

8.2.1. Méthode d'estimation du niveau d'infestation par *V. destructor*.

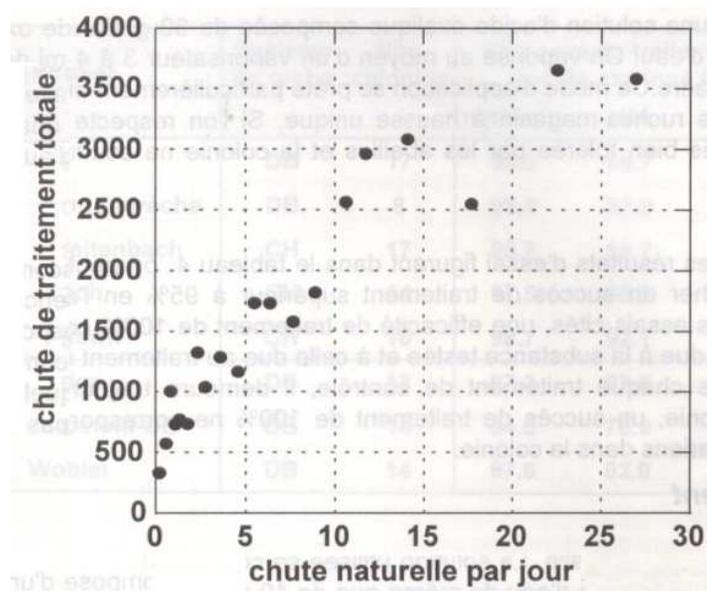
L'estimation du niveau d'infestation est déterminante pour la mise en place des stratégies de lutte, pour l'évaluation de l'efficacité des traitements, ainsi que pour la mise en place de programmes de sélection.

8.2.1.1. Méthode dite << des langes >>

La méthode dite << des langes >> consiste à comptabiliser le nombre de *V. destructor* tombés naturellement sur une lange graissée placée sur le sol d'une ruche à fond grillagé. Une corrélation existe entre le nombre journalier de chutes et la population totale d'acariens au sein d'une colonie (Figure 83) (Branco *et al.*, 2006 ; Faucon *et al.*, 2007). Pour augmenter la fiabilité de la méthode, la moyenne des chutes journalières doit être établie sur plusieurs jours.

Figure 83 : Relation entre la chute naturelle journalière et la population totale de *Varroa destructor* (adapté, d'après Charrière *et al.*, 1998).

Après traitement total, bien qu'aucune molécule acaricide ne montre une efficacité de 100 %, on peut estimer que si le traitement acaricide est efficace, la population de *V. destructor* récoltée sur le fond des ruches à l'issue du traitement s'approche de la population totale d'acariens présente au moment de la mise en place de ce traitement.



Selon les études, le rapport 'nombre d'acariens tombés journalièrement' / 'population totale des acariens phorétiques' est compris dans les intervalles 0,16-1,16 % (Faucon *et al.*, 2007), 2,8-23,9 % (Vandame *et al.*, 2002).

Il existe une forte corrélation entre la chute de *V. destructor* et l'émergence du couvain d'abeilles. Cette chute du parasite est deux fois plus élevée au niveau du couvain d'ouvrières par rapport à celui de faux-bourçons. Différentes études montrent que 18 % (Boot *et al.*, 1995), 30 % (Martin et Kemp, 1997), 38 % (Lobb et Martin, 1997) de la population en phase reproductive chute à l'émergence du couvain d'ouvrières et 12 % à l'émergence du couvain de faux-bourçons. Ce résultat suggère que plus de la moitié des *V. destructor* qui chutent dans ces conditions sont encore vivants mais meurent rapidement (Lobb et Martin, 1997).

La population de *V. destructor* peut être estimée rapidement en multipliant le nombre de *V. destructor* recueilli journalièrement au fond de la ruche par 250-500 ou 20-40 respectivement

en absence et présence de couvain. D'autres auteurs proposent d'estimer le nombre d'acariens dans la colonie à partir des chutes naturelles en multipliant les chutes quotidiennes d'acariens par 400 de novembre à février, par 30 de mai à août, par 100 les mois de mars, avril, septembre et octobre (Martin, 1998b).

Une équation établie par régression linéaire permet d'obtenir le nombre total d'acariens au sein de la colonie (M) à partir des données sur les acariens morts naturellement chaque semaine (Dm) : $\log (Dm) = -2,818 + 1,035 \log (M)$ (Branco *et al.*, 2006).

L'avantage de la méthode d'estimation du niveau d'infestation par comptage des *V. destructor* trouvés au fond de la ruche est qu'elle est peu fastidieuse comparée aux autres méthodes. Elle est également non destructive et peut être mise en place par les apiculteurs eux-mêmes. Cette estimation reste toutefois très imprécise. En effet de nombreux paramètres, notamment environnementaux peuvent influencer sur le résultat (Branco *et al.*, 2006 ; Faucon *et al.*, 2007).

En outre, cette méthode semble fiable uniquement pour des colonies qui ne sont pas en phase d'effondrement (Branco *et al.*, 2006 ; Lobb et Martin, 1997).

8.2.1.2. À partir d'un traitement d'épreuve

Cette méthode consiste à réaliser une application unique d'un acaricide. Le dénombrement des parasites tombés sur le sol de la ruche muni d'un fond grillagé se fait à l'issue du traitement.

Toutefois, si ce traitement est réalisé en présence de couvain, il ne touchera que les acariens phorétiques et non les acariens en phase de reproduction.

Ainsi, le nombre d'acariens tombés suite à ce traitement d'épreuve permettra une estimation, là encore imprécise, du niveau d'infestation de la colonie (Colin, communication personnelle).

8.2.1.3. À partir du niveau d'infestation d'un échantillon de couvain operculé et d'abeilles

Une première méthode consiste à dénombrer les femelles fondatrices présentes dans des échantillons de couvain operculé de faux-bourçons et d'ouvrières, ainsi que les acariens phorétiques présents sur un échantillon d'abeilles, afin d'obtenir les taux d'infestations respectifs. Il est important de signaler que l'analyse séparée de ces deux types d'échantillons ne permet pas d'aboutir à une évaluation précise du niveau d'infestation d'une colonie d'abeilles (Branco *et al.*, 2006). Charrière *et al.* (1998) signalent notamment que le taux de parasitisme des alvéoles de faux-bourçons peut varier du simple au sextuple en l'espace d'une semaine sans rapport avec l'étude réelle de la population de *V. destructor*.

Pour cette méthode, au moins un échantillon de 200 alvéoles de couvain operculé d'ouvrières, toutes les alvéoles de faux-bourçons, et un échantillon de 200 abeilles doivent être analysés. Toutefois, plus l'échantillon sera important, plus l'estimation sera précise.

Cette méthode demande un très gros travail de terrain et de laboratoire. Elle est destructrice et ne peut donc pas être employée régulièrement au sein de la même colonie. Enfin, elle n'apparaît pas adaptée pour des niveaux d'infestation bas.

La connaissance du taux d'infestation permet de mettre en place des programmes de sélection, ainsi que de réaliser un traitement raisonné des colonies (Lee *et al.*, 2010).

Afin d'obtenir l'estimation précise de la population totale d'acariens à partir des taux d'infestations, information utile surtout à des fins de recherche, il est nécessaire d'estimer

également le plus précisément possible le nombre d'abeilles et la quantité de couvain présent au sein de la colonie (Branco *et al.*, 2006).

Une autre étude propose différentes formules d'estimation rapide du nombre d'acariens en fonction de la saison. Cette étude a été réalisée en Angleterre et ne s'applique peut-être pas en climat français (Martin (1998) cité par Vandame *et al.*, 2009) :

- Nombre d'acariens en été = Nombre de cellules de faux-bourçons operculées infestées / Nombre de cellules de faux-bourçons de l'échantillon x Nombre de cellules de faux-bourçons dans une colonie x 10 ;
- Nombre d'acariens en été = Nombre de cellules d'ouvrières operculées infestées / Nombre de cellules d'ouvrières operculées de l'échantillon x Nombre de cellules d'ouvrières operculées dans une colonie x 1,8 ;
- Nombre d'acariens en été = Nombre d'abeilles adultes infestées / Nombre d'abeilles de l'échantillon x Nombre total d'abeilles dans une colonie x 2,9 ;
- Nombre d'acariens en hiver = Nombre d'abeilles adultes infestées / Nombre d'abeilles de l'échantillon x Nombre total d'abeilles dans une colonie.

La séparation des *V. destructor* fixés sur les abeilles adultes peut se faire par différentes méthodes (Macedo *et al.*, 2002) :

- un lavage de l'échantillon avec tout détergent,
- un lavage de l'échantillon à l'éthanol,
- un lavage de l'échantillon à l'éther,
- en saupoudrant de sucre glace l'échantillon d'abeilles, puis en secouant l'ensemble.

Cette dernière méthode présente l'avantage de préserver les abeilles.

8.2.2. Lutte par la réalisation de traitements acaricides

Le contrôle du parasitisme de *V. destructor* a été réalisé dans les années 1980 par l'utilisation d'acaricides à la fois efficaces contre *V. destructor*, et tolérés par *A. mellifera* (European working group for the co-ordination of research on integrated *Varroa* control, 1998-1999 ; Milani, 1999 ; Weissenberger, 1988).

Les qualités recherchées pour un traitement sont (Colin, 2011):

- une bonne efficacité vis-à-vis de l'agent à traiter,
- une innocuité pour l'abeille,
- qu'il n'entraîne pas de résistance,
- une innocuité pour le manipulateur,
- qu'il ne contamine pas les produits de la ruche.

Afin de limiter la charge parasitaire en dessous d'un seuil compatible avec un développement harmonieux des colonies (moins de 50 parasites par colonie en fin de saison), cinq médicaments disposant d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) pour la varroose de l'abeille sont actuellement disponibles en France : l'Apistan ND (principe actif : tau-fluvalinate), l'Apivar ND (principe actif : amitraze), l'Apiguard ND (principe actif : thymol), le Thymovar (principe actif : thymol) et l'Apilife-Var ND (principes actifs : thymol (76%), eucalyptol (16,4%), camphre (3,8%), menthol (3,8%)).

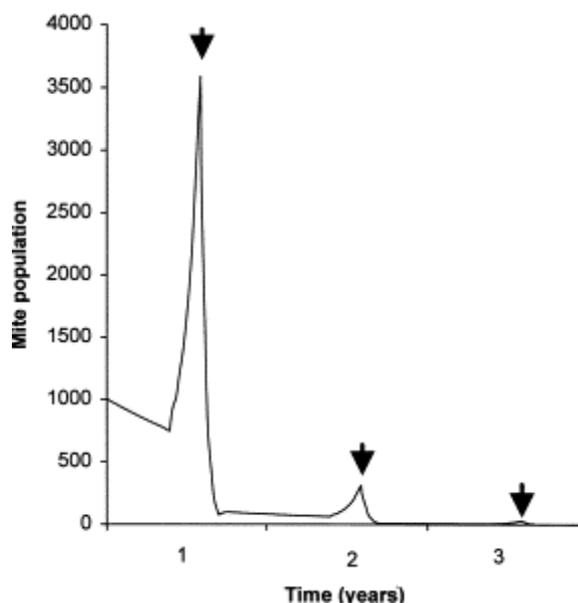
D'autres molécules sont autorisées en Europe : le coumafos (Autriche, Belgique, Chypre, Allemagne, Grèce, Hongrie, Italie, Portugal, Roumanie, Slovaquie, Bulgarie), l'acrinathine (République Tchèque, Lituanie), la fluméthrine (pyréthrinolide) (Estonie, Allemagne, Grèce, Hongrie, Irlande, Lettonie, Lituanie, Malte, Pologne, Portugal, Roumanie, Slovaquie, Slovaquie, Espagne, Royaume-Uni, Bulgarie). Il faut signaler qu'une des molécules les plus

utilisées en France, considérée comme la plus efficace : l'amitrazé, n'est pas autorisée dans d'autres pays européens (Autriche, Belgique, Chypre, Danemark, Estonie, Finlande, Islande, Norvège, Suède, Allemagne, Grèce, Hongrie, Irlande, Lettonie, Lituanie, Malte, Pays-Bas, Bulgarie, Royaume-Uni) (Vidal-Naquet, 2009)

Nous allons présenter dans cette partie les molécules acaricides les plus employées en France dans le cadre de la lutte contre le parasite.

Figure 84 : Modélisation de l'effet d'un traitement acaricide annuel avec une efficacité de 99% sur la population de *V. destructor* (Martin, 1998a).

(Mite population = Population d'acariens, Time (years) = temps (années)).



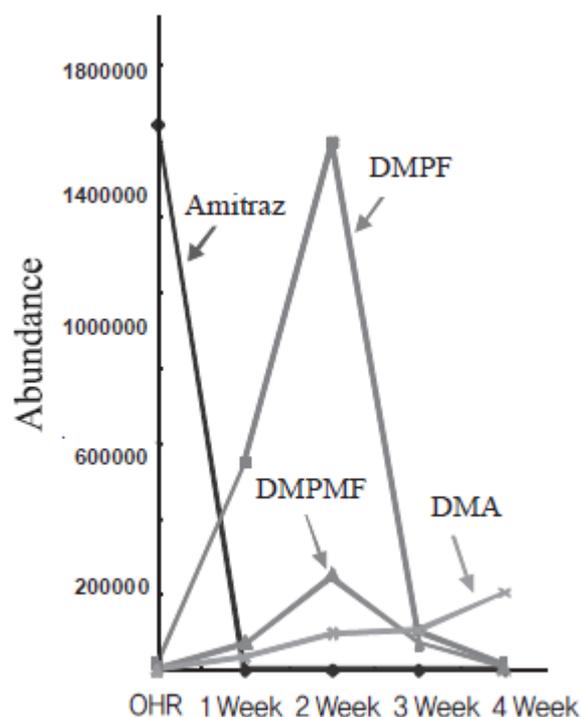
8.2.2.1. Les molécules de synthèse

8.2.2.1.1. L' amitrazé

L'amitrazé est une molécule volatile liposoluble appartenant à la famille des formamidines qui n'est stable ni dans le miel, ni dans la cire. Cette molécule est dégradée complètement en plusieurs métabolites après 3 à 4 semaines (Figure 85). Les métabolites engendrés ont une nature non stable, excepté un, le 2,4-dimethylaniline (DMA) (Hong *et al.*, 2009 ; Kilani *et al.*, 1981 ; Lodesani *et al.*, 1992 ; Lodesani *et al.*, 2008, Wallner, 1999). Le 2,4-dimethylaniline est une molécule potentiellement tératogène (Osano *et al.*, 2002) et cancérigène (IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 1987), toutefois sa dangerosité pour l'Homme n'a pas été prouvée aux doses retrouvées dans les produits issus de la ruche.

Figure 85 : Profil de dégradation de l'amitraz dans le miel durant 4 semaines (Hong *et al.*, 2009).

Les principaux produits de dégradation sont le 2,4-dimethylaniline (DMA), le 2,4-dimethylphenylformamide (DMPF) et le N-(2,4-dimethylphenyl)-N'-methyl-formamidine (DMPMF).



En France, le seul médicament vétérinaire possédant une AMM pour la varroose de l'abeille avec comme principe actif l'amitraz est l'Apivar ND. L'Apivar ND est actuellement, parmi les médicaments disponibles, celui qui présente les meilleurs résultats à la fois en terme d'efficacité et en terme de répétabilité pour réduire la population de *V. destructor* (Figure 88) (Vandame, 2010).

Des cas de résistance du parasite à l'amitraz sont rapportés depuis quelques années. Elles ont été signalées en Serbie en 1991 (Dujin *et al.*, 1991), en 1999 aux États-Unis (Elzen *et al.*, 1999), en France à partir de 2001 (Bonafos et Colin, 2011 ; Faucon et Drajudel, 2004 ; Faucon *et al.*, 2007 ; Mathieu et Faucon, 2000), au Mexique en 2005 (Rodriguez-Dehaibes *et al.*, 2005) et en 2010 en Argentine (Maggi *et al.*, 2010).

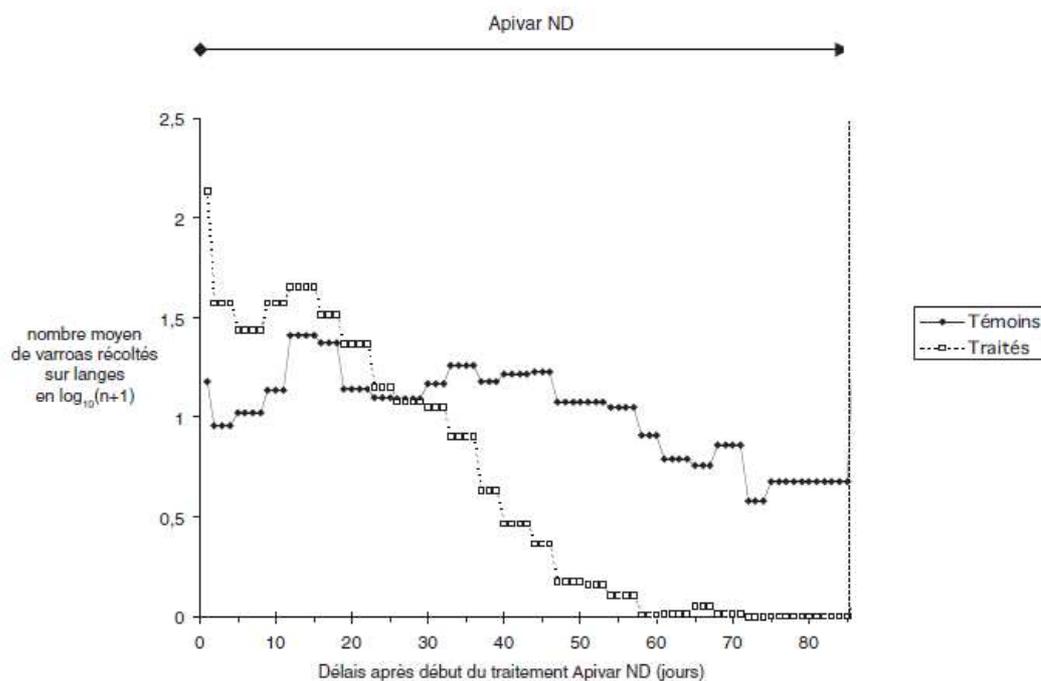
On rappellera qu'avant de statuer sur une baisse d'efficacité liée à une résistance, il est nécessaire d'analyser les circonstances qui pourraient aboutir à une baisse d'efficacité du produit (Faucon *et al.*, 2007):

- le déplacement de la grappe d'abeilles en dehors du contact des lanières,
- une météorologie défavorable : en période froide, l'activité des abeilles au sein de la grappe sera plus réduite et la diffusion du produit actif sera moindre,
- la présence de couvain operculé au moment du traitement protégera les parasites présents dans les cellules. Ces *V. destructor* seront exposés à la molécule acaricide au maximum 14 jours après le début du traitement.

Malgré le fait que l'AMM du médicament indique un traitement de 6 semaines, il est actuellement conseillé, afin d'optimiser le traitement, de maintenir les lanières en place pendant 10 semaines en débutant le traitement le plus tôt possible après la dernière miellée de fin d'été (Figure 86) (Faucon *et al.*, 2007).

Figure 86 : Comparaison de la cinétique de chute de parasites dans des colonies traitées à l'Apivar ND (Amitraze) et dans des colonies témoins (adapté, d'après Faucon *et al.*, 2007).

En ordonnée : moyenne des *V. destructor* décomptés quotidiennement (transformation logarithmique), en abscisse : chronologie en jour compté à partir de la pose des lanières d'Apivar ND.



Il est à signaler que l'emploi d'amitrazé sous forme extemporanée à partir d'autres spécialités vétérinaires (ex : Tactic ND) pose, outre l'absence d'AMM, le problème de l'efficacité du traitement : l'action sera le plus souvent immédiate et non rémanente. Ainsi, seuls les acariens phorétiques au moment du traitement seront soumis à l'action acaricide, les acariens en phase de reproduction restant protégés à l'intérieur des alvéoles operculées (Faucon *et al.*, 2007). D'autre part, un contact prolongé avec des doses non maîtrisées augmente les risques de résistance.

8.2.2.1.2.

Le tau-fluvalinate

Le tau-fluvalinate est un modulateur des canaux sodiums. C'est une molécule insecticide et acaricide non sélective appartenant à la famille des pyréthriinoïdes qui agit principalement sur la transmission nerveuse (Colin *et al.*, 1997 ; Lasnier, 1990 ; Rosenkranz *et al.*, 2010).

Cette molécule est non volatile et liposoluble. Les caractéristiques chimiques de cette molécule font qu'elle s'accumule dans la cire, accumulation qui de plus perdure dans le temps. Des résidus peuvent également être retrouvés dans le miel (Lodesani *et al.*, 1992 ; Lodesani *et al.*, 2008 ; Nguyen *et al.*, 2009 ; Wallner, 1999).

Cette molécule est bien tolérée par les colonies d'abeilles aux doses utilisées pour le contrôle de *V. destructor* (Colin *et al.*, 1997).

En France, le seul médicament vétérinaire possédant une AMM pour la varroose de l'abeille avec comme principe actif le tau-fluvalinate est l'Apistan ND.

La fréquence d'utilisation du tau-fluvalinate a diminué ces dernières années suite à l'apparition de résistances. La résistance à cette molécule a tout d'abord été détectée en Italie en 1992-1993 (Lodesani *et al.*, 1995), puis s'est étendue en Europe (Colin *et al.*, 1997 ; Gracia-Salinas *et al.*, 2006 ; Trouiller, 1998) et aux États-Unis (Baxter *et al.*, 1998).

Toutefois, le pourcentage d'acariens résistants au tau-fluvalinate semblerait décroître de près de 10 % dans les populations de *V. destructor* non traitées depuis 3 ans par cette molécule. Ce phénomène est lié à une dilution des parasites résistants aux pyréthrinoïdes dans la cohorte de parasites sensibles. Ce phénomène peut être exploité dans le cadre de programmes de gestion de la résistance (Milani et Della Vedova, 2002).

8.2.2.2. Les molécules présentes naturellement dans le miel.

8.2.2.2.1. L'acide oxalique

L'acide oxalique ne dispose pas d'AMM en France. Cette substance est toutefois inscrite à l'annexe II du règlement CEE 2377/90 (principes actifs qui n'exigent pas une valeur de LMR (Limite Maximale de Résidus) du fait du risque négligeable qu'ils font peser sur le consommateur), mais figure à la liste des substances vénéneuses. Il peut ainsi être utilisé sous ordonnance vétérinaire en respectant les règles de la cascade (Barbançon et Monod, 2005 ; Colin, 2011).

L'acide oxalique est un constituant naturel du miel et de nombreux végétaux (rhubarbe, épinard, betterave rouge,...) (Charrière et Imdorf, 2002 ; Rademacher et Harz, 2006).

L'acide oxalique est une molécule non volatile hydrosoluble. De part ses propriétés chimiques, cette molécule est retrouvée facilement dans le miel. Cependant, lorsque le traitement est réalisé suivant les recommandations, les valeurs détectées dans les miels sont du même ordre de grandeur que les valeurs retrouvées naturellement. Les mesures réalisées ne montrent pas d'accumulation de cette substance dans la cire (Wallner, 1999).

L'acide oxalique est appliqué par dégouttement (application du produit en goutte à goutte entre les cadres de ruches), par sublimation (mise en place de cristaux qui se subliment dans la ruche) ou par pulvérisation d'une solution aqueuse sur les abeilles qui se tiennent sur les rayons.

Ce traitement n'est efficace qu'en l'absence de couvain (plus de 80-90 % d'efficacité en absence de couvain, moins de 60 % lors de présence de couvain) (Charrière et Imdorf, 2002 ; Martin-Hernandez *et al.*, 2007) et constitue souvent un traitement de début d'hiver complémentaire à un traitement de fin d'été.

Les trois méthodes d'applications semblent être équivalentes en terme de résultats. Toutefois, la méthode par dégouttement semble la plus facile à mettre en place : le matériel nécessaire est dérisoire : une seringue, un contenant pour la solution d'acide oxalique, des vêtements de protection ; l'application est également rapide, économique et facile à mettre en place (Rademacher et Harz, 2006). C'est pourquoi, nous présentons dans cette partie les recommandations pour le traitement à l'acide oxalique par dégouttement.

La synthèse de différents essais ont conduit à la formulation de recommandations pour le traitement à l'acide oxalique par dégouttement (Barbançon et Monod, 2005 ; Charrière et Imdorf, 2002 ; Rademacher et Harz, 2006) :

- composition de la solution : 35 à 40 g d'acide oxalique dihydrate de pureté pharmaceutique dans un litre d'eau sucrée (rapport eau/sucre (poids) = 1 /1) ;
- posologie: 5 ml entre chaque cadre occupé au format de ruche Dadant. En tout, cela représente un volume de 30 ml de solution pour une petite colonie, 40 ml pour une colonie de taille moyenne et 50 ml pour une colonie forte. Une seule application est nécessaire ;
- période de traitement : Dans les colonies sans couvain (novembre – décembre) ;
- remarques :
 - o ne réaliser qu'un seul traitement à l'automne ou en début d'hiver, une répétition du traitement engendrant une trop forte mortalité d'abeilles ;

- ne pas réaliser ce traitement en présence de couvain du fait de sa faible efficacité dans ce cas ;
- le liquide doit être placé directement sur les abeilles présentes entre les cadres.
- traiter avec une solution tiède ;
- traiter lorsque la température est supérieure à 3°C ;
- le traitement peut engendrer un léger affaiblissement des colonies au printemps ;
- il est impératif d'utiliser des vêtements et lunettes de protection.

Le traitement à l'acide oxalique présente une efficacité correcte: plus de 80 % des *V. destructor* meurent suite à l'application du traitement. Néanmoins, l'acide oxalique présente une toxicité sur l'abeille. Une mortalité significativement plus importante des abeilles est observée dans des colonies traitées comparée à des colonies témoins. Des altérations des organes internes de l'abeille sont également observées après traitement. Les organes les plus touchés concernent le tractus digestif, en particulier les épithéliums du ventricule et du rectum (Martin-Hernandez, 2007).

Aucun phénomène de résistance du parasite à cette substance n'a à ce jour été décrit (Le Conte *et al.*, 2010).

8.2.2.2.2. L'acide formique

L'acide formique ne dispose pas d'AMM en France.

L'acide formique est un composé présent naturellement dans le miel (Bogdanov, 2006).

C'est un composé organique hydrophile très volatile qui ne s'accumule ni dans le miel, ni dans la cire. Une contamination du miel peut intervenir, uniquement si les préconisations d'emploi ne sont pas respectées (Hood et McCreadie, 2001).

C'est le seul acaricide qui, appliqué à fortes doses, est capable de tuer *V. destructor* dans les cellules de couvain operculé. Son mécanisme d'action n'est pas précisément connu (Rosenkranz *et al.*, 2010).

Il est utilisé dans les traitements de 'secours' durant la période apicole entre deux miellées. La molécule est diffusée dans la ruche par évaporation (Charrière *et al.*, 1998).

Cependant, une perte d'efficacité est notée lors de fortes chaleurs. Des pertes de reines suite à l'application du traitement sont également signalées (Charrière *et al.*, 1998).

Deux modalités de traitement sont proposées. Pour chacune d'elle, une protection corporelle adaptée sera à envisager :

- un traitement ponctuel (les préconisations suivantes ont été établies pour un traitement de fin d'été) (Imdorf et Charrière, 1999 ; Imdorf *et al.*, 1996).

Cette méthode comporte deux phases d'application d'une semaine chacune (début août et fin septembre). Pour chaque semaine, 2 à 3 applications sont réalisées. La durée d'efficacité est d'environ 6 à 10 heures pour chaque application.

Un chiffon, une éponge ou un carton permettant une surface d'évaporation de 15 x 20 cm serviront de support à la solution contenant le produit actif. Deux modalités d'application sont différenciées. Pour la première, le traitement se fait par le haut de la ruche. Dans ce cas, une dilution d'acide formique à 60 % est proposée. Dans la seconde, le traitement se fait par le bas de la ruche : une dilution à 85 % d'acide formique est indiquée. Le dosage est de 30 ml pour une ruche de format 'Dadant'. Le moment d'application dépend de la température extérieure : si la température est de 12 à 20°C, le traitement sera réalisé durant la journée, si la température se situe entre 20 à 25°C, le traitement aura lieu le matin ou le soir ; enfin, si la température dépasse les 25°C, le traitement aura lieu tôt le matin.

- un traitement à long terme

Le traitement à long terme a comme intérêt de nécessiter moins de manipulation au niveau de la ruche que le traitement ponctuel.

Lors d'un traitement à long terme, la concentration en acide formique est moindre dans l'air de la ruche que lors d'un traitement ponctuel, mais son action est plus longue et régulière.

Des diffuseurs destinés à cet effet sont disponibles dans le commerce (Charrière *et al.*, 1998).

La réalisation d'un diffuseur simple est proposée (Imdorf *et al.*, 1996a) :

Il s'agit d'imbiber une plaque en fibre de bois poreuse (plaque utilisée pour l'isolation de bâtiments) avec de l'acide formique. On essaiera d'obtenir un gain de poids équivalent à 250g d'acide formique. Un film plastique sera alors placé autour de cette plaque. Les auteurs indiquent que le diffuseur préparé pourra être conservé au congélateur.

Avant l'application, des trous seront réalisés à travers ce film plastique dans cette plaque pour permettre la diffusion de la molécule active.

La taille des trous, ainsi que la taille de la plaque devront être testées auparavant, ce paramètre dépendant du matériau choisi, du type de ruches, ainsi que du microclimat du rucher.

Pour garantir une efficacité optimale, il est nécessaire d'obtenir une évaporation de 10 g par jour d'acide formique à l'intérieur de la ruche.

Pour un traitement de fin d'été, une première diffusion du produit est réalisée pendant une semaine en août, une seconde est à prévoir au mois de septembre pendant une durée de 2 semaines. La même plaque sera utilisée pour l'ensemble du traitement, conservée entre 2 applications emballée dans un film plastique au congélateur.

Ce traitement doit être réalisé 1 mois avant une miellée.

L'efficacité de ces deux modes de traitement, lorsqu'ils sont réalisés en suivant les préconisations jusqu'à leur terme, apparaît bonne : 90 à 95 % d'efficacité. Une grande variabilité d'efficacité entre colonies traitées est néanmoins relevée. Ainsi, il est conseillé de contrôler les chutes naturelles d'acariens 2 semaines après la dernière application.

Si plus d'une chute journalière d'acariens est observée, un traitement complémentaire à l'acide oxalique en absence de couvain est à envisager (Cf. chapitre 8.2.2.2.1) (Imdorf *et al.*, 1996a ; Imdorf *et al.*, 1999).

8.2.2.2.3.

Le thymol

L'activité acaricide de plus 150 huiles essentielles ont été testées. Seules quelques-unes se sont révélées prometteuses lors d'essais de terrains. Parmi elles, seul le thymol s'est imposé en pratique, en particulier dans les protocoles de lutte biologique (Imdorf et Bogdanov, 1999).

Le thymol fait partie de la famille des mono-terpènes. C'est une molécule retrouvée naturellement dans le miel (Wallner, 1999). C'est une molécule volatile et liposoluble. Elle peut s'accumuler dans la cire, et dans le miel mais sa concentration décroît au fil du temps (Lodesani *et al.*, 1992). Les résidus retrouvés dans le miel le sont toutefois à des doses très faibles et ne présentent aucun danger pour la consommation humaine (Bogdanov, 2006 ; Emsen et Dodoglu, 2009). Cette molécule possède en outre une bonne innocuité pour l'abeille (Imdorf *et al.*, 1999).

En France, 3 médicaments vétérinaires à base de thymol possèdent une AMM pour la varroose de l'abeille : l'Apiguard ND, le Thymovar ND et l'Apilife-Var ND.

Les formulations à base de thymol semblent avoir une efficacité variable (66 à 98 %). Les variabilités observées dépendent principalement du mode d'administration et de la température (Vandame, 2010).

Dans le mélange d'huiles essentielles proposé dans la formulation commerciale Apilife-Var ND (thymol (76 %), eucalyptol (16,4 %), camphre (3,8 %), menthol (3,8 %)), seul le thymol semble avoir une activité acaricide. En effet, le camphre ne possède pas d'activité acaricide et l'eucalyptol et le menthol ne sont pas présent en concentration suffisante pour exprimer leurs propriétés acaricides. Plusieurs auteurs s'accordent sur le fait que l'unique principe actif possédant des propriétés acaricides dans cette formulation est le thymol (Imdorf *et al.*, 1999). Une résistance au thymol a récemment été démontrée en laboratoire pour des parasites issus de colonies dont le traitement à base de thymol c'était avéré être un échec (Bonafos et Colin, 2011).

8.2.2.3. Évaluation de l'efficacité des médicaments acaricides possédant une AMM en France.

L'efficacité d'une molécule acaricide est déterminée en réalisant un traitement de contrôle peu après la fin du traitement à évaluer. La chute des acariens sera enregistrée auparavant, durant le traitement à tester et durant le traitement de contrôle.

L'efficacité est ainsi définie :

Efficacité = Nombre d'acariens tués lors du traitement à évaluer / (Nombre d'acariens tués lors du traitement à évaluer + Nombre d'acariens tués lors du traitement de contrôle)

Des recommandations issues d'un groupe de travail européen ont été émises afin de permettre une standardisation de l'évaluation des molécules acaricides (European working group for the co-ordination of research on integrated *Varroa* control, 1998-1999) :

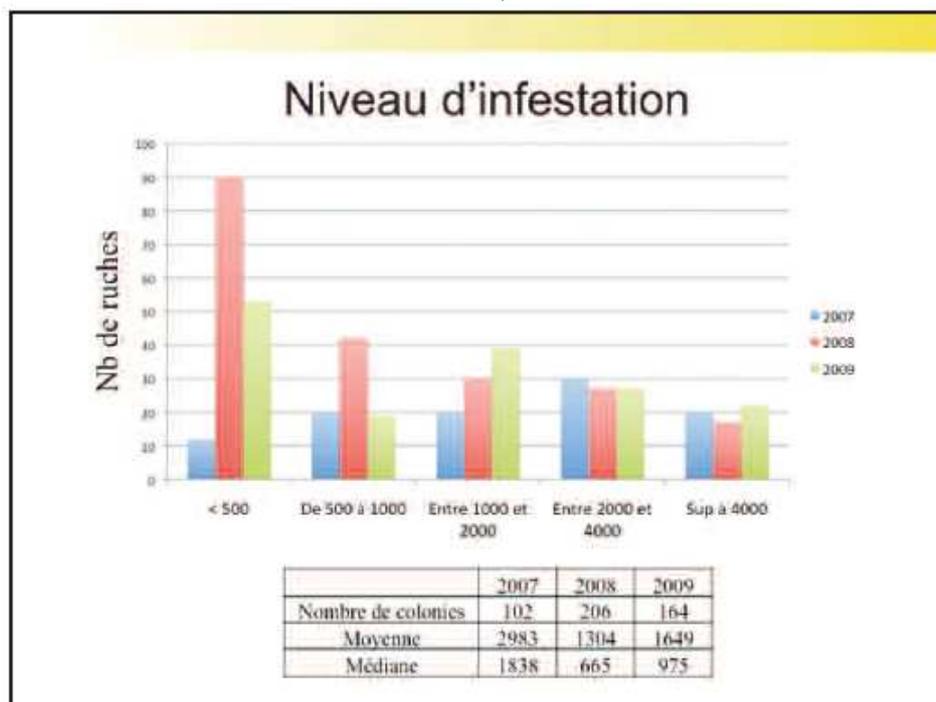
- utiliser des ruches comportant un fond grillagé et un dispositif de recueil des *V. destructor* ayant chuté,
- utiliser des colonies possédant une infestation de 100 à 5000 acariens
- les réinfestations d'acariens doivent être minimisées (préférer des densités de zones de densités de colonies faibles),
- la cire utilisée ne doit pas contenir de résidus d'acaricides à des niveaux qui pourraient affecter la viabilité des parasites,
- concernant le traitement de contrôle, il doit dans l'idéal être réalisé en absence de couvain. Dans le cas contraire, cette présence de couvain doit être signalée. La molécule acaricide doit avoir une efficacité démontrée d'au moins 90 % et ne pas appartenir à la classe de la molécule à évaluer. L'application de ce traitement de contrôle doit être réalisée jusqu'à ce que les chutes d'acariens deviennent négligeables,
- les résultats obtenus seront corrigés en fonction de la mortalité naturelle observée avant la réalisation du traitement (formule de Abbott).

En France, depuis 2007, la FNOSAD (Fédération Nationale des Organisations Sanitaires Apicoles Départementales) organise des tests d'efficacité en ruchers consistant en l'administration de médicaments acaricides conformément aux données techniques délivrées par le fabricant suivie d'un traitement de contrôle selon les recommandations citées plus haut.

Le traitement de contrôle est réalisé 8 jours plus tard en employant la formulation Taktic ND (Amitraze) par la méthode à froid (3 applications à 4 jours d'intervalle) (on peut signaler toutefois que certains auteurs ont démontré le manque de fiabilité de la méthode à froid (Ducos de Lahitte et Havrileck, 1987)). Quatre jours plus tard, un nouveau traitement de contrôle à l'acide oxalique par la méthode de dégouttement est réalisé.

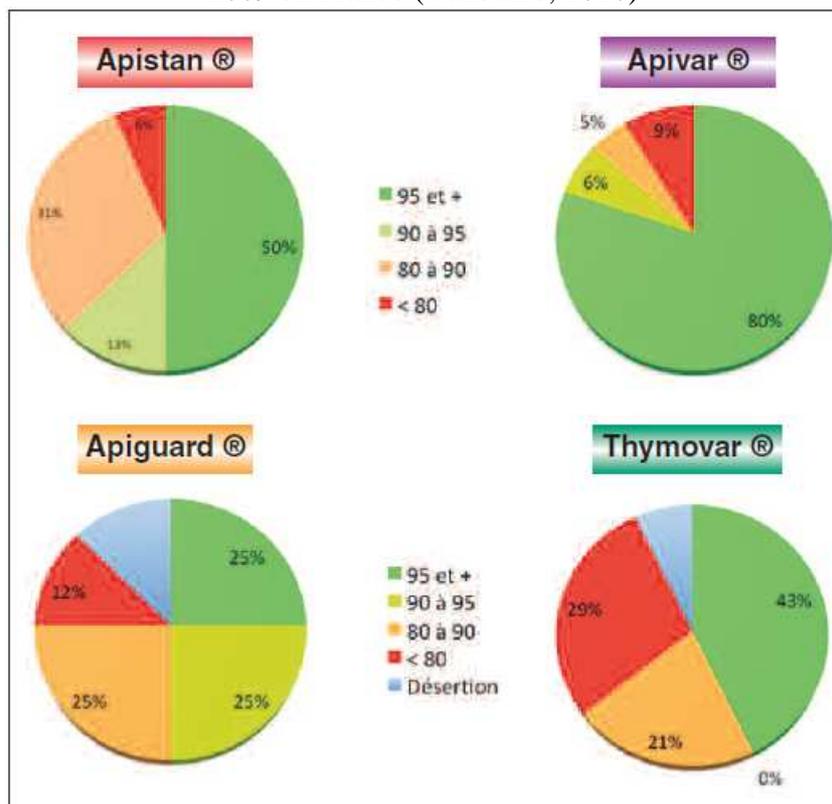
Le niveau d'infestation moyen pour les colonies testées (n = 164) s'élevait en 2009 à 1649 *V. destructor*. Toutefois, une grande hétérogénéité du niveau d'infestation est observée à la fois entre ruchers, mais aussi au sein d'un même rucher (Figure 87).

Figure 87 : Niveau d'infestation de colonies d'abeilles par *V. destructor* en fin d'été. Résultats issus d'une étude réalisée en France pour les années 2007, 2008 et 2009 (Vandame, 2010).



L'étude révèle que le traitement à l'Apivar ND (Amitraze) présente une plus grande efficacité, une moindre hétérogénéité, et une plus grande rapidité d'action que les trois autres médicaments vétérinaires disposant d'une AMM (Figure 88).

Figure 88 : Efficacité des médicaments de lutte contre *V. destructor* possédant une AMM en 2009 en France (Vandame, 2010).

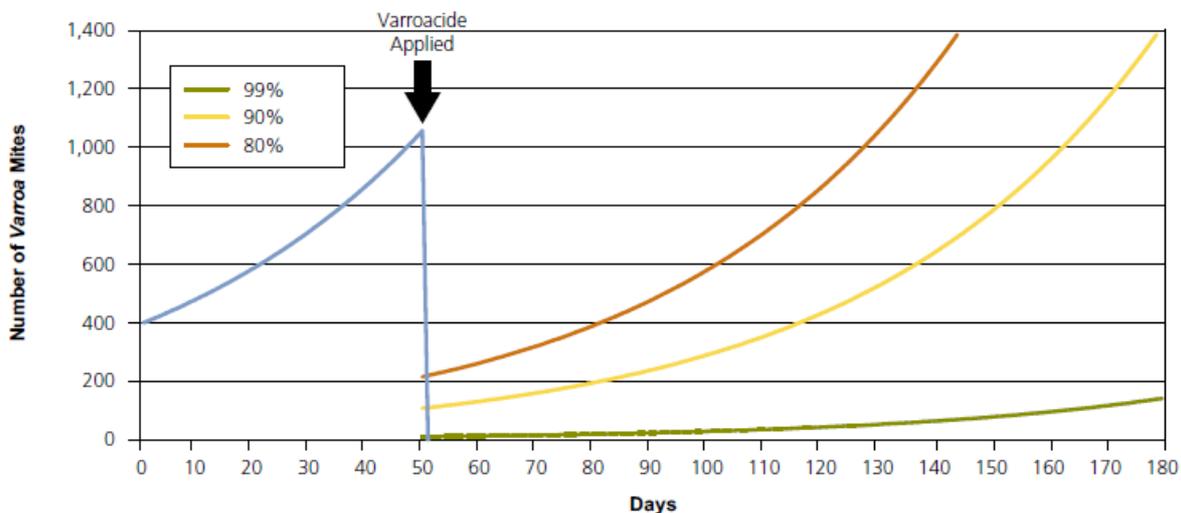


L'utilisation sur le terrain de produits acaricides à faible efficacité ou de produits interdits est citée par certains auteurs comme pouvant expliquer une partie des mortalités actuelles de colonies d'abeilles (Ballis, 2011 ; Nguyen *et al.*, 2009).

Le manque d'efficacité de certaines molécules (hors phénomènes de résistance) utilisées actuellement dans la lutte contre *V. destructor* laisse encore assez d'acariens au sein de la colonie d'abeilles pour permettre, avant tout nouveau traitement (généralement annuel), une croissance de la population de *V. destructor* au-delà des seuils dangereux pour la colonie, ce qui aboutit souvent à sa mort (Figure 89) Ainsi, de nombreux apiculteurs, pensant être protégés du parasite par la réalisation d'un traitement acaricide suivant les préconisations du fabricant et du vétérinaire prescripteur, ne le sont pas en réalité.

Figure 89 : Effet de l'efficacité du traitement acaricide sur la rapidité de la croissance de la population de *V. destructor* (The Food and Environment Research Agency, UK, 2010).

Une efficacité des molécules acaricides de moins de 90 % est insuffisante pour maintenir la population de *V. destructor* à des niveaux acceptables pendant une année, date du traitement suivant.



Lorsqu'une application d'un traitement ne s'avère pas assez efficace, il est possible, afin d'obtenir cette fois-ci une efficacité suffisante, soit de renouveler une application du même traitement, soit de réaliser une application d'un autre traitement. Par exemple, si l'on estime à 1250 la population d'acariens dans une ruche en fin de saison, un traitement possédant une efficacité de 96 % permettra d'atteindre l'objectif de moins de 50 acariens dans la colonie d'abeilles après traitement. Le même résultat est obtenu avec 2 traitements à 80 % d'efficacité ou encore avec 3 traitements à 70 % d'efficacité. Cependant, les applications doivent être en nombre limité pour minimiser les risques d'apparition de résistances et de contamination du miel et de la cire (Colin, 2011).

8.2.2.4. Protocoles de lutte

Les conditions climatiques, les périodes de miellées, le développement de la population de *V. destructor* doivent être prises en compte lorsque l'on met en place une stratégie de lutte. Après une forte miellée, le couvain est réduit par manque de place, donc le pourcentage de cellules infestées augmente (Imdorf *et al.*, 2003).

La stratégie habituelle consiste à réduire drastiquement par des traitements appropriés (amitrazé, tau-fluvalinate, thymol ou acide formique) la population de *V. destructor* en fin d'été (août et septembre) dès la dernière récolte de miel, le but étant de réduire au maximum l'infestation du couvain, afin d'obtenir un développement normal des abeilles destinées à passer l'hiver (Colin, 1989).

L'objectif est d'obtenir une population de moins de 50 *V. destructor* à l'intérieur des ruches pour passer l'hiver.

On peut vérifier que cet objectif est bien atteint si moins de 1 chute naturelle d'acarien est observée journalièrement à l'issue de la période d'efficacité du traitement de fin d'été (Imdorf *et al.*, 1996a ; Imdorf *et al.*, 1999 ; The Food and Environment Research Agency, UK, 2010).

Si cet objectif n'est pas atteint, deux solutions :

- un traitement complémentaire peut être envisagé. Un traitement à l'acide oxalique est alors privilégié à cette période. Ce traitement est à réaliser en absence de couvain,

généralement au mois de décembre ou janvier. Il est important de signaler que pour les molécules ayant une efficacité moyenne (thymol, tau-fluvalinate, acide formique), ce traitement peut être envisagé de façon systématique ;

- la mise en place de moyens de lutte biotechnologique en début de saison apicole ; le plus facile à mettre en place étant le retrait de cadres de couvain de faux-bourçons operculés (avril-mai) (Cf. chapitre 8.2.3).

Si ces préconisations sont respectées, aucun traitement supplémentaire ne sera normalement nécessaire avant la fin de l'été de l'année suivante en l'absence de fortes réinfestations.

Un traitement de 'secours' pourra être réalisé pendant la période apicole (mars à août) si le niveau d'infestation par *V. destructor* dépasse les seuils critiques définis dans la suite de ce chapitre (Charrière *et al.*, 1998). Le traitement le plus approprié à appliquer durant la saison apicole en présence de couvain est l'acide formique ; le retrait des cadres de mâles ainsi que la formation de nucléi permettent également de réduire la population d'acariens au sein de la colonie d'abeilles.

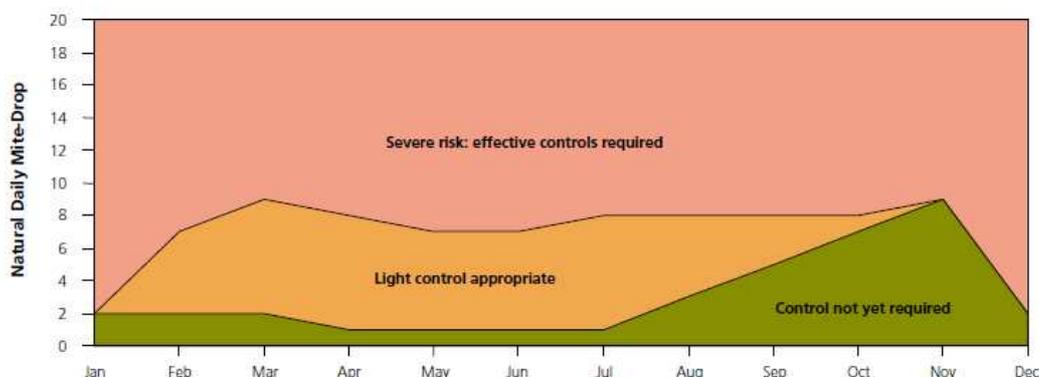
En cours de saison, plusieurs contrôles indirects de la population de *V. destructor* peuvent être réalisés. Le mode de contrôle le plus facile à mettre en œuvre est de comptabiliser les *V. destructor* qui tombent journalièrement sur une lange graissée (Cf. chapitre 8.2.1.1) (Figure 90):

- si on compte plus de 3 chutes d'acariens par jour à la fin du mois de mai, un traitement à l'acide formique est conseillé après la récolte de printemps. Une autre possibilité est d'utiliser les moyens de lutte biotechnologiques :
 - o le retrait de cadres de couvain de faux-bourçons operculés, ce qui selon certains auteurs permet de réduire la population de *V. destructor* par deux (Cf. chapitre 8.2.3.1);
 - o la formation d'un nucléus, ce qui diminue la population d'acariens d'environ un tiers (Cf. chapitre 8.2.3.2).
- si on compte plus de 10 chutes d'acariens par jour à la fin du mois de juillet, début du mois d'août, un traitement à l'acide formique est également conseillé ;
- pendant toute la saison, si on observe plus de 30 chutes d'acariens par jour, le seuil critique du niveau d'infestation est dépassé et un traitement acaricide doit immédiatement être mis en place (Charrière *et al.*, 1998 ; Imdorf *et al.*, 2003).

Afin de limiter l'apparition de phénomènes de résistance, certains auteurs suggèrent de mettre en place des plans de lutte s'appuyant sur des rotations de molécules acaricides et intégrant les techniques de lutte biotechnologique (Pettis, 2004 ; Rosenkranz *et al.*, 2010).

Figure 90 : Utilisation des chutes naturelles de *V. destructor* en fonction de la période de l'année pour décider de la mise en place d'un traitement acaricide en climat britannique (The Food and Environment Research Agency, UK, 2010).

(Natural Daily Mite – Drop = Chute naturelle journalière d'acariens ; Severe risk : effective controls required = Risque élevé : Contrôle efficace nécessaire ; Light control appropriate = Contrôle léger approprié).



8.2.2.5. Limites de l'utilisation des acaricides

L'utilisation d'acaricides pose plusieurs problèmes :

- aucun traitement acaricide n'est efficace à 100 %. Les traitements éliminent de la colonie les individus les plus sensibles à la molécule. Une sélection d'individus possédant des caractères de résistance à ces molécules acaricides est ainsi opérée à l'issue de chaque traitement, ce qui à terme aboutit à l'inefficacité du traitement (Le Conte *et al.*, 2010) ;
- certains résidus d'acaricides et certains métabolites issus de la dégradation de ces molécules s'accumulent dans les cires, et parfois pendant de longues périodes. Ceci est particulièrement vrai pour le tau-fluvalinate. Il a également été montré que ces résidus pouvaient contaminer les nouvelles cires même plusieurs mois après le traitement pour certaines de ces molécules (Lodesani *et al.*, 2008 ; Wu *et al.*, 2011). La présence latente de produits acaricides dans les ruches pourrait expliquer en partie l'apparition de résistances aux acaricides dans les populations de *V. destructor* (Faucon, 2007 ; Milani, 1999 ; Rosenkranz *et al.*, 2010) ;
- ces résidus, seuls ou en association avec d'autres composants, pourraient également avoir des effets délétères sur la santé de l'abeille. Ce risque est augmenté s'ils sont utilisés de façon incorrecte (Chauzat *et al.*, 2009 ; Johnson *et al.*, 2009 ; Maini *et al.*, 2010 ; Nguyen *et al.*, 2009 ; vanEngelsdorp et Meixner, 2009) ;
- les molécules acaricides peuvent également contaminer les produits issus de la ruche (miel, pollen, cire, propolis, ...) et peser sur la qualité de ces produits dans de nombreux pays. Cela peut également compliquer la valorisation des produits issus de la ruche dans des industries telles que la cosmétique ou la pharmaceutique (Rosenkranz *et al.*, 2010) ;
- la discussion sur le caractère dangereux des résidus porte atteinte à l'image positive qu'a le public des produits issus de la ruche (Lodesani *et al.*, 1992 ; Wallner, 1999) ;
- enfin, l'utilisation d'acaricides constitue un coût non négligeable pour l'apiculteur (Büchler *et al.*, 2010).

Le traitement contre *V. destructor* pourrait à terme ne plus être systématique. Il interviendrait uniquement lorsque le taux d'infestation dépasse un certain seuil et avant que la population de *V. destructor* ne soit trop importante pour créer des dégâts irréversibles pour la colonie

d'abeilles. Le seuil est dépendant de la région, ainsi que de la possibilité de recontaminations. En Allemagne, le seuil d'alerte à atteindre pour mettre en place des mesures de lutte est fixé à 10 % d'infestation des abeilles adultes en juillet (Büchler *et al.*, 2010). Aux États-Unis, ce seuil est fixé à 5 % d'infestation des abeilles adultes, au Canada à 4 % d'infestation (Currie et Gatien, 2006). Ce système aurait plusieurs avantages : réduire le nombre de traitements acaricides, permettre de rétablir une pression de sélection, réduire le risque de contamination de la ruche et réduire le coût de production pour l'apiculteur. Ce principe est plus connu sous le nom d'Integrated Pest Management' ou IPM (Delaplane et Hood, 1999 ; The Food and Environment Research Agency, UK, 2010).

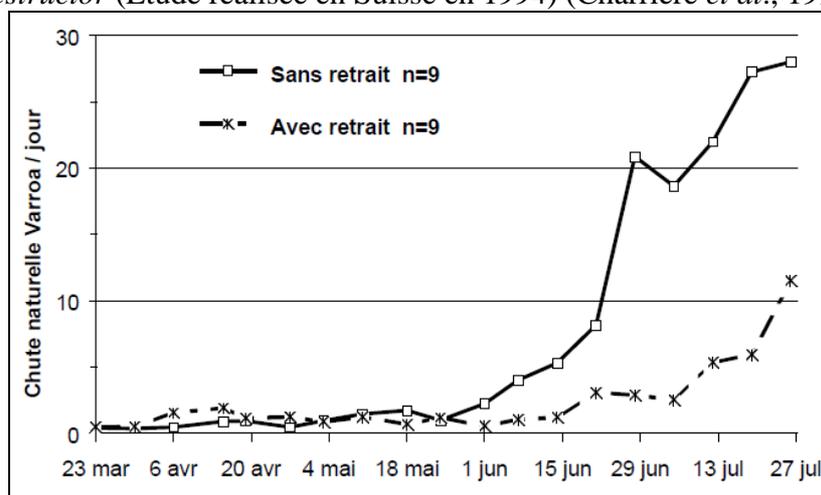
8.2.3. Lutte biotechnologique

8.2.3.1. Retrait du couvain de faux-bourçons operculé

Le couvain de faux-bourçons, nous l'avons vu (Cf. chapitre 4.2.1.1), montre une plus grande attractivité que le couvain d'ouvrières pour *V. destructor*. Cette observation peut être utilisée pour ralentir le développement des populations de *V. destructor* en retirant régulièrement le couvain de faux-bourçons operculé de la ruche. Ce retrait ne montre aucun effet négatif pour la colonie d'abeilles et ne semble pas affecter la production en miel (Boot *et al.*, 1995 ; Calderone, 2005 ; Fuchs, 1990 ; Imdorf *et al.*, 2003). Cette mesure ne permet toutefois pas de renoncer aux traitements acaricides de fin d'été (Wantuch et Tarpy, 2009).

Des essais menés en Suisse (Charrière *et al.*, 1998) ont montré que le retrait régulier du couvain operculé de faux-bourçons (1 à 6 découpes par an suivant la colonie) permettait de juguler la progression de la population d'acariens dans une colonie. La mise en place de cette technique a permis d'obtenir 2 à 3,5 fois moins d'acariens dans les colonies en fin de saison (Figure 91).

Figure 91 : Effet du retrait du couvain de faux-bourçons sur la chute naturelle de *V. destructor* (Étude réalisée en Suisse en 1994) (Charrière *et al.*, 1998).



Quelques préconisations issues de ce travail sont indiquées dans la mise en œuvre de cette technique (Charrière *et al.*, 1998):

- un cadre destiné à la production de faux-bourçons (cadre à bâtir avec une ébauche de cire sur la partie supérieure de ce cadre ; par exemple un cadre bâti dont la moitié inférieure de la cire a été retirée (Figure 92)) est placé suffisamment tôt dans l'année dans les ruches (fin mars-début avril) ;

- ce cadre ne doit jamais être séparé du nid à couvain afin qu'il soit rapidement bâti et pondu ;
- il est impératif d'éviter que des faux-bourdon éclosent du cadre sous peine de favoriser cette fois-ci la population de *V. destructor*.

Le retrait du couvain de faux-bourdon peut être intégré dans le travail normal du rucher, ce qui permet de limiter le surcroît de travail. Dans le cadre d'une apiculture d'amateurs, les auteurs précisent que la cire retirée peut être fondue. Un moyen proposé pour débarrasser les alvéoles des larves et nymphes avant la fonte de la cire est de placer l'ensemble à proximité d'une fourmilière ou dans un poulailler.

Figure 92 : Technique du retrait du couvain de faux-bourdon operculé (Charrière *et al.*, 1998).

La partie inférieure de ce cadre occupé par du couvain de faux-bourdon est retirée. Ce cadre sera alors réintégré dans la ruche en périphérie du nid à couvain. La colonie d'abeilles va alors reconstruire des alvéoles de faux-bourdon qui vont à nouveau accueillir du couvain mâle qu'il s'agira à nouveau de retirer une fois operculées.



Le piégeage de *V. destructor* dans du couvain de faux-bourdon operculé apparaît plus efficace en absence de couvain d'ouvrières. De cette façon, 462 alvéoles de faux-bourdon permettraient de piéger 95 % des *V. destructor* dans une colonie de 1 kg d'abeilles. Cependant cette situation n'existe pas en condition naturelle et nécessite des manipulations importantes pour être obtenue (Calis *et al.*, 1999).

8.2.3.2. Formation d'un nucléus

Cette technique consiste à créer une nouvelle colonie appelée nucléus en retirant de la colonie mère la moitié du couvain operculé ainsi que 6000 à 8000 abeilles. Il est préconisé de laisser la reine dans la colonie mère, sauf en période d'essaimage où la reine sera alors placée dans le nucleus, limitant ainsi les risques d'essaimage. La colonie orpheline mettra en place d'elle même la production d'une nouvelle reine. Le nucleus ainsi formé sera déplacé de plus de 3 kilomètres, évitant le retour des ouvrières à l'ancienne ruche.

Les auteurs précisent que la quantité totale d'acariens n'est pas modifiée par la formation du nucléus, mais elle est répartie entre 2 colonies. La formation d'un nucléus permettrait de retirer ainsi un quart à un tiers des *V. destructor* de la colonie mère.

L'intérêt de la technique est qu'après quelques semaines, la masse d'abeilles est globalement plus importante que si une seule colonie avait été gardée, ayant désormais 2 reines pour pondre. Au final, le taux d'infestation global est diminué.

Les auteurs précisent que si le nucleus est formé avant la fin mai, la colonie mère sera à nouveau assez forte pour permettre une récolte au mois de juillet. Le nucleus quant à lui sera assez peuplé pour pouvoir passer l'hiver (Charrière *et al.*, 1998).

8.2.3.3. Piégeage du parasite dans le couvain d'ouvrières operculé

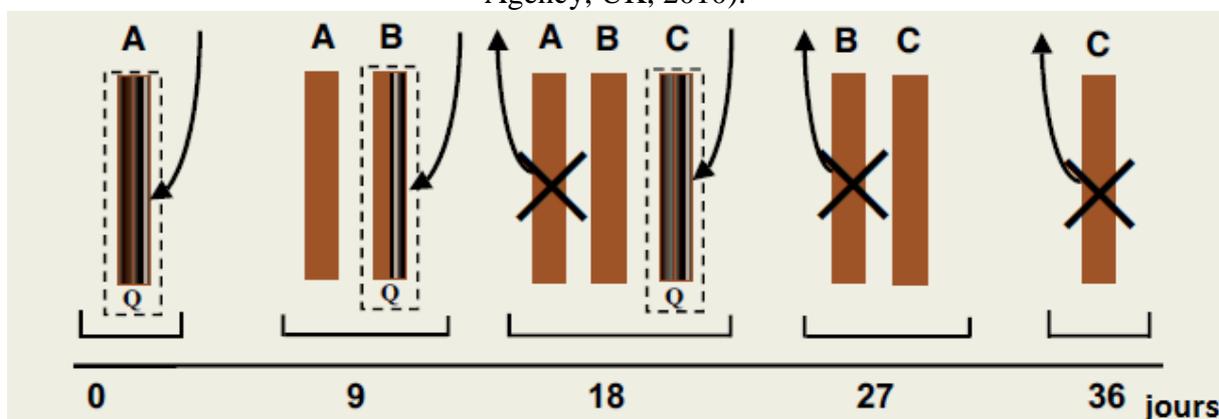
Il est possible de traiter par la chaleur (3 à 4 heures à 44°C) des cadres de couvain operculés d'ouvrières ou d'appliquer un traitement à l'acide formique afin de tuer sélectivement le parasite et préserver le couvain d'abeilles qui pourra être réintégré dans la ruche. Cependant cette méthode est fastidieuse et nécessite le traitement d'une grande quantité de couvain pour être efficace et n'est en pratique pas utilisée. Elle pourrait néanmoins être utilisée en cas de très fortes infestations (Calis *et al.*, 1999).

Une autre méthode proposée consiste à piéger les parasites dans du couvain d'ouvrières selon les modalités suivantes, puis à retirer ce couvain (The Food and Environment Research Agency, UK, 2010):

- la reine est confinée grâce à un dispositif de cage autour d'un cadre de couvain d'ouvrières vide (A). Ce dispositif, permettant une entrée et une sortie libre des ouvrières, oblige la reine qui elle, est confinée, à pondre au niveau du cadre sélectionné ;
- après 9 jours, la reine est déplacée pour être confinée sur un autre cadre vide (B) ;
- 18 jours après, la reine est déplacée pour être confinée sur un 3^{ème} cadre vide (C). Le cadre (A), désormais operculé est retiré.
- 27 jours après, la reine est libérée. Le cadre (B) est retiré.
- 36 jours après, le cadre (C) est retiré.

Les auteurs avancent une efficacité de 90 % pour cette méthode. Les principaux inconvénients sont premièrement que beaucoup de manipulations sont nécessaires. Ensuite, un affaiblissement de la colonie est observé puisque pendant 27 jours, celle-ci ne connaîtra pas d'éclosion de jeunes abeilles adultes.

Figure 93 : Schéma explicatif de la méthode de piégeage des *V. destructor* dans du couvain d'ouvrières utilisant le confinement de la reine (The Food and Environment Research Agency, UK, 2010).



8.2.3.4. Saupoudrage des abeilles avec du sucre glace

Varroa destructor possède des pattes terminées d'une structure particulière appelée apotèle participant à son adhérence (Figure 30).

Le saupoudrage des abeilles avec du sucre glace employé en pâtisserie entraîne la chute d'acariens phorétiques, les fines particules de poudre se fixant au niveau de l'apotèle qui perd sa capacité d'adhérence, et cela sans nuire à la colonie d'abeilles.

Des études menées sur des échantillons d'abeilles infestées par *V. destructor* ont montré que 91 % des acariens phorétiques initialement présents chuteraient dans les 18 heures qui suivent le traitement (Fakhimzadeh, 2001). Aliano et Ellis (2005) obtiennent un résultat de 77 % en plaçant la colonie d'abeille dans une caisse dédiée au traitement. Ces résultats sont toutefois remis en cause par une autre étude. Aux États-Unis, des ruches sont traitées toutes les 2 semaines avec une application de 120 g de sucre en poudre, et cela pendant 11 mois. À l'issue de ce test, aucune différence n'est observée entre le taux d'infestation d'abeilles provenant de ruches traitées et de ruches témoins. La même observation est réalisée au niveau du couvain (Ellis *et al.*, 2009).

8.2.4. Lutte biologique par agents vivants

8.2.4.1. Les champignons

Des isolats de champignons (*Verticillium lecanii*, *Hirsutella* spp., *Paecilomyces* spp., *Beauveria bassiana*, *Metarhizium* spp., *Tolypocladium* spp.) testés expérimentalement ont permis d'infecter et de tuer *V. destructor* (Kanga *et al.*, 2002 ; Shaw *et al.*, 2002).

Parmi ces champignons entomopathogènes, *Hirsutella thompsonii* et *Metarhizium anisopliae* semblent être les plus prometteurs dans une optique de contrôle biologique du parasite. L'application de *Hirsutella thompsonii* augmente la mortalité de *V. destructor* sans observer d'effets délétères sur la colonie d'abeille et la fécondité de la reine (Kanga *et al.*, 2002). *Metarhizium anisopliae* est particulièrement intéressant car outre sa pathogénicité pour *V. destructor* (85 % de mortalités), il a la capacité de bien se développer aux températures de la ruche (Rodriguez *et al.*, 2009).

Cependant les modalités d'application ne permettent pas pour l'instant d'envisager l'utilisation courante de cette technique. De plus, il a été démontré que l'effet acaricide ou insecticide de certaines molécules est potentialisé par certains champignons entomopathogènes, ce qui pourrait être potentiellement dangereux pour la colonie d'abeilles. (Santos *et al.*, 2007).

8.2.4.2. Les bactéries.

Des bactéries appartenant aux familles des *Bacillaceae* et des *Micrococcaceae* ont montré *in vitro* une pathogénicité vis-à-vis de *V. destructor* (Tsagou *et al.*, 2004). Des recherches complémentaires sont à envisager pour vérifier la possibilité de lutte biologique à partir de ces bactéries.

8.2.5. Autres moyens de lutte

D'autres moyens de lutte ont été proposés : application d'extraits de propolis, utilisations de kairomones brouillant la reconnaissance de l'hôte par le parasite, utilisation de substances interférant avec l'invasion du couvain par le parasite, applications d'ultrasons, mise en place de planchers tubulaires, introduction de cadres en plastiques, réduction de la taille des

alvéoles, mise en place de systèmes de rotation du couvain, enfumage, mise en place d'extraits végétaux dans la ruche (ex : rhubarbe).

Ces moyens de luttés s'avèrent soit inefficaces, soit trop peu d'études ont été menées pour attester de leur efficacité sur le terrain dans la lutte contre le parasite (Rosenkranz *et al.*, 2010).

8.2.6. Respect des règles de bonnes pratiques apicoles

Les données épidémiologiques suggèrent d'éviter les grandes concentrations de colonies d'abeilles afin de limiter les phénomènes de pillage et de dérive des ouvrières qui sélectionnent, par une transmission horizontale des agents pathogènes, leur virulence. Ainsi, dans des conditions de fortes concentrations de colonies, les acariens peuvent facilement se propager même après la mort de la colonie (Fries et Camazine, 2001).

Dans un même secteur, les politiques de lutte contre le parasite devraient être coordonnées afin de limiter les possibilités de réinfestations et ainsi augmenter l'efficacité de la lutte (Imdorf *et al.*, 2003).

Il semble également important de prévenir les carences alimentaires des colonies afin de ne pas altérer les comportements de défense de l'abeille vis-à-vis de *V. destructor* (Janmaat et Winston, 2000).

Certains auteurs soulignent l'importance d'avoir des colonies d'abeilles fortes à l'automne pour augmenter la probabilité que ces colonies passent l'hiver. Ainsi une colonie constituée de plus de 10000 abeilles et ayant un taux d'infestation des abeilles adultes inférieur à 10 % à une forte probabilité de passer l'hiver (Büchler *et al.*, 2010).

8.2.7. Sélection de souches tolérantes/résistantes à *V. destructor*

La sélection bi-directionnelle 'lignées sensibles'/'lignées résistantes' à partir d'une même population selon le taux d'infestation par *V. destructor* a abouti à une différence significative quant au taux d'infestation et au nombre de *V. destructor* morts dénombrés après traitement dès la 3^{ème} génération (Kulinčević *et al.*, 1992 ; Lodesani *et al.*, 2002). La tolérance d'*Apis mellifera* vis-à-vis de *V. destructor* a ainsi un déterminisme génétique qu'il s'agit d'exploiter dans des programmes de sélection.

Nous allons tout d'abord nous intéresser dans cette partie à une première approche de sélection appelée 'Bond test' qui utilise la sélection naturelle pour aboutir à des lignées d'abeilles résistantes à *V. destructor* ; ensuite nous verrons une deuxième approche qui consiste à repérer les caractères de résistance de l'abeille face au parasitisme de *V. destructor*. Ces caractères seront alors évalués et ceux ayant le meilleur potentiel de sélection seront utilisés pour créer des souches d'abeilles plus résistantes au parasite.

8.2.7.1. Sélection naturelle ou 'Bond test'

Le 'Bond test' est une technique de sélection qui consiste en l'arrêt de tout traitement acaricide. On observe l'évolution des colonies selon le principe: <<ça passe ou ça casse !>>. Les nouvelles reines sont alors issues des colonies ayant survécu au test en utilisant uniquement les colonies ayant à la fois la meilleure productivité en miel et le moins de *V. destructor* (Fries et Bommarco, 2007 ; Kefuss *et al.*, 2009).

Cette technique est conduite depuis 1999 par une entreprise apicole près de Toulouse. Après 10 ans de sélections sans utilisation d'acaricide, le taux de parasitisme des abeilles adultes reste inférieur à 5 %, et les pertes annuelles de colonies restent comparables à celles enregistrées par les apiculteurs de la région utilisant des acaricides (autour de 15 %) (Kefuss *et al.*, 2009).

Pour réduire les pertes de colonies importantes intervenant au début de ce processus de sélection, un 'Soft Bond Test' est proposé. Il consiste tout d'abord en une sélection basée sur le niveau de production en miel des colonies. La sélection se poursuit en testant le caractère hygiénique des meilleures colonies du test précédant (par l'utilisation du test du couvain congelé (Cf. chapitre 7.3.1.1.1). Ensuite, un comptage des *V. destructor* va être réalisé sur les colonies montrant la meilleure capacité hygiénique. Les meilleures colonies ainsi sélectionnées vont subir le 'Bond Test'. Celles qui auront passé ce dernier test vont constituer les lignées de souches tolérantes à *V. destructor*. Ce 'Soft Bond Test' pourra être réitéré plusieurs fois pour améliorer la sélection.

En Suède, des colonies menées en 'Bond test' ont montré une réduction de 82 % du taux de croissance de la population de *V. destructor* comparé aux colonies témoins au bout de 7 ans (Fries et Bommarco, 2007).

8.2.7.2. Sélection de caractères de résistance

La sélection chez l'abeille est une pratique courante et répandue dans l'apiculture moderne. Le plus souvent, les programmes de sélection s'attachent à renforcer le potentiel économique des colonies (productivité en miel, force de la colonie) et à favoriser certains traits comportementaux (douceur des abeilles et faible tendance à l'essaimage). Depuis les années 1980, des programmes de sélection visant à obtenir des colonies d'abeilles résistantes à *V. destructor* ont été menés.

La survie des colonies ne pouvant pas être évaluée directement sous traitement acaricide, la sélection de la résistance à *V. destructor* dans les colonies traitées doit se faire à partir de caractères inhérents à la colonie présentant un intérêt dans la résistance au parasite (Büchler *et al.*, 2010).

Dans un programme de sélection, il est important de déterminer si le ou les caractères de sélection sont héréditaires. S'ils sont héréditaires, le travail de sélection aboutira au renforcement de ces caractères par un élevage sélectif. Plus l'héritabilité (h^2) d'un caractère est proche de 1, plus on peut espérer obtenir une évolution rapide du caractère par sélection. Au contraire, si l'héritabilité est proche de zéro, la sélection du caractère aboutira très certainement à un échec. On estime que l'héritabilité d'un caractère doit être supérieure à 0,25 chez l'abeille pour avoir une chance raisonnable d'aboutir à un succès dans la sélection du caractère (Harbo et Harris, 1999a).

Plusieurs caractères de sélection ont été établis et ont ainsi été testés.

8.2.7.2.1. Sélection sur le taux de croissance de la population d'acariens

Il semble que ce critère permette la meilleure évaluation de la tolérance d'une colonie à l'infestation par *V. destructor* (www.bee-doc.eu).

Le principe est d'estimer la population de *V. destructor* entre deux dates. Un taux de croissance de cette population pourra alors être calculé, et cela indépendamment à la fois du degré d'infestation et de la longueur de la période entre les deux estimations.

On suppose que la croissance de la population de *V. destructor* est exponentielle. On obtient le taux de croissance journalier par l'équation :

$$r = (\ln c) / d$$

avec *c* : nombre de multiples par lequel la population s'est accrue

r : taux de croissance par jour

d : nombre de jours pendant lesquels les mesures ont été effectuées.

Le nombre de multiples par lequel la population s'est accrue est obtenu en divisant le taux d'infestation d'un échantillon d'abeilles (*n* = 300) prélevé lors de la seconde date sur le taux d'infestation d'un échantillon d'abeilles (*n* = 300) prélevé lors de la première date.

Il est préconisé de réaliser cette mesure sur des colonies fortes, avec des reines en bonne santé. Les premières mesures sont réalisées quelques jours après les premières sorties des abeilles ; la seconde début ou mi-juillet (Büchler *et al.*, 2010 ; Fries, 2011).

Le taux de croissance journalier ainsi obtenu permet de comparer les facultés de résistance face à *V. destructor* de colonies d'abeilles d'origines génétiques différentes (Fries, 2011).

8.2.7.2.2. Sélection de colonies sur leur comportement hygiénique

La sélection de colonies 'hygiéniques' a comme conséquence la réduction de la population de *V. destructor*, mais permet également de diminuer l'expression d'autres maladies telles la loque américaine (*Paenibacillus larvae*), la loque européenne (*Melissococcus plutonius*), l'ascosphérose (*Ascospaera apis*) (Büchler *et al.*, 2010 ; Spivak et Reuter, 1998 ; Spivak et Reuter, 2001). L'héritabilité de ce caractère est élevée : $h^2 = 0,65$ (Harbo et Harris, 1999a), ce qui permet d'envisager des programmes de sélection efficaces. Des études ont également montré que la sélection du caractère hygiénique ne compromettrait pas la production en miel (Spivak et Reuter, 1998 ; Spivak et Reuter, 2001).

Différentes méthodes ont été développées pour tester le comportement hygiénique d'une colonie dans des conditions standardisées. Les plus utilisés sont le test du couvain congelé et le test du couvain tué à l'aiguille (Cf. chapitre 7.3.1.1.1) (Boecking et Drescher, 1992 ; Büchler *et al.*, 2010).

Il semble actuellement irraisonnable de penser que les colonies sélectionnées pour leur comportement hygiénique soient capables de survivre indéfiniment sans traitement. Cependant la sélection de telles lignées pourrait permettre de limiter la fréquence des traitements (Spivak et Reuter, 2001).

8.2.7.2.3. Sélection de colonies sur leur comportement d'épouillage

La contribution du comportement d'épouillage à la tolérance des colonies d'abeilles au parasitisme de *V. destructor* semble limitée (Cf. chapitre 7.3.1.1.2) (Büchler *et al.*, 2010).

Le comportement d'épouillage peut être évalué en observant la proportion d'acariens 'mutilés' retrouvés au fond des ruches (Harbo et Harris, 1999a). La sélection de colonies présentant une proportion élevée d'acariens 'mutilés' au fond des ruches a montré qu'après plusieurs générations, ces colonies avaient significativement plus de *V. destructor* 'mutilés' au fond des ruches et de plus faibles niveaux d'infestations comparées à des colonies non sélectionnées (Büchler, 2000).

Cependant, l'héritabilité de ce caractère est trop faible ($h^2 < 0,15$) pour espérer l'utiliser comme critère de sélection à grande échelle (Corrêa-Marques *et al.*, 2002 ; Ehrhardt *et al.*, 2007).

8.2.7.2.4. courte

Sélection de colonies à durée d'operculation du couvain

La durée d'operculation du couvain varie suivant les races d'abeilles et suivant la saison (Büchler et Drescher, 1990). Une corrélation positive est observée entre la durée d'operculation du couvain et la population de *V. destructor* au sein des colonies infestées (Moritz et Jordan, 1992). La réduction de population finale d'acariens est estimée à 8,7 % pour une réduction de 1 heure de la durée d'operculation du couvain, de 30 % et 60 % pour une réduction de 10 % de la période d'operculation respectivement du couvain de faux-bourçons, et d'ouvrières (Wilkinson et Smith, 2002).

L'héritabilité de la durée d'operculation du couvain est estimée à $h^2 = 0,232$ par Büchler et Drescher (1990) et $h^2 = 0,89$ par Harbo et Harris (1999a). L'héritabilité de ce caractère est élevée, ce qui suggère qu'il puisse être utilisé de façon efficace dans le cadre d'un programme de sélection (Büchler et Drescher, 1990).

Cependant, l'infestation du couvain par *V. destructor*, et notamment la multi-infestation rallonge la période normale d'operculation, car les abeilles infestées sont parfois incapables d'émerger seule. Ce sont les ouvrières qui vont délivrer ces abeilles infestées, en moyenne 24 heures après l'émergence normale. Ce temps supplémentaire est mis à profit par la descendance du parasite pour poursuivre son développement. De ce fait, la durée d'operculation ne semble pas être finalement un bon critère de sélection de colonies résistantes d'autant plus qu'il n'est pas exclu que le parasite puisse s'adapter à la réduction de la durée d'operculation (Bienefeld et Zautke, 2007).

8.2.7.2.5.

Perspectives

Les paramètres les plus prometteurs dans une optique de sélection de colonies d'*A. mellifera* résistantes à *V. destructor* semble être le comportement hygiénique et la croissance de la population de *V. destructor* (Bee doc, 2010 ; Büchler *et al.*, 2010 ; Harbo et Harris, 1999a).

Récemment, une base de donnée européenne regroupant les valeurs génétiques de milliers de colonies d'abeilles a été créée. Elle s'appuie sur le model animal BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) adapté aux particularités des abeilles (Bienefeld *et al.*, 2007 ; Büchler *et al.*, 2010). De nombreux caractères de la colonie d'abeille, dont la résistance à *V. destructor*, sont pris en compte, ainsi que les effets de l'environnement (<http://www.beebreed.eu>).

Des exemples de programmes de sélection de souches d'abeilles résistantes à l'infestation par *V. destructor* sont mentionnées :

- le programme utilisant la souche d'abeilles SMR (Suppression Mite Reproduction) aux États Unis (Harbo et Harris, 2005),
- le programme AGT (Arbeitsgemeinschaft Toleranzzucht) (<http://www.toleranzzucht.de>) en Allemagne,
- le programme utilisant la souche d'abeilles RHB (Russian Honey Bee) aux États-Unis (Rinderer *et al.*, 2010),
- le programme utilisant la souche MNHYG (Minnesota Hygienic) aux États-Unis (Rinderer *et al.*, 2010).

Certains auteurs suggèrent que les programmes de sélection menés fourniront vraisemblablement des solutions à long terme aux problèmes causés par *V. destructor*. Ils indiquent que les difficultés occasionnées à l'apiculture par la varroose sont liées au système apicole actuel, dans lequel les apiculteurs suppriment la pression de sélection induite par le parasitisme en éliminant les acariens par des traitements (Fries *et al.*, 2006 ; Kulinčević *et al.*, 1996). *V. destructor* pourrait développer une relation hôte-parasite bénigne comparable à

celle existante entre *A. cerana* et le parasite, si l'opportunité lui en était donnée (Fries et Camazine, 2001).

Il apparaît néanmoins que les efforts de sélection ont porté principalement sur des caractères comportementaux. Malheureusement, les aspects immunitaires concernant la résistance spécifique de l'individu sont encore peu explorés (Colin, communication personnelle).

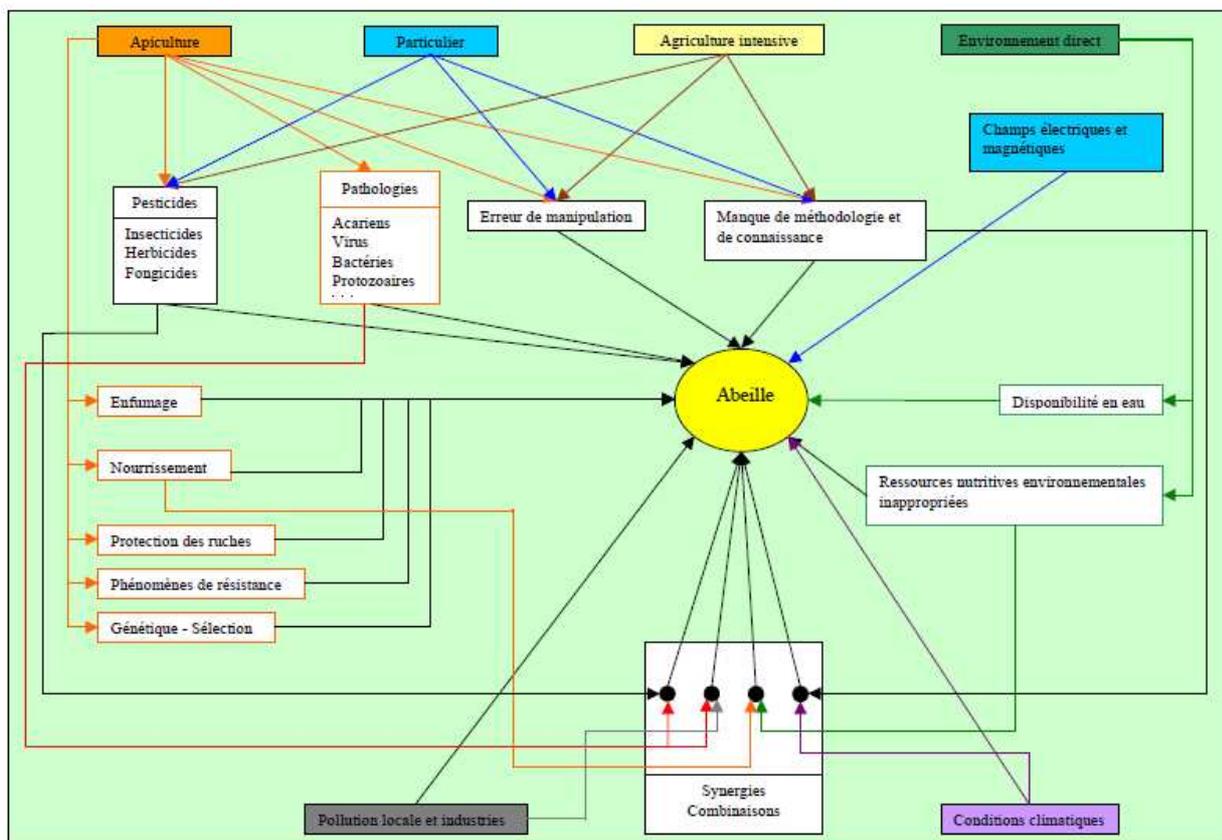
Actuellement, les souches d'abeilles obtenues par les programmes de sélection permettent de limiter la croissance de la population de *V. destructor* au sein des colonies et ainsi de limiter l'utilisation de traitements acaricides (Rinderer *et al.*, 2010).

9. Rôle joué par *V. destructor* dans les mortalités des colonies d'abeilles.

9.1. Contexte

Une augmentation des mortalités des colonies d'abeilles est observée depuis une vingtaine d'années, cette dernière ayant été particulièrement intense depuis 2006 en Europe et aux États Unis. À côté des mortalités hivernales de colonies, on distingue un nouveau phénomène de mortalité appelé CCD (Colony Collapse Disorder ou syndrome d'effondrement des colonies d'abeilles). Beaucoup de scientifiques s'accordent sur le fait qu'il n'y a pas d'explication unique au phénomène de surmortalité (Figure 94). Les résultats des recherches menées sur le sujet permettent uniquement de penser à des interactions entre différents facteurs de stress. Comme *V. destructor* est présent en nombre plus ou moins important dans l'ensemble des ruches, de nombreux auteurs s'interrogent sur le rôle joué par ce parasite dans les surmortalités de colonies d'abeilles observées.

Figure 94 : Facteurs de risque potentiels liés au dépérissement de l'abeille domestique (Haubruge *et al.*, 2006).



Cinq catégories de causes sont retenues pour expliquer les mortalités des colonies d'abeilles (De la Rua *et al.*, 2009 ; Toma *et al.*, 2009) :

- les agents biologiques ;
- les agents chimiques, essentiellement les produits phytopharmaceutiques (encore appelés produits phytosanitaires ou pesticides) ;
- l'environnement (ressources alimentaires, facteurs climatiques, champs électriques ou magnétiques, pratiques agricoles) ;
- les pratiques apicoles ;
- les autres causes.

Dans certains cas, la mortalité est facile à déterminer, par la présence de symptômes cliniques caractéristiques *ante mortem* (des larves filantes, la présence d'écailles loqueuses, une odeur caractéristique pour la loque américaine (*Paenibacillus larvae*) ; des larves informes de couleur variant du jaune au brun foncé pour la loque européenne (*Melissococcus plutonius*) ; la présence de larves momifiées pour l'ascosphérose (*Ascophaera apis*) ; etc). En revanche, d'autres causes de mortalités sont plus difficiles à découvrir notamment du fait de l'absence de symptômes cliniques caractéristiques préalablement à la mort de la colonie, ou lors d'observation du contenu des ruches *post mortem* ce qui ne permet pas d'avoir d'information sur la symptomatologie clinique. De plus, les troubles observés sur les colonies d'abeilles sont parfois multifactoriels. La saison où surviennent les mortalités est également un élément à prendre en compte permettant d'orienter le diagnostic (Maini *et al.*, 2010).

9.2. Rôle direct

9.2.1. Rôle dans le CCD (Colony Collapse Disorder)

Concernant le CCD, les colonies touchées sont caractérisées par des pertes rapides d'ouvrières. Cependant, aucun cadavre n'est observé dans et à proximité de la ruche. Cela se traduit par une faiblesse de la colonie et un excès de couvain au vu de la force de la colonie. Les chercheurs ont identifié 60 facteurs pouvant contribuer au CCD. Parmi eux, on trouve l'infestation par *V. destructor* (Wu *et al.*, 2011). Cependant, dans le cas du CCD, il est intéressant d'observer que lorsque la population de la colonie d'abeilles s'effondre, le niveau d'infestation par *V. destructor* n'atteint pas les seuils critiques qui habituellement entraînent le déclin de la population d'abeilles puis sa mort (vanEngelsdorp *et al.*, 2009). Les recherches menées ont mis en évidence un virus : l'IAPV (Israeli Acute Paralysis Virus) dont la présence est fortement corrélée avec le CCD. Ce virus sert actuellement de marqueur du CCD, son rôle dans le CCD est toutefois discuté. L'étude de marqueurs génétiques de l'immunité ou de marqueurs de contamination pour certains pesticides n'a pas permis d'enregistrer de tendance significative permettant d'expliquer le CCD. Les abeilles appartenant aux colonies touchées par le CCD sont toutefois co-infectés par un plus grand nombre d'agents pathogènes comparés à des abeilles provenant de colonies témoins saines. Certains auteurs pensent que le CCD est lié à des interactions entre agents pathogènes, des facteurs de stress, et possiblement le parasite *V. destructor*. Mais à ce jour, la séquence temporelle de ces événements et le ou les agents prédominants impliqués dans le CCD n'ont pas été déterminés (Le Conte *et al.*, 2010 ; vanEngelsdorp *et al.*, 2009).

9.2.2. Rôle dans les mortalités hivernales de colonies

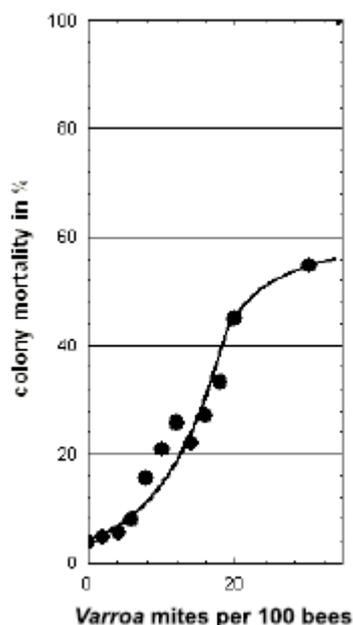
Le taux de mortalité hivernale au sein d'un rucher représente la proportion de colonies vivantes en fin d'hiver (février – mars suivant les régions), par rapport à celles vivantes avant l'hiver et considérée par l'apiculteur comme en état de traverser correctement cette période (nombre déterminé en septembre-octobre) (Faucon et Chauzat, 2008).

Une part des mortalités hivernales des colonies d'abeilles paraît inévitable. Historiquement, le taux de mortalité était de 5 % en France. Aujourd'hui, des mortalités hivernales de plus de 20 % sont fréquemment rapportées et ont tendance à se généraliser dans certaines régions (Allier *et al.*, 2008).

Certains auteurs observent une corrélation entre mortalité hivernale des colonies d'abeilles et niveau de parasitisme par *V. destructor*.

Ainsi en Allemagne, les colonies ayant une infestation automnale de 10 *V. destructor* pour 100 abeilles ont une mortalité hivernale de près de 20 %, les colonies ayant une infestation de 20 *V. destructor* pour 100 abeilles ont une mortalité hivernale de 50 % (Figure 95) (Genersch *et al.*, 2010). Il est également constaté que des colonies sont capables de supporter une population importante de *V. destructor* de façon asymptotique, alors que d'autres, infestées par une population moindre de parasites, meurent (Genersch *et al.*, 2010 ; Martin *et al.*, 1998).

Figure 95 : Relation entre la mortalité hivernale des colonies d'abeilles et le niveau d'infestation par *V. destructor* (nombre de *V. destructor* pour 100 abeilles à l'automne) (adapté, d'après Genersch *et al.*, 2010).



En 2009, un rapport de l' Afssa traitant des 'Mortalités, effondrements et affaiblissements des colonies d'abeilles' conclut qu'en France, 'les facteurs identifiés à l'origine de mortalité importante de colonies ont été essentiellement biologiques, en particulier, l'agent de la varroose' (Toma *et al.*, 2009).

Plusieurs études soulignent le rôle prépondérant de *V. destructor* et l'insuffisante efficacité des traitements mis en œuvre pour abaisser la pression du parasite lors de mortalités de colonies d'abeilles (Charrière et Neumann, 2010 ; Dahle, 2010 ; Faucon et Chauzat, 2008 ; Genersch *et al.*, 2010 ; Guzman-Novoa *et al.*, 2010 ; Le Conte *et al.*, 2010 ; Nguyen *et al.*, 2009).

Toutefois, la simple présence de *V. destructor* n'explique pas toutes les mortalités hivernales, d'autant plus si ces dernières surviennent dans des ruchers où les préconisations concernant les traitements anti-varroa sont respectées et où les techniques d'élevage permettant un bon hivernage sont maîtrisées (nourrissement automnal suffisant, présence d'une reine de préférence jeune pour hiverner).

D'autres agents pathogènes qui ont pour tropisme des organes vitaux de l'abeille, lorsqu'ils sont présents en quantité suffisamment importante pour se révéler pathogène, sont susceptibles à l'échelle de la colonie d'entraîner des affaiblissements, puis la mort de la colonie. On peut citer les agents de la nosérose, de la loque américaine, de la loque européenne, de l'acariose des trachées ou les virus. Toutefois, ces pathologies s'accompagnent de signes cliniques caractéristiques facilement identifiables et sont favorisées par un système immunitaire de l'abeille affaibli.

La présence d'agents contaminant chimiques dans les matrices apicoles (abeilles, pollen, miel, cire) à des doses sublétales est rapportée par de nombreuses études (Johnson *et al.*, 2010). L'effet de ces substances sur la colonie d'abeilles est aujourd'hui mal précisé. Ces molécules à doses sublétales pourraient ainsi abaisser le seuil de sensibilité des abeilles à divers pathogènes (Colin, communication personnelle).

9.3. Rôle indirect

Certains auteurs pensent que les traitements acaricides employés dans la lutte contre le parasite contribuent aux mortalités de colonies d'abeilles observées ces dernières années. Certaines molécules acaricides s'accumulent dans les cires et peuvent engendrer des intoxications chroniques à faible dose néfastes pour l'abeille et sa descendance (Martel *et al.*, 2007). Ce phénomène a été démontré pour le fluvalinate et le coumaphos, qui, quand ils se retrouvent associés expérimentalement à des doses sublétales, ont montré une toxicité pour les jeunes abeilles (Johnson *et al.*, 2009). L'association de molécules acaricides avec des molécules pesticides provenant des provisions ramenées à la ruche pourrait également engendrer un stress, facteur déclenchant des phénomènes délétères.