

Bulletin épidémiologique Santé animale - alimentation

Novembre 2017
Numéro spécial abeilles

Nosema ceranae (Microsporidia): un agent pathogène des abeilles mellifères controversé du 21^e siècle

Cet article est la traduction d'une partie d'une revue « *Nosema ceranae* (Microsporidia), a controversial 21st century honey bee pathogen »

Mariano Higes*, Aránzazu Meana (2), Carolina Bartolomé (3), Cristina Botías (1) et Raquel Martín-Hernández (1)
Environmental Microbiology Reports (2013) 5(1), 17–29 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23757127>

La sélection des parties retenues et la révision de la traduction ont été assurés par Marie-Pierre Chauzat (1), Didier Calavas (2) et Pascal Hendrikx (3)

(1) Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis, Sophia Antipolis, France

(2) Anses, Laboratoire de Lyon, Unité Épidémiologie, Lyon, France

(3) Anses, Laboratoire de Lyon, Unité de coordination et d'animation de la surveillance, Lyon, France

Résumé

Dans le monde entier, le secteur apicole est confronté à une menace grave, avec des pertes de colonies jusqu'à 100 à 1 000 fois plus importantes que celles que l'on a déjà connues. Malgré l'ampleur de cette mortalité des abeilles, les causes de ce phénomène ne sont pas clairement établies, même si l'on pense qu'il s'agit de processus multifactoriels. *Nosema ceranae*, une microsporidie récemment détectée chez l'Abeille domestique dans le monde entier, est impliquée dans le phénomène de perte de colonies, même si son rôle reste controversé. Cet article est une revue des connaissances actuelles sur cet agent pathogène. Il présente les résultats divergents en essayant d'analyser les différences, en particulier les différentes méthodologies appliquées et les aspects de la pathologie qui font débat, tout en abordant un point de vue biologique ou vétérinaire. Pour les auteurs, la maladie causée par l'infection à *N. ceranae* ne peut pas être considérée comme un problème régional, mais doit être abordée à l'échelle mondiale, comme le montre la forte prévalence de ce parasite chez de nombreux hôtes. Ce type de nosérose entraîne non seulement une pathologie évidente chez les abeilles mellifères, tant au niveau de l'individu qu'au niveau des colonies, mais a également des conséquences sur la production de produits de la ruche.

Mots-clés

Nosema ceranae, nosérose

Abstract

***Nosema ceranae* (Microsporidia), a controversial 21st century honey bee pathogen**

The worldwide beekeeping sector has been facing a grave threat, with losses up to 100–1000 times greater than those previously reported. Despite the scale of this honey bee mortality, the causes underlying this phenomenon remain unclear, yet they are thought to be multifactorial processes. *Nosema ceranae*, a microsporidium recently detected in the European bee all over the world, has been implicated in the global phenomenon of colony loss, although its role remains controversial. A review of the current knowledge about this pathogen is presented focussing on discussion related with divergent results, trying to analyse the differences specially based on different methodologies applied and divisive aspects on pathology while considering a biological or veterinarian point of view. For authors, the disease produced by *N. ceranae* infection cannot be considered a regional problem but rather a global one, as indicated by the wide prevalence of this parasite in multiple hosts. Not only does this type of nosemosis causes a clear pathology on honeybees at both the individual and colony levels, but it also has significant effects on the production of honeybee products.

Keywords

Nosema ceranae, nosémosis

À l'échelle mondiale, les abeilles mellifères jouent un rôle écologique et économique important car elles assurent la pollinisation de nombreuses cultures et plantes sauvages (FAO, 2006; Bradbear, 2009). Les pratiques agricoles actuelles, telles que la monoculture à grande échelle, nécessitent la présence d'abeilles à certaines périodes de l'année dans les régions où les populations d'espèces pollinisatrices adéquates sont insuffisantes tout au long de l'année. L'élevage des abeilles permet également de répondre à la demande en produits de la ruche, tels que le miel, la cire d'abeille et la gelée royale (Delaplane et Mayer, 2000), en particulier dans les régions tempérées où se pratique l'essentiel de l'apiculture professionnelle. En effet, environ 40 % des colonies d'abeilles européennes se trouvent dans des régions tempérées méditerranéennes, comme l'Espagne, l'Italie et la Grèce. Par conséquent, il est essentiel de maintenir des conditions sanitaires adéquates dans les colonies d'abeilles afin de garantir la continuité de la pollinisation et de la production de produits de la ruche.

Depuis plusieurs années, le monde apicole est confronté à une menace majeure, avec des pertes jusqu'à 100 à 1000 fois plus importantes que celles connues jusque-là (Parlement européen, 2010). Malgré l'ampleur de cette mortalité des abeilles, les causes de ce phénomène ne sont pas clairement établies, même si l'on pense qu'il s'agit de processus multifactoriels (Parlement européen, 2010; Higes et al., 2010; VanEngelsdorp et Meixner, 2010). Depuis 2007, la prise de conscience du grand public et des chercheurs a stimulé la création de groupes de travail et le financement d'études pour aborder ce problème d'échelle mondiale, en particulier dans des régions où l'apiculture professionnelle est fortement touchée.

La microsporidie *Nosema ceranae* (Figure 1) a été détectée chez l'Abeille européenne au même moment en Europe et en Asie (Higes et al., 2006; Huang et al., 2007), et est désormais l'un des agents pathogènes de l'abeille le plus prévalent dans le monde (Fries, 2010; Higes et al., 2010; Bernal et al., 2011; Traver et Fell, 2011; Medici et al., 2012; Martínez et al., 2012).

En outre, *N. ceranae* est impliqué dans le phénomène mondial de la perte de colonies, même si son rôle reste controversé. Étant donné la relation directe entre *N. ceranae* et les pertes de colonies en Espagne (Higes et al., 2009a; 2010), des groupes de recherche espagnols ont activement cherché à développer des stratégies pour limiter les pertes économiques qu'a entraînées cette microsporidie pour le secteur apicole professionnel. Certaines études suggèrent un lien entre cet agent pathogène et les pertes de colonies dans d'autres pays où les conditions climatiques sont similaires (Higes et al., 2005; 2006; 2008; 2009a; Bacandritsos et al., 2010; Borneck et al., 2010; Hatjina et al., 2011; Invernizzi et al., 2011; Soroker et al., 2011). En

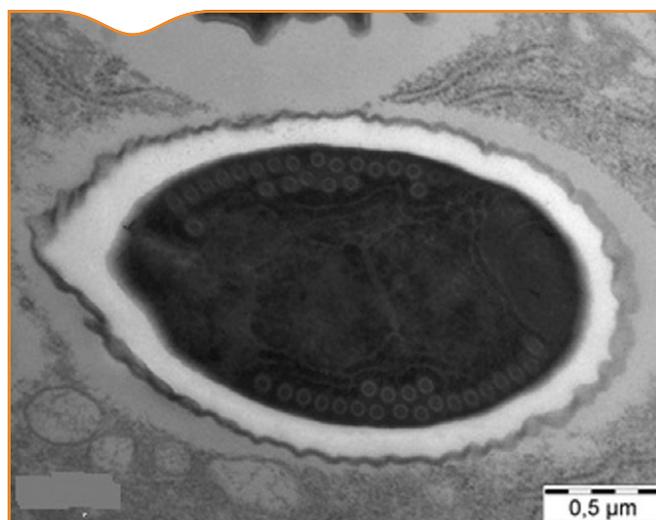


Figure 1. Spore mature de *Nosema ceranae* (microscopie électronique)

revanche, dans les pays plus froids, le rôle de cette microsporidie dans la perte de colonies a été exclu (Gisder et al., 2010; Hedtke et al., 2011; Stevanovic et al., 2011; Dainat et al., 2012a,b), ce qui suggère que certaines conditions spécifiques doivent être réunies pour favoriser les effets pathogènes de *N. ceranae*.

La maladie résulte d'interactions complexes entre les trois éléments fondamentaux en épidémiologie : l'agent pathogène, l'hôte et l'environnement. Chez les abeilles d'élevage, cette interaction est fortement influencée par des facteurs liés à la gestion et l'élevage. Dans cette revue, nous abordons les facteurs qui influencent chacun des éléments de cette triade épidémiologique, et résumons l'état actuel de la recherche sur *N. ceranae*, y compris les données issues d'autres champs de recherche.

Les variants génétiques de *Nosema ceranae* peuvent-ils avoir un pouvoir pathogène différent ?

Plusieurs auteurs ont suggéré que les effets pathologiques de *N. ceranae* en Espagne sont associés à la plus forte virulence de la souche espagnole (Genersch, 2010; Huang et al., 2012). Pour confirmer cette hypothèse, différents variants génétiques doivent d'abord être identifiés avec précision, puis analysés pour déterminer s'ils sont associés à des variations en termes de virulence, de distribution géographique ou de spécificité hôte-parasite.

Une forte variabilité génétique a été mise en évidence chez *Nosema*, ce qui amène à se demander comment une telle variabilité se produit. Des cas de recombinaison chez *N. ceranae* (Sagastume et al., 2010) sont étonnants dans des organismes que l'on croyait avoir un mode de reproduction asexué. Ainsi, il semblerait que l'on puisse regrouper les isolats en trois clusters en fonction de leur zone géographique d'origine : Asie, Amérique du nord (Williams et al., 2008; Chen et al., 2009b) et Argentine (Medici et al., 2012).

Divergences de sensibilité des hôtes et d'effets pathologiques à l'échelle de l'individu

L'hôte est un élément majeur de la triade épidémiologique, dans toutes les maladies. Par conséquent, il a été évoqué que des différences spécifiques entre les lignées pouvaient expliquer les effets pathologiques divergents de *N. ceranae* dans des laboratoires ou des pays différents. En effet, une revue de la littérature disponible met à jour des différences significatives entre les études, en termes de survie et de mortalité des abeilles infectées.

Dans les expérimentations en laboratoire, des facteurs comme l'âge des abeilles, la dose d'origine et la méthode de purification des spores infectantes, peuvent avoir un impact significatif sur la survie des abeilles infectées. Par exemple, le risque de nombreuses maladies infectieuses est très variable en fonction du moment de la vie de l'animal, en raison de modifications physiologiques liées à l'âge. On observe des résultats comparables lorsqu'on utilise de jeunes abeilles (élevées en incubateurs) (Higes et al., 2007; Martín-Hernández et al., 2009; 2011; Alaux et al., 2010; Vidau et al., 2011). Dans ces conditions, la mortalité est plus importante chez les abeilles infectées par *N. ceranae* que chez les abeilles non infectées, et on observe une tendance similaire lorsqu'on étudie de jeunes abeilles (Higes et al., 2007; Alaux et al., 2010; Martín-Hernández et al., 2011; Aufavre et al., 2012; Dussaubat et al., 2012), et lorsque des ouvrières du couvain sont infectées (Paxton et al., 2007), avec un taux de survie inférieur chez les abeilles infectées par rapport aux abeilles non infectées. Toutefois, une très faible mortalité a été observée lorsque des ouvrières adultes d'âge indéterminé (âgées en moyenne de 15

jours) ont été prélevées des rayons et ont été infectées, de façon expérimentale, par *N. ceranae* (Forsgren et Fries, 2010).

Un deuxième facteur qui influence la virulence de l'infection est la source et les conditions de conservation de l'inoculum de spores. L'effet de la température (congelé, réfrigéré ou ambiant) sur la viabilité des spores et la manipulation préalable (si les spores ont été purifiées ou non et la méthode utilisée) peuvent expliquer que l'on retrouve des résultats contradictoires et une mortalité des abeilles variable. Des différences de plasticité thermique ont été mises en évidence entre *N. apis* et *N. ceranae* (Fenoy et al., 2009; Gisder et al., 2010; revue de Martín-Hernández et al., 2009; Fries, 2010) et un choc thermique antérieur peut être, à tort, interprété comme une variabilité de virulence ou d'infectiosité entre les souches. De même, la dose de spores utilisée peut influencer directement la survie des abeilles.

Ces différences méthodologiques importantes doivent être prises en compte lorsque l'on compare les différentes études. Par exemple, la mortalité à 7 jours post-infection allait de 11,1 % à 93,1 % lorsque des spores purifiées au Percoll, conservées à température ambiante, ont été utilisées pour infecter des abeilles naissantes, auxquelles on a inoculé des doses de 10^3 à 10^5 spores par abeille et que l'on a maintenues à 33° C après l'infection (Martín-Hernández et al., 2011). Dans ces conditions, la mortalité des abeilles infectées était toujours supérieure à celle observée chez les témoins non infectés. À l'inverse, dans une autre étude, des spores récentes (aucune donnée n'est fournie sur la purification ou la température de conservation) ont été utilisées pour infecter des ouvrières adultes provenant d'une colonie (âgées de ~ 15 jours) avec des doses de 10^1 à 10^4 spores par abeille, et celles-ci ont été maintenues à 30°C post-infection (Forsgren et Fries, 2010). Malgré ces différences, et même si cette dernière étude ne fournit pas de détails exhaustifs sur la mortalité des abeilles, une mortalité accrue (+ 23 %) a été observée dans une cage d'abeilles infectées par *N. ceranae*, ce qui coïncide avec les résultats de Martín-Hernández et al. (2011), avec une dose de spores par abeille comparable. Toutefois, les conclusions de ces deux expérimentations diffèrent et elles ne peuvent pas être comparées en raison de différences méthodologiques importantes.

Les divergences mentionnées ci-dessus entre les études soulignent la nécessité de protocoles normalisés pour comparer les effets de l'infection à *Nosema* sur le taux de survie des abeilles mellifères, dans lesquels les paramètres suivants seront contrôlés : source des spores, conditions de conservation des spores, processus de purification des spores, viabilité et infectiosité des spores, température d'incubation des abeilles, âge des abeilles au moment de l'infection, sources des abeilles utilisées (colonie ou laboratoire), voire même facteurs nutritionnels ou différences génétiques restant à vérifier. En outre, les différences de conditions expérimentales doivent être mises en avant afin d'éviter des artefacts méthodologiques qui pourraient biaiser les résultats et les conclusions.

Au-delà des effets sur la mortalité des abeilles, plusieurs études ont exploré d'autres aspects de l'infection expérimentale par *N. ceranae* en laboratoire, notamment les effets sur la production d'hormones et de phéromones (Dussaubat et al., 2010; Alaux et al., 2011; Ares et al., 2012), l'immunosuppression (Antúnez et al., 2009; Chaimanee et al., 2012), le stress énergétique (Mayack et Naug, 2009; Martín-Hernández et al., 2011), le comportement (Naug et Gibbs, 2009; Campbell et al., 2010), les lésions anatomo-pathologiques (Higes et al., 2007; 2009b; Paxton et al., 2007; Dussaubat et al., 2012), le taux de glucides et d'acides aminés dans l'hémolymphe (Mayack et Naug, 2010; Aliferis et al., 2012), la dégénérescence tissulaire et le renouvellement cellulaire (Dussaubat et al., 2012), ainsi que sa synergie avec d'autres agents (Alaux et al., 2010; Vidau et al., 2011; Aufaivre et al., 2012). Ces études démontrent clairement que *N. ceranae* exerce des effets pathologiques sur *A. mellifera* similaires à ceux observés chez *A. florea* (Suwannapong et al., 2010).

Tant chez les abeilles infectées de façon expérimentale que naturelle (*A. mellifera*), l'infection par *N. ceranae* altère significativement le comportement de l'abeille et la physiologie du tissu infecté (ventricule).

Avec la détection du parasite par PCR, il a été évoqué que *N. ceranae* pouvait parasiter des structures autres que les cellules épithéliales du ventricule chez les ouvrières, comme les tubes de Malpighi, les glandes hypopharyngées et salivaires (Chen et al., 2009a; Gisder et al., 2010; Copley et Jabaji, 2012), la tête, le thorax, les ovaires, la spermathèque et les ovocytes (Traver et Fell, 2012).

Les nombreux effets délétères de l'infection par *N. ceranae* des abeilles mellifères, au niveau individuel, ont également des conséquences sur la colonie, en altérant directement l'homéostasie de la colonie.

Avec toutes les différences méthodologiques soulevées ici, il est difficile d'établir si les différences de mortalité sont dues à la méthodologie ou aux différences de sensibilité des sous-espèces hôtes. Une souche danoise d'abeilles obtenue par élevage sélectif, a récemment été décrite comme étant plus tolérante aux infections par *N. ceranae* (Huang et al., 2012), c'est pourquoi d'autres études doivent être menées avec différentes sous-espèces d'*A. mellifera* à l'aide de méthodes normalisées.

Nosema ceranae présente-t-il différents profils épidémiologiques ?

Les conditions environnementales influencent également fortement de nombreuses relations parasitaires et, quels que soient les effets de l'altitude, de la gestion de la flore et des colonies, dans les pays chauds comme l'Espagne, il a été observé que la température avait une influence sur les conséquences de *N. ceranae*. Ce facteur pourrait contribuer aux effets divergents de *N. ceranae* sur les colonies infectées à travers le monde et, en effet, des préférences climatiques différentes ont récemment été décrites pour les deux espèces de *Nosema* qui infectent les abeilles mellifères (Martín-Hernández et al., 2012). Même si les deux espèces étaient largement présentes dans la région concernée par l'étude, *N. ceranae* était la microsporidie la plus prévalente retrouvée chez *A. mellifera* dans les régions les plus chaudes (régions méditerranéennes), tandis que *N. apis* était plus prévalente dans les régions plus tempérées. Étant donné que l'infection par *N. ceranae* semble être plus fréquente dans les climats plus chauds et dans des zones géographiques spécifiques, cet élément doit être pris en compte lorsque l'on exporte des abeilles depuis ces régions (Fries, 2010), lorsque l'on se lance dans l'apiculture professionnelle dans des pays chauds (par ex. Espagne, Grèce, Italie), et lorsque l'on évalue l'impact de l'infection par *Nosema* dans des climats chauds.

Des effets environnementaux ont également été impliqués dans la compétition interspécifique entre *N. ceranae* et *N. apis*. *Nosema ceranae* est actuellement la microsporidie la plus prévalente et est souvent la seule espèce détectée chez les abeilles (Klee et al., 2007; Chen et al., 2008; Chen et Huang, 2010; Yoshiyama et Kimura, 2011; Martínez et al., 2012). Toutefois, cette tendance n'a pas été observée dans des régions d'Allemagne ou au Royaume-Uni (Budge et al., 2010; Gisder et al., 2010) où *N. apis* reste plus prévalente. En outre, une analyse récente de la prévalence des *Nosema* spp. à différents niveaux (individu, colonie, rucher, pays, castes d'abeilles) a révélé qu'aucun phénomène de substitution n'a été observé (Martín-Hernández et al., 2012). Bien que *N. ceranae* ait été l'espèce dominante tout au long de l'année, la prévalence de *N. apis* (beaucoup plus faible) a suivi un profil épidémiologique classique (avec un pic au printemps et en automne), similaire à celui décrit par le passé (Gómez Pajuelo et Fernández Arroyo, 1979; Orantes Bermejo et García-Fernández, 1997). Des résultats similaires ont également été observés aux États-Unis (Runckel et al., 2011; Dr R. Cramer, pers. comm.).

La majorité des études classiques ont décrit des profils typiques de prévalence dans les climats tempérés, avec un pic important au printemps lorsque davantage de colonies ont des taux d'infection détectables (Borchert, 1928 revue dans Bailey, 1955; Fries, 2010). Il est important de souligner que lorsque ces études ont été menées *N. apis* était considéré comme étant le seul agent étiologique de la nosérose. Plus récemment, une absence de saisonnalité a été observée dans des conditions tropicales et subtropicales (Fries et Raina, 2003; revue dans Fries, 2010), tandis que l'infection par *N. ceranae* a toujours été détectée tout au long de l'année à différentes latitudes (Martín-Hernández et al., 2007; 2012; Calderón et al., 2008; Higes et al., 2008; Hedtke et al., 2011; Runckel et al., 2011; Stevanovic et al., 2011; Traver et Fell, 2011; Whitaker et al., 2011; Medici et al., 2012; Smart et Sheppard, 2012; Botías et al., 2012a,b; Dainat et al., 2012a).

Dans toute discussion sur les effets environnementaux, la saisonnalité doit être définie. Dans les premières études, ce terme décrivait uniquement la détection de l'agent, ou l'observation de signes cliniques à un moment donné. Cependant, avec le développement de nouvelles méthodes scientifiques, la saisonnalité est aujourd'hui mesurée d'après la prévalence (Fries, 2010), la proportion d'abeilles infectées (Higes et al., 2008), le nombre moyen de spores (Higes et al., 2008; Traver et al., 2011), la valeur du Ct et le nombre moyen de copies (pour les analyses par PCR) (Traver et Fell, 2012). L'utilisation de l'un ou l'autre des paramètres a un impact direct sur le profil épidémiologique. Par exemple, même si le nombre de spores n'est pas un paramètre fiable d'infection (Meana et al., 2010), comparer l'infection des colonies en utilisant ce paramètre donne des taux supérieurs au printemps (avril à juin : Gisder et al., 2010; Traver et Fell, 2011; Traver et al., 2012) ou en automne-hiver (Higes et al., 2008).

Enfin, le fait est que *N. ceranae* est fortement prévalent dans les régions chaudes et sa présence dans les colonies est très importante. Dans ces conditions, de nombreuses abeilles infectées peuvent être directement associées aux signes cliniques observés dans les conditions réelles.

Signes cliniques de l'infection par *N. ceranae* dans les colonies d'abeilles mellifères

L'aspect de l'infection par *N. ceranae* qui est peut-être le plus controversé en apiculture est sa capacité à dépeupler ou tuer une colonie. Après que l'infection des abeilles par *N. ceranae* a été détectée pour la première fois et associée à l'effondrement des colonies en Espagne (Higes et al., 2006; Martín-Hernández et al., 2007), d'autres auteurs ont exclu son rôle dans la perte de colonies (Cox-Foster et al., 2007; Klee et al., 2007). À ce moment-là, peu de données étaient disponibles sur la virulence de *N. ceranae* au niveau de la colonie et elles étaient contradictoires, probablement en raison d'une mauvaise identification des signes cliniques de la maladie, du paramètre à utiliser pour évaluer l'impact de la maladie et d'une mauvaise compréhension des effets infracliniques de l'infection parasitaire. De plus, à cette époque, la seule caractéristique commune aux effondrements de colonies décrits à travers le monde était la mort des individus.

Traditionnellement, les postulats de Koch ont été utilisés comme critères pour déterminer si un micro-organisme donné entraînait une maladie donnée. D'autres limites apparaissent lorsque les signes cliniques d'une infection n'ont pas été décrits avec précision (ou ne sont pas largement acceptés), comme c'est le cas pour la nosérose de type C causée par l'infection par *N. ceranae*.

En tenant compte de ces limites, les postulats de Koch ont fait leur preuve pour les colonies d'abeilles mellifères infectées par *N. ceranae* (Higes et al., 2008), comme cela a été précédemment confirmé chez les abeilles au niveau individuel (voir ci-dessus).

Le point de vue biologique.

Les colonies d'abeilles mellifères sont des systèmes sociaux, dont la performance dépend de l'équilibre qui existe entre les membres de la colonie. En conséquence, tout effet au niveau individuel, dû à l'infection par *N. ceranae*, perturbera l'homéostasie de la colonie. La population de la colonie dépend fortement de la durée de vie des ouvrières (Woyke, 1984; Khoury et al., 2011), qui peut être gravement affectée par une infection par *N. ceranae* (Higes et al., 2007; Paxton et al., 2007; Martín-Hernández et al., 2011). Ces résultats montrent que *N. ceranae* peut activement réduire la population d'abeilles adultes (Higes et al., 2008; Botías et al., 2010; 2012a; Soroker et al., 2011; Eischen et al., 2012).

L'une des conséquences directes du taux de mortalité élevé des butineuses, qui est provoqué par l'infection par *Nosema* (Higes et al., 2008; 2010), est que les jeunes abeilles commencent à butiner plus tôt pour compenser la perte de butineuses disponibles (Huang et Robinson, 1996; Amdam et Omholt, 2003), ce qui modifie alors l'ensemble de l'organisation du travail dans la colonie (Wang et Moeller, 1970). Toutefois, ce mécanisme de compensation raccourcit la durée de vie globale des abeilles adultes (Neukirch, 1982; Schmid-Hempel et Wolf, 1988; Wolf et Schmid-Hempel, 1989) et leur efficacité et leur résilience en tant que butineuses (Oskay, 2007), et réduit également le temps que chaque abeille consacre à la croissance de la colonie et à la production du couvain. En outre, les activités internes au couvain, telles que l'hygiène et les soins au couvain peuvent être impactées par la disponibilité réduite d'abeilles nourrices qui prennent soin du couvain, ce qui augmente, à son tour, le risque de développer des maladies telles que l'ascosphérose (maladie fongique du couvain due à *Ascospheara apis*) (Hedtke et al., 2011). Lorsque la colonie atteint un point où elle ne peut plus assurer la production de couvain à une vitesse suffisante pour compenser la perte d'abeilles adultes, le déclin de la colonie s'accélère rapidement, ce qui entraîne une dépopulation (Khoury et al., 2011), qui constitue le seul signe évident d'infection par *Nosema ceranae* décrit (Higes et al., 2008; 2011; Botías et al., 2010; 2012a; Eischen et al., 2012).

Nosema ceranae altère également de façon significative le comportement alimentaire des abeilles infectées, en augmentant leur sensibilité au sucrose et en diminuant le partage des aliments entre les abeilles (Naug et Gibbs, 2009). De plus, cette microsporidie peut diminuer le taux de sucre dans l'hémolymphe des butineuses, au niveau individuel, et différencier leur état énergétique de celui de la colonie, auquel il est normalement très lié (Mayack et Naug, 2010). Par conséquent, cet état énergétique altéré peut diminuer d'environ deux tiers l'aptitude au vol des butineuses, par rapport à des butineuses non infectées, ce qui est vérifié par des facultés d'orientation altérées chez les abeilles infectées par *Nosema* et un taux d'infection moindre chez les butineuses rentrantes que chez les butineuses partantes (Kralj et Fuchs, 2010). Cette observation suggère que les butineuses infectées meurent pendant le butinage, comme décrit précédemment (Higes et al., 2008). C'est pourquoi il est inhabituel de retrouver des abeilles mortes ou mourantes à proximité de la ruche, en cas de nosérose de type C (Higes et al., 2008; 2009a; 2010; Borneck et al., 2010).

Une colonie infectée par *Nosema* perd constamment des abeilles, qui sont remplacées par des abeilles plus jeunes. La proportion de jeunes abeilles dans la colonie peut expliquer les écarts marqués en ce qui concerne l'impact du parasite (soit en termes de proportion d'abeilles infectées, soit en termes de charge parasitaire) observé au moment de la mort. Les colonies qui meurent l'hiver contiennent généralement peu ou pas d'abeilles naissantes du fait de la diminution ou de l'absence de couvain en entrée de période hivernale. Par conséquent, les abeilles survivantes de la ruche sont fortement infectées et peuvent même transmettre l'infection à la reine (Higes et al., 2008; 2009b). Si la colonie s'effondre au début du printemps, le nombre croissant d'abeilles naissantes va réduire la proportion d'abeilles infectées dans

la ruche et la charge parasitaire, de sorte que l'intensité de l'infection sera moindre que celle observée en hiver (Higes et al., 2008). Ce scénario diffère de celui qui survient lorsque les colonies s'effondrent à cause d'une infection par *Varroa destructor* (Rosenkranz et al., 2010). Dans ce cas, les abeilles qui restent au moment de l'effondrement présentent un taux élevé d'infestation en raison de la multiplication exponentielle des acariens au cours des mois précédents. Le fait que ces facteurs n'aient pas été pris en compte dans certains travaux pourraient expliquer les différences de résultats (Cox-Foster et al., 2007; Dainat et al., 2012a,b; Fernández et al., 2012).

En plus des effets de l'infection sur la dynamique de la colonie, plusieurs autres facteurs peuvent augmenter la sévérité de l'infection par *N. ceranae* sur le terrain, notamment l'exposition à des doses sublétales d'insecticides (Wu et al., 2012), qui peuvent augmenter la mortalité et la sensibilité des colonies aux agents pathogènes et favoriser le rôle de certains virus (Bromenshenk et al., 2010; Bacandritsos et al., 2010). Selon une étude récente, il y aurait une corrélation négative entre le virus des ailes déformées (DWV, de l'anglais deformed wing virus) et *N. ceranae* (Costa et al., 2011), du fait qu'ils se disputent les cellules hôtes ou des fonctions cellulaires spécifiques dans l'intestin moyen des abeilles: *N. ceranae* entraîne des lésions et une dégénérescence des cellules épithéliales de ces tissus (Higes et al., 2007), or, l'appareil digestif semble être un site critique dans la pathogénèse du DWV (Boncristiani et al., 2009).

Le point de vue vétérinaire

En médecine vétérinaire, un signe clinique est une indication objective d'un événement ou d'une caractéristique médicale spécifique qui peut être détectée par un vétérinaire lors d'un examen ou par un scientifique au moyen d'une analyse *in vivo* ou *in vitro* du sujet concerné. Chaque individu d'un groupe étant affecté de façon différente par un ou plusieurs des facteurs de la triade épidémiologique, une maladie qui survient dans un groupe (ruche) se manifeste souvent par une variété de signes, allant d'indétectables ou infracliniques à cliniques, voire fatals. Dans ce contexte, les signes cliniques sont des indicateurs d'une maladie qui peuvent être détectés lors d'un examen clinique classique, tandis que les signes infracliniques sont des indicateurs d'une maladie qui ne peuvent être détectés sans réaliser un examen spécifique. La diminution de la productivité est l'un des signes infracliniques les plus fréquents chez les animaux d'élevage.

De nombreuses analyses de l'infection par *N. ceranae* mesurent uniquement la perte de colonie sur une courte durée (comme par exemple, Williams et al., 2010; Fernández et al., 2012). Néanmoins, au-delà de leur rôle de pollinisatrices, les abeilles mellifères sont des animaux d'élevage qui produisent des denrées alimentaires et non-alimentaires utiles à l'Homme, même si les maladies des abeilles ne sont généralement pas abordées sous cet angle.

Étant donné que des effets négatifs de l'infection par *N. apis* sur la productivité des colonies avaient été décrits auparavant (Farrar, 1947; Moeller, 1962; Kauffeld et al., 1972; Fries et al., 1984), on a supposé que *N. ceranae* avait des effets similaires, étant donné sa rapidité de propagation et sa forte prévalence (revues par Fries, 2010 et Higes et al., 2010). En effet, la production de miel est directement corrélée au niveau d'infection des colonies (Botías et al., 2010; 2012a). Une corrélation négative entre le taux d'infection par *N. ceranae* (proportion de butineuses infectées par colonie) et la production de miel de la colonie (déterminée en pesant la quantité de miel produite par colonie) a été décrite dans des études sur le terrain menées chez des colonies expérimentales en Espagne (Botías et al., 2010; 2012a). Néanmoins, une publication espagnole récente (Fernández et al., 2012) a indiqué que les colonies d'abeilles infectées par *N. ceranae* étaient restées en vie pendant l'étude, avec une production de miel normale. Fait étonnant, la production de miel et

de pollen n'a pas été enregistrée pendant l'étude, et d'autres signes cliniques ou infracliniques n'ont pas été pris en compte ni mesurés. De ce fait, ces résultats doivent être pris avec précaution. Toutefois, d'autres études menées sous différents climats avec différentes techniques apicoles seront nécessaires pour corroborer ces résultats. Dans une étude canadienne, les alvéoles de miel et de pollen ont été évaluées visuellement, comme indicateurs de la vigueur des colonies, pour comparer des colonies non traitées et des colonies traitées par fumagilline (Williams et al., 2010). Aucune corrélation n'a été établie entre la présence de *N. ceranae* et la vigueur des colonies d'une part, la mortalité hivernale d'autre part, même si les groupes étudiés, traités ou non par fumagilline, ne présentaient pas tous des degrés d'infection différents.

L'influence des pratiques apicoles sur l'évolution de la maladie au niveau de la colonie est un autre aspect de l'infection par *N. ceranae* qui est rarement évalué. Une étude récente a démontré le rôle central que jouait la reine dans l'évolution de l'infection par *N. ceranae* dans les colonies d'abeilles mellifères (Botías et al., 2012a). Le retrait de la reine et son remplacement par une reine plus jeune diminuent la proportion de butineuses et de magasinères infectées par *Nosema*, tout en maintenant le taux d'infection global à un niveau compatible avec la viabilité de la colonie. Cet effet doit être pris en compte dans l'étude de l'évolution de la nosérose dans différentes zones géographiques où les reines sont souvent remplacées (naturellement ou par l'apiculteur). Les répercussions possibles des différentes pratiques apicoles, telles que les mesures prophylactiques, doivent également être prises en compte car leurs effets sur *N. ceranae* n'ont pas été établis, et les techniques de manipulation utilisées en Europe du Nord (Hedtke et al., 2011) sont très différentes de celles des régions méditerranéennes (Higes et al., 2008; 2009a; 2010; Bacandritsos et al., 2010; Hatjina et al., 2011).

En résumé, les données actuellement disponibles indiquent que *N. ceranae* est un agent pathogène important des colonies d'abeilles mellifères (Figure 2). Cette microsporidie entraîne une maladie aujourd'hui appelée nosérose de type C (Higes et al., 2010), qui se caractérise par différentes manifestations dues à plusieurs facteurs, dont certains sont connus et d'autres restent à identifier. En effet, de nombreux signes cliniques de cette maladie n'ont pas fait l'objet d'une grande attention, tant de la part des chercheurs que des apiculteurs, l'effondrement de la colonie étant généralement considéré comme étant le principal indicateur de la maladie.

La maladie due à l'infection par *N. ceranae* ne peut pas être considérée comme un problème circonscrit à l'Espagne, comme cela a été suggéré auparavant, mais plutôt comme un problème d'échelle mondiale, comme le montre la forte prévalence de ce parasite chez de nombreux hôtes. Ce type de nosérose touche non seulement les abeilles au niveau individuel et au niveau des colonies, mais il a également des effets considérables sur la production de produits de la ruche. Par conséquent, en plus de l'effondrement des colonies, il est essentiel de continuer à étudier les nombreux effets de l'infection par *N. ceranae* dans les colonies d'abeilles de différentes zones géographiques afin de fournir aux apiculteurs des mesures adéquates de contrôle de la maladie. C'est particulièrement nécessaire dans les régions tempérées, comme les pays méditerranéens où *N. ceranae* a une plus forte prévalence et est plus délétère. En outre, cette région compte un grand nombre d'apiculteurs professionnels et produit des quantités importantes de miel et de pollen, ce qui souligne l'ampleur des répercussions économiques de l'infection par *N. ceranae*. C'est pourquoi nous ne devons pas simplement nous voiler la face, mais, pour le bien de ces apiculteurs professionnels, nous devons rechercher des solutions pratiques à ce problème.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier O. Sánchez, A. I. Asensio, V. Albendea, C. Rogerio, T. Corrales et C. Abascal pour leur soutien technique. Le soutien



Figure 2. Colonie d'abeilles mellifères gravement impactée par *Nosema ceranae*

financier a été apporté par les financements de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (Consejería de Agricultura) et INIA-FEDER (RTA 2008-00020-C02-0, RTA2009-000105-C02-01 and RTA2009-00057).

Références bibliographiques

Alaux, C., Brunet, J.L., Dussaubat, C., Mondet, F., Tchamitchan, S., Cousin, M., et al. (2010) Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environ Microbiol* 12: 774–782.

Alaux, C., Folschweiller, M., McDonnell, C., Beslay, D., Cousin, M., Dussaubat, C., et al. (2011) Pathological effects of the microsporidium *Nosema ceranae* on honey bee queen physiology (*Apis mellifera*). *J Invertebr Pathol* 106: 380–385.

Aliferis, K.A., Copley, T., and Jabali, S. (2012) Gas chromatography-mass spectrometry metabolite profiling of worker honey bee (*Apis mellifera* L.) hemolymph for the study of *Nosema ceranae* infection. *J Insect Physiol* 58: 1349–1359.

Amdam, G.V., and Omholt, W. (2003) The hive bee to forager transition in honeybee colonies: the double repressor hypothesis. *J Theor Biol* 223: 451–464.

Anderson, D.L., and Giacón, H. (1992) Reduced pollen collection by honey bee (Hymenoptera, Apidae) colonies infected with *Nosema apis* and sacbrood virus. *J Econ Entomol* 85: 47–51.

Antúnez, K., Martín-Hernández, R., Prieto, L., Meana, A., Zunino, P., and Higes, M. (2009) Immune-suppression in the honey bee (*Apis mellifera*) following infection by *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Environ Microbiol* 11: 2284–2290.

Ares, A.M., Nozal, M.J., Bernal, J.L., Martín-Hernández, R., Higes, M., and Bernal, J. (2012) Liquid chromatography coupled to ion trap-tandem mass spectrometry to evaluate juvenile hormone III levels in bee hemolymph from *Nosema* spp. infected colonies. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 899: 146–153.

Aufauvre, J., Biron, D.G., Vidau, C., Fontbonne, R., Roudel, M., Diogon, M., et al. (2012) Parasite-insecticide interactions: a case study of *Nosema ceranae* and fipronil synergy on honeybee. *Sci Rep* 2: 326 (1–7).

Bacandritsos, N., Granato, A., Budge, G., Papanastasiou, I., Roinioti, E., Caldon, M., et al. (2010) Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies. *J Invertebr Pathol* 105: 335–340.

Bailey, L. (1955) The epidemiology and control of *Nosema* disease of the honeybee. *Ann Appl Biol* 43: 379–389.

Bernal, J., Martín-Hernández, R., Diego, J.C., Nozal, M.J., González-Porto, A.V., Bernal, J.L., and Higes, M. (2011) An exposure study to assess the potential impact of fipronil in treated sunflower seeds on honey bee colony losses in Spain. *Pest Manag Sci* 67: 1320–1331.

Boncrisiani, H.F., Di Prisco, G., Pettis, J.S., Hamilton, M., and Chen, Y.P. (2009) Molecular approaches to the analysis of deformed wing virus replication and pathogenesis in the honey bee, *Apis mellifera*. *Virology* 6: 221 (1–9). doi:10.1186/1743-422X-6-221.

Borchert, A. (1928) Beiträge zur Kenntnis der Bienen Parasiten *Nosema apis*. *Archiv Bienenkunde* 9: 115–178.

Borneck, R., Viry, A., Martín-Hernández, R., and Higes, M. (2010) Honey bee colony losses in the Jura Region, France and related pathogens. *J Apic Res* 49: 334–336.

Botías, C., Martín-Hernández, R., Meana, A., and Higes, M. (2010) Negative effects of *Nosema* infection in honey production and vitality of honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Spain. EURBEE, 4th European Conference of Apidology (Edited by Meral Kence), 7–9 September 2010, Ankara, Turkey.

Botías, C., Martín-Hernández, R., Barrios, L., Garrido-Bailón, E., Nanetti, A., Meana, A., and Higes, M. (2011) *Nosema* spp. parasitization decreases the effectiveness of acaricide strips (Apivar®) in treating varroosis of honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) colonies. *Environ Microbiol Rep* 4: 57–65.

Botías, C., Martín-Hernández, R., Díaz, J., García-Palencia, P., Matabuena, M., Juarranz, A., et al. (2012a) The effect of induced queen replacement on *Nosema* spp. infection in honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) colonies. *Environ Microbiol* 14: 845–859.

Botías, C., Anderson, D., Meana, A., Garrido-Bailón, E., Martín-Hernández, R., and Higes, M. (2012b) Further evidence of an oriental origin for *Nosema ceranae* (Microsporidia: Nosematidae). *J Invertebr Pathol* 110: 108–113.

Bradbeer, N. (2009) *Bees and Their Role in Forest Livelihoods. A Guide to the Services Provided by Bees and the Sustainable Harvesting, Processing and Marketing of Their Products. Non-Wood Forest Products 19*. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

Bromenshenk, J.J., Henderson, C.B., Wick, C.H., Stanford, M.F., Zulich, A.W., Jabour, R.E., et al. (2010) Iridovirus and microsporidian linked to honey bee colony decline. *PLoS ONE* 5: e13181.

Budge, G., Powell, M., Roberts, K., Adams, I., Jones, B., Marris, G., et al. (2010) What has *Nosema* got to do with losses? Monitoring both *Nosema* species in the UK. In Proceedings of the 4th European Conference of Apidology (Edited by Meral Kence), 7–9 September 2010, Ankara, Turkey.

Calderón, R.A., Sanchez, L.A., Yáñez, O., and Fallas, N. (2008) Presence of *Nosema ceranae* in Africanized honey bee colonies in Costa Rica. *J Apic Res* 47: 328–329.

Campbell, J., Kessler, B., Mayack, C., and Naug, D. (2010) Behavioural fever in infected honeybees: parasitic manipulation or coincidental benefit? . *Parasitology* 137: 1487–1491.

Chaimanee, V., Chen, Y., Pettis, J.S., Scott Cornman, R., and Chantawannakul, P. (2011) Phylogenetic analysis of *Nosema ceranae* isolated from European and Asian honeybees in Northern Thailand. *J Invertebr Pathol* 107: 229–233.

Chaimanee, V., Chantawannakul, P., Chen, Y., Evans, J.D., and Pettis, J.S. (2012) Differential expression of immune genes of adult honey bee (*Apis mellifera*) after inoculated by *Nosema ceranae*. *J Insect Physiol* 58: 1090–1095.

Chen, Y., Evans, J.D., Smith, I.B., and Pettis, J.S. (2008) *Nosema ceranae* is a long-present and wide-spread microsporidian infection of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the United States. *J Invertebr Pathol* 97: 186–188.

Chen, Y., Evans, J.D., Zhou, L., Boncrisiani, H., Kimura, K., Xiao, T., et al. (2009b) Asymmetrical coexistence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in honey bees. *J Invertebr Pathol* 101: 204–209.

Chen, Y.P., and Huang, Z.Y. (2010) *Nosema ceranae*, a newly identified pathogen of *Apis mellifera* in the USA and Asia. *Apidologie* 41: 364–374.

Chen, Y.P., Evans, J.D., Murphy, C., Gutell, R., Zuker, M., Gundensen-Rindal, D., and Pettis, J.S. (2009a) Morphological, molecular, and phylogenetic characterization of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite isolated from the European honey bee, *Apis mellifera*. *J Eukaryot Microbiol* 56: 142–147.

Choi, Y., Lee, Y., Cho, K.S., Lee, S., Russell, J., Choi, J., and Jeong, G. (2011) Chimerical nature of the ribosomal RNA gene of a *Nosema* species. *J Invertebr Pathol* 107: 86–89.

Copley, T.R., and Jabaji, S.H. (2012) Honeybee glands as possible infection reservoirs of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in naturally infected forager bees. *J Appl Microbiol* 112: 15–24.

- Cornman, R.S., Chen, Y.P., Schatz, M.C., Street, C., Zhao, Y., Desany, B., et al. (2009) Genomic analyses of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of honey bees. *PLoS Pathog* 5: e1000466.
- Costa, C., Tanner, G., Lodesani, M., Maistrello, L., and Neumann, P. (2011) Negative correlation between *Nosema ceranae* spore loads and deformed wing virus infection levels in adult honey bee workers. *J Invertebr Pathol* 108: 224–225.
- Cox-Foster, D.L., Conlan, S., Holmes, E.C., Palacios, G., Evans, J.D., Moran, N.A., et al. (2007) A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science* 318: 283–287.
- Dainat, B., Evans, J.D., Chen, Y.P., Gauthier, L., and Neumann, P. (2012a) Predictive markers of honey bee colony collapse. *PLoS ONE* 7: e32151.
- Dainat, B., vanEngelsdorp, D., and Neumann, P. (2012b) Colony collapse disorder in Europe. *Environ Microbiol Rep* 4: 123–121.
- Delaplane, K.S., and Mayer, D.F. (2000) *Crop Pollination by Bees*. Wallingford, UK and New York, USA: CABI Publishing, ISBN 0 85199 448 2 (HB).
- Down, R.E., Bell, H.A., Bryning, G., Kirkbride-Smith, A.E., Edwards, J.P., and Weaver, R.J. (2008) Infection by the microsporidium *Vairimorpha necatrix* (Microspora: Microsporidia) elevates juvenile hormone titres in larvae of the tomato moth, *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Invertebr Pathol* 97: 223–229.
- Dussaubat, C., Maisonnasse, A., Alaux, C., Tchamitchan, S., Brunet, J.L., Plettner, E., et al. (2010) *Nosema* spp. infection alters pheromone production in honey bee (*Apis mellifera*). *J Chem Ecol* 36: 522–525.
- Dussaubat, C., Brunet, J.L., Higes, M., Colbourne, J.K., López, J., Choi, J.H., et al. (2012) Gut pathology and responses to the microsporidium *Nosema ceranae* in the honey bee *Apis mellifera*. *PLoS ONE* 7: e37017.
- Eckert, C.D., Winston, M.L., and Ydenberg, R.C. (1994) The relationship between population size, amount of brood, and individual foraging behaviour in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Oecologia* 97: 248–255.
- Eickbush, T.H., and Eickbush, D.G. (2007) Finely orchestrated movements: evolution of the ribosomal RNA genes. *Genetics* 175: 477–485.
- Eischen, F.A., Graham, R.H., and Rivera, R. (2012) Impact of *Nosema ceranae* on honey bee colonies: a 14 month study. In Proceedings of the 2012 American Bee Research Conference: 7–8 February 2012; Greenbelt MD.
- VanEngelsdorp, D., and Meixner, M.D. (2010) A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *J Invertebr Pathol* 103: S80–S95.
- European Parliament (2010) Resolution of 25 November 2010 on the situation in the beekeeping sector [WWW document]. URL <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?pubRef=-//EP//TEXT+TA+P7-TA-2010-0440+0+DOC+XML+VO//EN>.
- Farrar, C.L. (1947) *Nosema* losses in package bees as related to queen supersedeure and honey yields. *J Econ Entomol* 40: 333–338.
- Fenoy, S., Rueda, C., Higes, M., Martín-Hernández, R., and Águila, C. (2009) High-level resistance of *Nosema ceranae*, a parasite of the honeybee, to temperature and desiccation. *Appl Environ Microbiol* 75: 6886–6889.
- Fernández, J.M., Puerta, F., Cousinou, M., Dios-Palomares, R., Campano, F., and Redondo, L. (2012) Asymptomatic presence of *Nosema* spp. in Spanish commercial apiaries. *J Invertebr Pathol* 111: 106–110.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2006) Economic valuation of pollination services: review of methods. In *Tools for Conservation and Use of Pollination Services*. FAO (ed.). Rome, Italy: FAO Agriculture Department, Seed and Plant Genetic Resources Division (AGPS), p. 43.
- Forsgren, E., and Fries, I. (2010) Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. *Vet Parasitol* 170: 212–217.
- Frank, S.A. (1996) Models of parasite virulence. *Q Rev Biol* 71: 37–78.
- Frank, S.A., and Schmid-Hempel, P. (2008) Mechanisms of pathogenesis and the evolution of parasite virulence. *J Evol Biol* 21: 396–404.
- Fries, I. (1988) Comb replacement and *Nosema* disease (*Nosema apis* Z.) in honey bee colonies. *Apidologie* 19: 343–354.
- Fries, I. (2010) *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *J Invertebr Pathol* 103 (Suppl. 1): S73–S79.
- Fries, I., and Raina, S. (2003) American foulbrood (*Paenibacillus larvae larvae*) and African honey bees (*Apis mellifera scutellata*). *J Econ Entomol* 96: 1641–1646.
- Fries, I., Ekbohm, G., and Villumstad, E. (1984) *Nosema apis*, sampling techniques and honey yield. *J Apic Res* 23: 102–105.
- García-Palencia, P., Martín-Hernández, R., González-Porto, A.V., Marín, P., Meana, A., and Higes, M. (2010) Natural infection by *Nosema ceranae* causes similar lesions as in experimentally infected caged-workers honey bees (*Apis mellifera*). *J Apic Res* 49: 278–283.
- Gatehouse, H.S., and Malone, L.A. (1998) The ribosomal RNA gene region of *Nosema apis* (Microsporida): DNA sequence for small and large subunit rRNA genes and evidence of a large tandem repeat unit size. *J Invertebr Pathol* 71: 97–105.
- Genersch, E. (2010) Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Appl Microbiol Biotechnol* 87: 87–97.
- Giray, T., Çakmak, I., Ayding, L., Kandemir, I., Inci, A., Oskay, D., et al. (2007) Preliminary survey results on 2006–2007 colony losses in Turkey. *Uluda Bee J* 7: 101–107.
- Gisder, S., Hedtke, K., Möckel, N., Frielitz, M.C., Linde, A., and Genersch, E. (2010) Five-year cohort study of *Nosema* spp. in Germany: does climate shape virulence and assertiveness of *Nosema ceranae*? *Appl Environ Microbiol* 76: 3032–3038.
- Gómez Pajuelo, A., and Fernández Arroyo, M.P. (1979) Enfermedades de las abejas en España, Madrid, 1979. Hatjina, F., Tsoktouridis, G., Bouga, M., Charistos, L., Evangelou, V., Avtzis, D., et al. (2011) Polar tube protein gene diversity among *Nosema ceranae* strains derived from a Greek honey bee health study. *J Invertebr Pathol* 108: 131–134.
- Hedtke, K., Jensen, P.M., Jensen, A.B., and Genersch, E. (2011) Evidence for emerging parasites and pathogens influencing outbreaks of stress-related diseases like chalkbrood. *J Invertebr Pathol* 108: 167–173.
- Higes, M., Martín, R., Sanz, A., Álvarez, N., Sanz, A., García-Palencia, P., and Meana, A. (2005) El Síndrome de Despoblamiento de las Colmenas en España. Consideraciones sobre su origen. *Vida Apícola* 133: 15–21.
- Higes, M., Martín, R., and Meana, A. (2006) *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *J Invertebr Pathol* 92: 93–95.
- Higes, M., García-Palencia, P., Martín-Hernández, R., and Meana, A. (2007) Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with the Microsporidia *Nosema ceranae*. *J Invertebr Pathol* 94: 211–217.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Botías, C., Garrido-Bailón, E., González-Porto, A.V., Barrios, L., et al. (2008) How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environ Microbiol* 10: 2659–2669.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Garrido-Bailón, E., González-Porto, A.V., García-Palencia, P., Meana, A., et al. (2009a) Honeybee colony collapse due to *Nosema ceranae* in professional apiaries. *Environ Microbiol Rep* 1: 110–113.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., García-Palencia, P., Marín, P., and Meana, A. (2009b) Horizontal transmission of *Nosema ceranae* (Microsporidia) from worker honeybees to queens (*Apis mellifera*). *Environ Microbiol* 1: 495–498.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., and Meana, A. (2010) *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis. *Apidologie* 41: 375–392.
- Higes, M., Nozal, M.J., Álvaro, A., Barrios, L., Meana, A., Martín-Hernández, R., et al. (2011) The stability and effectiveness of fumagillin in controlling *Nosema ceranae* (Microsporidia) infection in honey bees (*Apis mellifera*) under laboratory and field conditions. *Apidologie* 42: 364–377.
- Huang, Q., Kryger, P., Le Conte, Y., and Moritz, R.F.A. (2012) Survival and immune response of drones of a nosemosis tolerant honey bee strain towards *N. ceranae* infections. *J Invertebr Pathol* 109: 297–302.
- Huang, W.F., Jiang, J.H., Chen, Y.W., and Wang, C.H. (2007) A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie* 38: 30–37.
- Huang, W.F., Bocquet, M., Lee, K.C., Sung, I.H., Jiang, J.H., Chen, Y.W., and Wang, C.H. (2008) The comparison of rDNA spacer regions of *Nosema ceranae* isolates from different hosts and locations. *J Invertebr Pathol* 97: 9–13.
- Huang, Z.Y., and Robinson, G.E. (1996) Regulation of honey bee division of labor by colony age demography. *Behav Ecol Sociobiol* 39: 147–158.
- Invernizzi, C., Santos, E., García, E., Daners, G., Di Landro, R., Saadoun, A., and Cabrera, C. (2011) Sanitary and nutritional characterization of honeybee colonies in *Eucalyptus grandis* plantations. *Arch Zootec* 60: 1303–1314.
- Ironside, J.E. (2007) Multiple losses of sex within a single genus of Microsporidia. *BMC Evol Biol* 7: 48.
- Kauffeld, N.M., Williams, J.L., Lehnert, T., and Moeller, F.E. (1972) *Nosema* control in package bee production – fumigation with ethylene oxide and feeding with fumagillin. *Am Bee J* 112: 297–301.
- Kauffeld, N.M., Everitt, J.H., and Taylor, E.A. (1976) Honey bee problems in the Rio Grande Valley of Texas. *Am Bee J* 116: 220–222, 232.
- Khoury, D.S., Myerscough, M.R., and Barron, A.B. (2011) A quantitative model of honey bee colony population dynamics. *PLoS ONE* 6: e18491.
- Klee, J., Besana, A.M., Genersch, E., Gisder, S., Nanetti, A., Tam, D.Q., et al. (2007) Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. *J Invertebr Pathol* 96: 1–10.
- Kralj, J., and Fuchs, S. (2010) *Nosema* sp. influences flight behavior of infected honey bee (*Apis mellifera*) foragers. *Apidologie* 41: 21–28.

- L'Arrivée, J.C.M. (1963) The effect of sampling sites on *Nosema* determination. *J Insect Pathol* 5: 349–355.
- Lin, H., Sullivan, J., and Huang, Z.Y. (2009) Mechanisms through which *Nosema apis* affects onset of foraging in worker honeybees (*Apis mellifera* L.). In: Proceedings Workshop 'Nosema disease: lack of knowledge and work standardization' (COST Action FA0803) Guadalajara, 19–22 October 2000 [WWW document]. URL <http://www.coloss.org/news/nosema-workshop-proceedings-online>.
- Liu, H., Pan, G., Song, S., Xu, J., Li, T., Deng, Y., and Zhou, Z. (2008) Multiple rDNA units distributed on all chromosomes of *Nosema bombycis*. *J Invertebr Pathol* 99: 235–238.
- Martínez, J., Leal, G., and Conget, P. (2012) *Nosema ceranae* an emergent pathogen of *Apis mellifera* in Chile. *Parasitol Res* 111: 601–607.
- Martín-Hernández, R., Meana, A., Prieto, L., Martínez-Salvador, A., Garrido-Bailón, E., and Higes, M. (2007) Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Appl Environ Microbiol* 73: 6331–6338.
- Martín-Hernández, R., Meana, A., García-Palencia, P., Marín, P., Botías, C., Garrido-Bailón, E., et al. (2009) Effect of temperature on the biotic potential of honeybee microsporidia. *Appl Environ Microbiol* 75: 2554–2557.
- Martín-Hernández, R., Botías, C., Barrios, L., Martínez-Salvador, A., Meana, A., Mayack, C., and Higes, M. (2011) Comparison of the energetic stress associated with experimental *Nosema ceranae* and *Nosema apis* infection of honeybees (*Apis mellifera*). *Parasitol Res* 3: 605–612.
- Martín-Hernández, R., Botías, C., Bailón, E.G., Martínez-Salvador, A., Prieto, L., Meana, A., and Higes, M. (2012) Microsporidia infecting *Apis mellifera*: coexistence or competition. Is *Nosema ceranae* replacing *Nosema apis*? *Environ Microbiol* 14: 2127–2138.
- Mayack, C., and Naug, D. (2009) Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. *J Invertebr Pathol* 100: 185–188.
- Mayack, C., and Naug, D. (2010) Parasitic infection leads to decline in hemolymph sugar levels in honeybee foragers. *J Insect Physiol* 56: 1572–1575.
- Meana, A., Martín-Hernández, R., and Higes, M. (2010) The reliability of spore counts to diagnose *Nosema ceranae* infections in honey bees. *J Apic Res Bee World* 49: 212–214.
- Medici, S.K., Sarlo, E.G., Porrini, M.P., Braunstein, M., and Eguaras, M.J. (2012) Genetic variation and widespread dispersal of *Nosema ceranae* in *Apis mellifera* apiaries from Argentina. *Parasitol Res* 110: 859–864.
- Moeller, F.E. (1962) *Nosema* disease control in package bees. *Am Bee J* 90: 390–392.
- Müller, A., Trammer, T., Chioralia, G., Seitz, H.M., Diehl, V., and Franzen, C. (2000) Ribosomal RNA of *Nosema algerae* and phylogenetic relationship to other microsporidia. *Parasitol Res* 86: 18–23.
- Murilhas, A.M. (2002) *Varroa destructor* infestation impact on *Apis mellifera* carnica capped worker brood production, bee population and honey storage in a Mediterranean climate. *Apidologie* 33: 271–281.
- Nabian, S., Ahmadi, K., Nazem Shirazi, M.H., and Sadeghian, G.A. (2011) First detection of *Nosema ceranae*, a microsporidian protozoa of European honeybees (*Apis mellifera*) in Iran. *Iran J Parasitol* 6: 89–95.
- Naug, D. (2009) Nutritional stress due to habitat loss may explain recent honeybee colony collapses. *Biol Conserv* 142: 2369–2372.
- Naug, D., and Gibbs, A. (2009) Behavioral changes mediated by hunger in honeybees infected with *Nosema ceranae*. *Apidologie* 40: 595–599.
- Neukirch, A. (1982) Dependence of the life span of the honeybee (*Apis mellifera*) upon flight performance and energy consumption. *J Comp Physiol* 146: 35–40.
- O'Mahony, E.M., Tay, W.T., and Paxton, R.J. (2007) Multiple rRNA variants in a single spore of the microsporidian *Nosema bombi*. *J Eukaryot Microbiol* 54: 103–109.
- Orantes Bermejo, F.J., and García-Fernández, P. (1997) *Nosema* disease in the honey bee (*Apis mellifera* L.) infected with *Varroa mites* in Southern Spain. *Apidologie* 28: 105–112.
- Oskay, D. (2007) Plasticity in flight muscle development and honey bee division of labor. Thesis submitted to the Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Puerto Rico, Puerto Rico.
- Paxton, R.J., Klee, J., Korpela, S., and Fries, I. (2007) *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie* 38: 558–565.
- Pickard, P.S., and El-Shemy, A.A.M. (1989) Seasonal variation in the infection of honeybee colonies with *Nosema apis* Zander. *J Apic Res* 28: 93–100.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., and Ziegelmann, B. (2010) Biology and control of *Varroa destructor*. *J Invertebr Pathol* 103: S96–S119.
- Runckel, C., Flenniken, M.L., Engel, J.C., Ruby, J.G., Ganem, D., Andino, R., and DeRisi, J.L. (2011) Temporal analysis of the honey bee microbiome reveals four novel viruses and seasonal prevalence of known viruses, *Nosema*, and *Critidia*. *PLoS ONE* 6: e20656.
- Sagastume, S., del Águila, C., Martín-Hernandez, R., Higes, M., and Henriques-Gil, N. (2010) Polymorphism and recombination for rDNA in the putatively asexual microsporidian *Nosema ceranae*, a pathogen of honeybees. *Environ Microbiol* 13: 84–95.
- Schmid-Hempel, P. (1994) Infection and colony variability in social insects. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 346: 313–321.
- Schmid-Hempel, P., and Wolf, R.J. (1988) Foraging effort and life span in workers of social insects. *J Anim Ecol* 57:509–522.
- Shafer, A.B., Williams, G.R., Shutler, D., Rogers, R.E., and Stewart, D.T. (2009) Cophylogeny of *Nosema* (Microsporidia: Nosematidae) and bees (Hymenoptera: Apidae) suggests both cospeciation and a host-switch. *J Parasitol* 95: 198–203.
- Slamovits, C.H., Williams, B.A., and Keeling, P.J. (2004) Transfer of *Nosema locustae* (Microsporidia) to *Antonosporea locustae* n. comb. based on molecular and ultrastructural data. *J Eukaryot Microbiol* 51: 207–213.
- Smart, M.D., and Sheppard, W.S. (2012) *Nosema ceranae* in age cohorts of the western honey bee (*Apis mellifera*). *J Invertebr Pathol* 109: 148–151.
- Soroker, V., Hertzroni, A., Yakobson, B., David, D., David, A., Voet, H., et al. (2011) Evaluation of colony losses in Israel in relation to the incidence of pathogens and pests. *Apidologie* 42: 192–199.
- Stevanovic, J., Stanimirovic, Z., Genersch, E., Kovacevic, S.R., Ljubenkovic, J., Radakovic, M., and Aleksic, N. (2011) Dominance of *Nosema ceranae* in honey bees in the Balkan countries in the absence of symptoms of colony collapse disorder. *Apidologie* 42: 49–58.
- Suwannapong, G., Maksong, S., Seanbualuang, P., and Benbow, M.E. (2010) Experimental infection of red dwarf honeybee, *Apis florea*, with *Nosema ceranae*. *J Asia Pac Entomol* 13: 361–364.
- Suwannapong, G., Yemor, T., Boonpakdee, C., and Benbow, M.E. (2011) *Nosema ceranae*, a new parasite in Thai honeybees. *J Invertebr Pathol* 106: 236–241.
- Szabo, T.I., and Lefkovich, L.P. (1989) Effect of brood production and population size on honey production of honeybee colonies in Alberta, Canada. *Apidologie* 20: 157–163.
- Taber, S., and Lee, H. (1973) Seasonal variation in levels of *Nosema* infection in honey bees in Arizona. *Glean Bee Cult* 101: 281–282, 299.
- Tay, W.T., O'Mahony, E.M., and Paxton, R.J. (2005) Complete rRNA gene sequences reveal that the microsporidium *Nosema bombi* infects diverse bumblebee (*Bombus* spp.) hosts and contains multiple polymorphic sites. *J Eukaryot Microbiol* 52: 505–513.
- Traver, B.E., and Fell, R.D. (2011) Prevalence and infection intensity of *Nosema* in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Virginia. *J Invertebr Pathol* 107: 43–49.
- Traver, B.E., and Fell, R.D. (2012) Low natural levels of *Nosema ceranae* in *Apis mellifera* queens. *J Invertebr Pathol* 110: 408–410.
- Traver, B.E., Williams, M.R., and Fell, R.D. (2012) Comparison of within hive sampling and seasonal activity of *Nosema ceranae* in honey bee colonies. *J Invertebr Pathol* 109: 187–193.
- Vidau, C., Diogon, M., Aufauvre, J., Fontbonne, R., Viguès, B., Brunet, J.L., et al. (2011) Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by *Nosema ceranae*. *PLoS ONE* 6: e21550.
- Wang, D.I., and Moeller, F.E. (1970) The division of labor and queen attendance behaviour of *Nosema* infected worker honeybees. *J Econ Entomol* 63: 1539–1541.
- Whitaker, J., Szalansky, A.L., and Kence, M. (2011) Molecular detection of *Nosema ceranae* and *N. apis* from Turkish honey bees. *Apidologie* 42: 174–180.
- Williams, G.R., Shafer, A.B., Rogers, R.E., Shutler, D., and Stewart, D.T. (2008) First detection of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite of European honey bees (*Apis mellifera*), in Canada and central USA. *J Invertebr Pathol* 97: 189–192.
- Williams, G.R., Shutler, D., Little, C.M., Burgher-MacLellan, K.L., and Rogers, R.E.L. (2010) The microsporidian *Nosema ceranae*, the antibiotic Fumagilin-B®, and western honey bee (*Apis mellifera*) colony strength. *Apidologie* 42: 15–22.
- Wolf, T.J., and Schmid-Hempel, P. (1989) Extra loads and foraging life-span in honeybee workers. *J Anim Ecol* 58: 943–954.
- Woyke, J. (1984) Correlations and interactions between population, length of worker life and honey production by honeybees in a temperate region. *J Apic Res* 23: 148–156.
- Wu, Y.J., Smart, M.D., Anelli, C.M., and Sheppard, W.S. (2012) Honey bees (*Apis mellifera*) reared in brood combs containing high levels of pesticide residues exhibit increased susceptibility to *Nosema* (Microsporidia) infection. *J Invertebr Pathol* 109: 326–329.
- Yoshiyama, M., and Kimura, K. (2011) Distribution of *Nosema ceranae* in the European honeybee, *Apis mellifera* in Japan. *J Invertebr Pathol* 106: 263–267.