/adulte et b/larve) et l'acarien *Tropilaelaps* spp. (c/adulte) (source : Anses, Sophia Antipolis)

Dans le domaine de la santé de l'abeille, il existe peu de méthodes de référence à l'exception de celles publiées dans le Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres de l'OIE. De plus, peu de méthodes sont validées. Le laboratoire travaille sur l'élaboration de nouvelles méthodes et procède à leur validation selon les normes internationales de qualité. Il est accrédité par le Comité français d'accréditation (Cofrac) pour plusieurs lignes d'analyses.

Des missions d'expertise

Le laboratoire a également une activité d'expertise et apporte son appui scientifique et technique auprès de la Commission européenne, de l'EFSA et de la DGAL. Il est également sollicité en tant qu'expert dans le cadre de son mandat pour l'OIE, pour la révision du Manuel terrestre, pour la réalisation de diagnostics ou pour des missions d'appui à l'échelle internationale.

Le laboratoire est en charge de l'identification des espèces invasives exotiques en Europe que sont les acariens du genre *Tropilaelaps* et le petit coléoptère des ruches (*Aethina tumida*) (Figure 1), et effectue le diagnostic officiel en cas de suspicion. Il intervient parfois sur le terrain en appui aux apiculteurs pour le diagnostic et la réalisation des prélèvements lorsque des troubles particuliers (cas de mortalités anormales) sont observés dans les ruchers.

Une implication dans la surveillance épidémiologique

Les laboratoires de référence ont également un rôle à jouer dans le domaine de la surveillance épidémiologique. Ils assurent une veille sanitaire et ont la mission de donner l'alerte lorsqu'un phénomène anormal ou une recrudescence de cas est observée.

Face à l'augmentation des troubles de la santé des abeilles, la Commission européenne a décidé en 2011 de renforcer et d'harmoniser les systèmes de surveillance européens existants, par la mise en place d'un dispositif de surveillance épidémiologique active de la mortalité des abeilles (dispositif Epilobee). Le LRUE a assuré la coordination de ce projet au niveau européen (voir l'article Jacques et al. dans ce numéro). En tant que LNR, le laboratoire a été impliqué dans la déclinaison du projet à l'échelle française (Résabeilles) en appui à la DGAL au niveau de la recherche des agents pathogènes chez les abeilles, et des résidus de pesticides dans le miel et le pain d'abeilles (voir article Mezziani et al. dans ce numéro).

Le LNR participe par ailleurs au groupe de suivi sur la santé des abeilles de la Plateforme nationale d'épidémiologie en santé animale (Plateforme ESA), et est impliqué dans les différents dispositifs officiels de surveillance en place en France, comme le réseau de surveillance des troubles des abeilles et le plan de contrôle des miels.

Suite à la détection d'*A. tumida* dans le sud de l'Italie en 2014 (voir article Franco et al. dans ce numéro), diverses actions de communication sont réalisées afin d'informer et de sensibiliser les acteurs de la filière. Des actualités sanitaires sont notamment régulièrement mises en ligne sur le site Internet du LRUE et de la Plateforme ESA. Des lignes directrices pour la surveillance de *A. tumida* ont également été élaborées en collaboration avec différents experts européens. Au niveau national, des formations ont été organisées en 2015 par le LNR afin de renforcer le dispositif de vigilance.

Des travaux de recherche associés aux activités de référence

Le laboratoire conduit également des activités de recherche pour la mise au point de méthodes d'analyse toujours plus performantes pour mieux détecter, identifier et quantifier les contaminants biotiques et abiotiques de la ruche, et répondre aux besoins de diagnostic sur le terrain. En partenariat avec d'autres organismes nationaux et internationaux, il conduit également des travaux sur la caractérisation des différents agents, l'étude de leur pouvoir pathogène, les mécanismes de résistance aux traitements, et les moyens de lutte.

Ces activités de recherche sont menées à différentes échelles : échelle moléculaire, échelle de l'individu en laboratoire, échelle de la colonie en condition de terrain.

L'unité Pathologie de l'abeille du laboratoire Anses de Sophia Antipolis dispose d'un rucher expérimental composé à l'heure actuelle d'une cinquantaine de colonies et d'un laboratoire d'infectiologie, permettant de réaliser des essais expérimentaux et la production de matrices apicoles en conditions contrôlées. Des infections expérimentales sont réalisées sur abeilles adultes élevées en cagettes pour l'étude par exemple du pouvoir pathogène de certains virus ou des effets des co-expositions (ex : co-exposition des abeilles au virus de la paralysie chronique et aux pesticides néonicotinoïdes notamment le thiaméthoxam) (Figure 2). L'élevage larvaire *in vitro* permet de travailler sur les troubles affectant le couvain.

Conclusion

Les activités et les missions de référence confiées au laboratoire Anses de Sophia Antipolis couvrent un champ large dans le domaine de la santé de l'abeille. La diversité de compétences et d'outils disponibles au sein du laboratoire permet une approche multidisciplinaire des phénomènes observés, et constitue un atout majeur pour répondre aux enjeux de diagnostic, de surveillance et de compréhension des troubles affectant les colonies d'abeilles.

Références bibliographiques

Hendrikx, Pascal, Marie-Pierre Chauzat, Marion Debin, Peter Neuman, Ingemar Fries, Wolfgang Ritter, Mike Brown, Franco Mutinelli, Yves Le Conte, and Ales Gregorc. 2009. « Bee Mortality and Bee Surveillance in Europe. » *EFSA Supporting Publications* 6 (9):n/a-n/a. doi: 10.2903/sp.efsa.2009.EN-27. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2009.EN-27/epdf> (accédé le 30 octobre 2017). 217p.

LNR Pesticides dans les denrées alimentaires d'origine animale et produits à forte teneur en matière grasse. 2017. Rapport annuel d'activité du Laboratoire National de Référence sur les pesticides dans les denrées alimentaires d'origine animale et produits à forte teneur en matière grasse (groupes B2c, B3a et B3b selon l'annexe I de la directive 96/23/CE du Conseil). <https://www.anses.fr/fr/system/files/LABO-Ft-RA2016LNR-Pesticides.pdf> (accédé le 30 octobre 2017). 18p.

LNR Santé des abeilles. 2017. Rapport annuel d'activité du Laboratoire National de Référence sur la Santé des abeilles. <https://www.anses.fr/fr/system/files/LABO-Ft-RA2016LNR-Abeilles.pdf> (accédé le 30 octobre 2017). 27p.

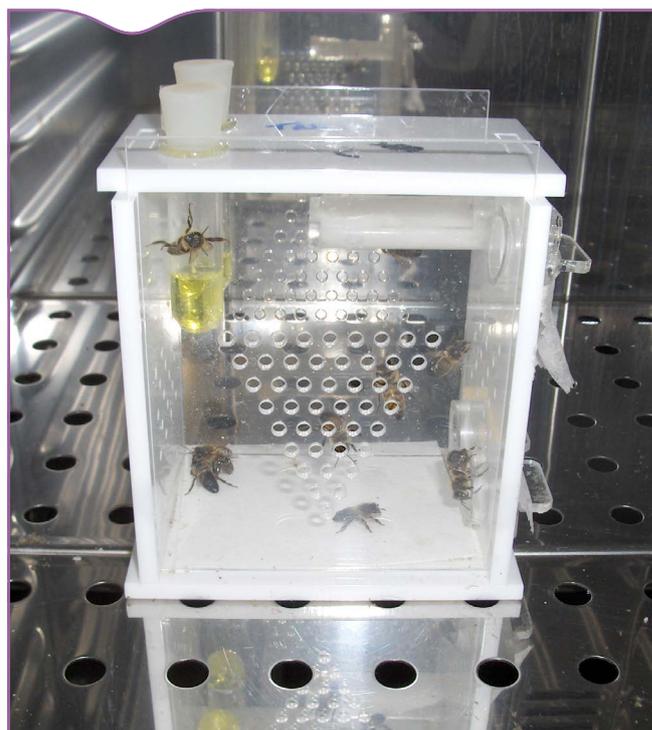


Figure 2. Elevage d'abeilles en cagette dans le laboratoire d'infectiologie expérimentale (source : Anses, Sophia Antipolis)