

République Algérienne Démocratique et Populaire  
⤠fIλχ{A ⤠fiAZω}fΞ{A ⤠fZ→A O{A ⤠fZ∞'}O{A  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
♣}{λ{A NPI{A ∞ ↔{Bλ{A ~f{λK{A ♥ZA ∞  
Ecole Nationale Supérieure Agronomique – El-Harrach- Alger  
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة الحراش الجزائر

# Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences agronomiques

## Thème

### **Etude des principales maladies bactériennes et virales de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* dans la région médio-septentrionale de l'Algérie**

Présenté par : M. ADJLANE Noureddine

**Devant le jury :**

**Présidente :** M<sup>me</sup> DOUMANDJI-MITICHE Bahia

Professeur (ENSA El Harrach)

**Directeur de thèse :** M. DOUMANDJI Salaheddine

Professeur (ENSA El Harrach)

**Co-directeur de thèse :** M. HADDAD Nizar

Directeur de recherche (NCARE, Jordan)

**Examineurs :**

M<sup>me</sup> GANA-KEBBOUCHE Salima

Maître de conférences (Univ. Boumerdes)

M. BERKANI Mohamed-Laid

Maître de conférences (ENSA El Harrach)

M. DJAZOULI Zahr-Eddine

Maître de conférences (Univ. Blida)

Soutenue le décembre 2012

## **Remerciement**

C'est un agréable devoir d'exprimer nos remerciements à toutes les personnes qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à l'accomplissement de ce travail.

Notre profonde reconnaissance et gratitude, va tout d'abord à Monsieur Doumandji Salaheddine, mon directeur de thèse, Professeur à l'Ecole nationale supérieure d'Agronomie d'El-Harrach, pour ses orientations, sa patience, son aide et son soutien moral et matériel, sa compréhension et ses précieux conseils qui nous ont guidés dans la réalisation de ce travail. Qu'il soit assuré de notre sincère reconnaissance. Enfin, nous sommes très sensibles à la touchante gentillesse qu'il a constamment manifestée à notre égard.

Nous remercions également Dr Haddad Nizar, co-directeur de thèse, avec qui j'ai eu le plaisir de collaborer, Je suis très reconnaissant qu'il m'ait fait confiance et d'avoir bien encadré mon travail, se rendant disponible et à l'écoute malgré un emploi du temps serré. Il a su orienter mes recherches aux bons moments tout en me laissant de la liberté et une grande autonomie. Il a toujours été motivé et enthousiaste dans les différentes étapes de ce travail et m'a également fourni les supports scientifiques et techniques nécessaires.

Nous adressons également nos sincères remerciements à Madame Doumandji Bahia, Professeur à l'Ecole nationale supérieure d'Agronomie, pour l'honneur qu'elle nous a fait de présider le jury de cette thèse.

Nous remercions les examinateurs suivants qui ont bien voulu consacrer du temps pour examiner ce travail :

- Madame Gana-Kebouche Salima Maître de conférences à l'université de Boumerdès
- Monsieur Djazouli Zaherddine, maître de conférences à l'université de Blida
- Monsieur Berkani Mohamed Laid, maître de conférences l'ENSA El Harrach

Je remercie vivement Mme Chahbar Nora maitre assistante à l'université de Boumerdes pour soutien et son aide et ses conseils dans au cours de la préparation de ma thèse de doctorat.

Je remercie vivement M<sup>me</sup> Mosbah Hayet du laboratoire de Biologie animale de l'université de Boumerdes pour son soutien dans mes travaux de laboratoire.

Je souhaite adresser mes remerciements également à toute l'équipe de laboratoire de biologie et protection de l'abeille de l'INRA Avignon : M. Yves Le Conte, M. Didier Creuser, M<sup>me</sup> Mercedes Charreton pour leurs orientations et conseils dans la réalisation de ce travail.

Je ne pourrai oublier d'évoquer l'aide de M. Benhacine Rafik de l'Institut technique des élevages de Baba Ali.

Mes reconnaissances et mes remerciements à Messieurs Vincent Dietermann, Dainat Benjamin et Laurent Gauthier du laboratoire de centre suisse de recherche apicole (Liebefeld, Berne), pour leurs aides et leurs conseils dans les différentes manipulations réalisées au laboratoire de Biologie moléculaire. .

Je ne peux oublier de remercier sincèrement tout le personnel du Laboratoire de recherche de l'abeille du centre national de vulgarisation agricole de Baq'a en Jordanie surtout M. Moath Gharabai pour m'avoir initié à la recherche dans le domaine de la détection des maladies virales chez les abeilles.

Je remercie aussi M<sup>me</sup> Kehih Saliha et tout le personnel du laboratoire régional de la médecine vétérinaire de Tizi Ouzou pour leur participation dans la réalisation des analyses microbiologiques, microscopiques et biochimiques.

Mes sincères gratitudes vont aussi à M<sup>me</sup> Ameer Ain Karima du laboratoire de microbiologie du centre national de contrôle de la qualité d'El Harrach pour m'avoir accompagné dans une partie des analyses.

Je tiens aussi à remercier l'ensemble des coopératives et des associations apicoles citées ci-dessous qui m'ont aidé à obtenir les échantillons d'abeilles :

- L'association des agriculteurs de montagne de la wilaya de Tizi Ouzou
- L'association des apiculteurs de la wilaya de Bouira, de Tipaza et de Blida
- La coopérative apicole de la wilaya de Blida, de Boumerdes et d'Alger

Un grand merci aux apiculteurs, plus que pour leur appui matériel ou moral, pour la passion de l'abeille, la patience et surtout la motivation qu'ils m'ont apportées : les frères Diffalah, M. Hamzaoui, M. Kechida, M. Belkacem, M. Malki.

Je ne saurais oublier de remercier M. Mohammedi Arezki, maître de conférences à l'université de Boumerdes pour avoir guidé mes premiers pas dans le cadre de l'apiculture lors de la préparation de mon magister.

Enfin, je remercie, pour leur soutien moral et leur amour, ma femme et mes deux filles

## Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

|                                                                         |           |
|-------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Introduction .....                                                      | 1         |
| <b>Chapitre I - Revue bibliographique sur l'abeille domestique.....</b> | <b>4</b>  |
| <b>1.1. - Généralités sur l'abeille <i>Apis mellifera</i>.....</b>      | <b>4</b>  |
| 1.1.1. – Position systématique de l'abeille... ..                       | 4         |
| 1.1.2. - Répartition géographique.....                                  | 5         |
| 1.1.3. – Biologie d' <i>Apis mellifera</i> .....                        | 5         |
| 1.1.3.1. - Organisation des abeilles dans la colonie.....               | 5         |
| 1.1.3.2. – Description du nid des abeilles.....                         | 5         |
| 1.1.3.2.1. - Reine .....                                                | 7         |
| 1.1.3.2.2. - Ouvrières .....                                            | 7         |
| 1.1.3.2.3. - Faux bourdons .....                                        | 7         |
| 1.1.3.3. - Alimentation et durée de vie .....                           | 7         |
| 1.1.3.4. - Reproduction et cycle de développement .....                 | 8         |
| 1.1.3.4.1. - Oeuf .....                                                 | 8         |
| 1.1.3.4.2. - Larve .....                                                | 8         |
| 1.1.3.4.3. – Nymphe.....                                                | 10        |
| <b>1.2. - Principales maladies de l'abeille .....</b>                   | <b>10</b> |
| 1.2.1.- Maladies des abeilles adultes .....                             | 10        |
| 1.2.1.1.- L'acariose .....                                              | 10        |
| 1.2.1.1.1.-Etiologie .....                                              | 10        |
| 1.2.1.1.2.- Biologie.....                                               | 12        |
| 1.2.1.1.3.- Dispersion et transmission .....                            | 12        |
| 1.2.1.1.4.- Pathogénie.....                                             | 12        |
| 1.2.1.1.5. - Traitements .....                                          | 13        |
| 1.2.1.2. - La nosémosé .....                                            | 13        |
| 1.2.1.2.1. - Agent infectieux.....                                      | 13        |
| 1.2.1.2.2. - Epidémiologie et mode de propagation .....                 | 15        |
| 1.2.1.2.3. - Causes favorisantes .....                                  | 15        |
| 1.2.1.2.4. - Symptômes .....                                            | 15        |
| 1.2.1.2.5. Prévention .....                                             | 16        |
| 1.2.1.2.6. - Traitements .....                                          | 16        |
| 1.2.2.- Maladies typiques du couvain .....                              | 16        |
| 1.2.2.1. - Loque américaine.....                                        | 16        |
| 1.2.2.1.1. - Agent causal .....                                         | 17        |
| 1.2.2.1.2. - Pathogénie .....                                           | 17        |
| 1.2.2.1.3. - Symptômes .....                                            | 17        |
| 1.2.2.1.4. - Propagation .....                                          | 18        |
| 1.2.2.1.5. - Techniques de diagnostic .....                             | 19        |
| 1.2.2.1.6. - Mesures préventives.....                                   | 19        |
| 1.2.2.1.7. - Traitements .....                                          | 19        |
| 1.2.2.2. - Loque européenne.....                                        | 20        |
| 1.2.2.2.1. - Agent causal .....                                         | 20        |

|                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| 1.2.2.2.2.- Pathogénie .....                                        | 20 |
| 1.2.2.2.3- Biologie et diffusion de la maladie.....                 | 20 |
| 1.2.2.2.4.- Symptômes .....                                         | 21 |
| 1.2.2.2.5- Réceptivité et causes favorisantes .....                 | 21 |
| 1.2.2.2.6- Prévention et traitement .....                           | 23 |
| 1.2.2.3.- Le couvain platré ou Ascospherose.....                    | 23 |
| 1.2.2.3.1.- Agent causal .....                                      | 23 |
| 1.2.2.3.2.- Infection et multiplication .....                       | 23 |
| 1.2.2.3.3.- Transmission et causes favorisantes de la maladie ..... | 23 |
| 1.2.2.3.4.- Symptômes .....                                         | 24 |
| 1.2.2.3.5.- Prévention et traitement .....                          | 24 |
| 1.2.3. - Maladies communes au couvain et aux abeilles adultes ..... | 24 |
| 1.2.3.1. - Varroase .....                                           | 24 |
| 1.2.3.1.1.- Biologie de l'acarien .....                             | 26 |
| 1.2.3.1.2.- Reproduction et cycle de vie.....                       | 26 |
| 1.2.3.1.3.- Symptômes ... ..                                        | 27 |
| 1.2.3.1.4.- Facteurs de propagation.....                            | 27 |
| 1.2.3.1.5.- Actions pathologiques.....                              | 27 |
| 1.2.3.1.5.1.- Action spoliatrice.....                               | 27 |
| 1.2.3.1.5.2. Action mécanique.....                                  | 29 |
| 1.2.3.1.5.3. Action vectrice .....                                  | 29 |
| 1.2.3.1.6.- Traitement de la varroase.....                          | 29 |
| 1.2.3.2.- Les virus.....                                            | 30 |
| 1.2.3.2.1.- Description des agents causaux.....                     | 30 |
| 1.2.3.2.2.- Transmission.....                                       | 30 |
| 1.2.3.2.3.- Principaux virus de l'abeille .....                     | 31 |
| 1.2.3.2.3.1. - Virus des ailes déformés (DWV) .....                 | 31 |
| 1.2.3.2.3.2. – Virus de la paralysie aiguë des abeilles (ABPV) ...  | 31 |
| 1.2.3.2.3.3. - Virus de la cellule noire de la reine (BQCV).....    | 33 |
| 1.2.3.2.3.4.- Le couvain sacciforme (SBV) .....                     | 33 |
| 1.2.3.2.3.5.- Le virus du Cachemire (KBV) .....                     | 34 |
| 1.2.3.2.3.6.- virus de la paralysie chronique (CBPV) .....          | 34 |
| 1.2.3.2.4.- Diagnostic.....                                         | 35 |

## **Chapitre II - Situation sanitaire des colonies d'abeilles dans la région médio-septentrionale de l'Algérie.....**

|                                                                                                                           |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>2.1. – Méthodologie adoptée .....</b>                                                                                  | <b>36</b> |
| 2.1.1.- Enquête dans la région médio-septentrionale d'Algérie.....                                                        | 36        |
| 2.1.2. - Détection des pathologies apicoles .....                                                                         | 38        |
| <b>2.2. - Résultats et discussion .....</b>                                                                               | <b>39</b> |
| 2.2.1.- Résultats de l'enquête auprès des apiculteurs et au niveau des ruchers et discussion .....                        | 39        |
| 2.2.2. - Résultats de l'enquête concernant les pathologies apicoles et discussion .....                                   | 39        |
| 2.2.3. - Résultats de l'enquête pour les pratiques apicoles et discussion .....                                           | 47        |
| 2.2.4.- Résultats de l'enquête concernant l'influence des traitements phytosanitaires sur les colonies et discussion..... | 47        |
| 2.2.5. - Résultats de l'enquête relatifs aux effets des facteurs environnementaux sur les abeilles et discussion .....    | 48        |

|                                                                                                                                                                     |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Chapitre III - Prévalence de la loque américaine dans les colonies d'abeilles locales d'<i>Apis mellifera intermissa</i></b> .....                               | 49  |
| <b>3.1. – Méthodologie adoptée</b> .....                                                                                                                            | 49  |
| 3.1.1. - Echantillonnage .....                                                                                                                                      | 49  |
| 3.1.2. - Prélèvement des échantillons d'abeilles .....                                                                                                              | 49  |
| 3.1.3. - Transport et conservation des abeilles .....                                                                                                               | 50  |
| 3.1.4. - Préparation du milieu de culture .....                                                                                                                     | 50  |
| 3.1.5. - Méthode de diagnostic microbiologique de l'agent causal .....                                                                                              | 50  |
| 3.1.6. - Tests de confirmation.....                                                                                                                                 | 51  |
| 3.1.6.1. - Tests biochimiques.....                                                                                                                                  | 51  |
| 3.1.6.1.1. - Test de la catalase.....                                                                                                                               | 51  |
| 3.1.6.1.2. - Hydrolyse de la caséine.....                                                                                                                           | 51  |
| 3.1.6.2. - Méthode microscopique .....                                                                                                                              | 52  |
| 3.1.7. – Techniques employées pour l'analyse statistique des résultats .....                                                                                        | 52  |
| <b>3.2. – Résultats</b> .....                                                                                                                                       | 53  |
| <b>3.3. – Discussion</b> .....                                                                                                                                      | 58  |
| <br>                                                                                                                                                                |     |
| <b>Chapitre IV - Prévalence de la nosérose dans les colonies d'abeilles <i>Apis mellifera intermissa</i> dans la région médio-septentrionale de l'Algérie</b> ..... | 61  |
| <b>4.1. - Méthodologie adoptée</b> .....                                                                                                                            | 61  |
| 4.1.1.- Echantillonnage .....                                                                                                                                       | 61  |
| 4.1.2. – Méthode de prélèvement des abeilles .....                                                                                                                  | 61  |
| 4.1.3. – Méthode de détection des symptômes .....                                                                                                                   | 61  |
| 4.1.4. - Protocole des analyses .....                                                                                                                               | 62  |
| 4.1.5. – Méthode d'analyse statistique des résultats.....                                                                                                           | 62  |
| <b>4.2.- Résultats et discussion</b> .....                                                                                                                          | 63  |
| <br>                                                                                                                                                                |     |
| <b>Chapitre V - Détection du virus des ailes déformées dans les colonies d'abeilles locales</b> .....                                                               | 70  |
| <b>5.1. - Méthodologie adoptée concernant le virus des ailes déformées des abeilles</b> .....                                                                       | 70  |
| 5.1.1. - Lieu d'étude .....                                                                                                                                         | 70  |
| 5.1.2. - Matériel biologique .....                                                                                                                                  | 70  |
| 5.1.3. - Prélèvement des échantillons.....                                                                                                                          | 70  |
| 5.1.4. - Méthode expérimentale d'estimation du taux d'infestation du couvain par <i>Varroa</i> .....                                                                | 71  |
| 5.1.5. - Méthode expérimentale d'estimation du taux d'infestation des abeilles par <i>Varroa</i> .....                                                              | 71  |
| 5.1.6.- Méthodologie de détection du virus DWV .....                                                                                                                | 72  |
| <b>5.2.- Résultats et discussion</b> .....                                                                                                                          | 73  |
| <br>                                                                                                                                                                |     |
| <b>Conclusion</b> .....                                                                                                                                             | 80  |
| <b>Références bibliographiques</b> .....                                                                                                                            | 83  |
| <b>Annexes</b> .....                                                                                                                                                | 107 |
| <b>Résumé</b> .....                                                                                                                                                 | 112 |

## Liste des tableaux

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tableau 1</b> - Classification de l'abeille ( <i>Apis mellifera</i> ) (RAVAZZI, 2003).....                                                                                                                                                                                                                                                                | <b>4</b>  |
| <b>Tableau 2</b> - Mode de transmission de <i>P.larvae</i> à l'intérieur de la colonie et entre colonies (LINDSTROM <i>et al.</i> , 2008).....                                                                                                                                                                                                               | <b>18</b> |
| <b>Tableau 3</b> - Les 11 principaux virus de l'abeille : l'historique de leur découverte, les particularités démontrées en infection expérimentale, leur association avec d'autres agents pathogènes ainsi que l'impact supposé ou démontré de la virose sur la santé des colonies et les symptômes décrits sur les ruchers (OLIVIER et RIBIERE, 2006)..... | <b>32</b> |
| <b>Tableau 4</b> - Symptômes rapportés par les apiculteurs lors de l'enquête.....                                                                                                                                                                                                                                                                            | <b>41</b> |
| <b>Tableau 5</b> - Recherche de différence significative par une ANOVA entre les prévalences de la loque américaine entre les zones étudiées.....                                                                                                                                                                                                            | <b>55</b> |
| <b>Tableau 6</b> - Recherche de différence significative par une ANOVA entre la corrélation entre prévalence de la loque américaine et les symptômes.....                                                                                                                                                                                                    | <b>56</b> |
| <b>Tableau 7</b> - Recherche de différence significative par une ANOVA entre le taux de prévalence de la nosérose entre les zones étudiées.....                                                                                                                                                                                                              | <b>65</b> |
| <b>Tableau 8</b> - Répartition (en %) des échantillons d'abeilles infestées par des spores de <i>Nosema sp.</i> près de Blida, d'Alger, de Boumerdes, de Bouira et de Tipaza .....                                                                                                                                                                           | <b>68</b> |
| <b>Tableau 9</b> - Primers utilisés dans la détection du DWV.....                                                                                                                                                                                                                                                                                            | <b>72</b> |
| <b>Tableau 10</b> - Détection du virus DWV dans les échantillons d'abeilles adultes, et évaluation du taux d'infestation des abeilles adultes et du couvain .....                                                                                                                                                                                            | <b>74</b> |
| <b>Tableau 11</b> - Recherche de différence significative par une ANOVA entre les taux d'infestation par des <i>Varroa</i> phorétiques sur deux groupes d'abeilles infestées et non infestées .....                                                                                                                                                          | <b>77</b> |
| <b>Tableau 12</b> - Recherche de différence significative par une ANOVA entre les taux d'infestation par des <i>Varroa</i> du couvain sur deux groupes d'abeilles infestées et non infestées .....                                                                                                                                                           | <b>77</b> |

## Liste des figures

|                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 1</b> - Un cadre du couvain avec couvain ouvert, operculé et provision et des ouvrières (Original).....                                                 | 6  |
| <b>Figure 2</b> - Chevauchement dans le temps des activités des ouvrières (WINSTON, 1993) .....                                                                   | 6  |
| <b>Figure 3</b> - Développement des larves d'ouvrières (A), de faux-bourçons (B) et de reine (C) (WINSTON, 1993).....                                             | 9  |
| <b>Figure 4</b> - <i>Acarapis woodi</i> observé avec microscope électronique ( DELFINADO-BAKER et BAKER, 1982).....                                               | 11 |
| <b>Figure 5</b> - Femelle adulte d' <i>Acarapis woodi</i> dans la trachée d'une abeille (( DELFINADO-BAKER et BAKER, 1982).....                                   | 11 |
| <b>Figure 6</b> - Spore de <i>Nosema</i> sp (HIHES <i>et al.</i> , 2006).....                                                                                     | 14 |
| <b>Figure 7</b> - <i>Nosema cerana</i> (A) et <i>apis</i> (B) observés avec microscope électronique et au microscope photonique (HIGES <i>et al.</i> , 2006)..... | 14 |
| <b>Figure 8</b> - Traces de diarrhée provoquées par la nosérose sur la colonie (Original).....                                                                    | 14 |
| <b>Figure 9</b> - Symptômes de la loque européenne sur un cadre du couvain (Original).....                                                                        | 22 |
| <b>Figure 10</b> - Acarien parasite <i>Varroa destructor</i> de l'abeille mellifère (Original).....                                                               | 25 |
| <b>Figure 11</b> - Cycle de vie de <i>Varroa destructor</i> (VANDAME, 1996).....                                                                                  | 25 |
| <b>Figure 12</b> - Des abeilles mortes avec des ailes déformées (Original).....                                                                                   | 28 |
| <b>Figure 13</b> - Une abeille noire avec des ailes écartées et déformées (Original).....                                                                         | 28 |
| <b>Figure 14</b> - Zone d'étude (région médio-septentrionale de l'Algérie).....                                                                                   | 37 |
| <b>Figure 15</b> - Nombre de ruches par apiculteur.....                                                                                                           | 40 |
| <b>Figure 16</b> - Âges des apiculteurs enquêtés.....                                                                                                             | 40 |
| <b>Figure 17</b> - Niveaux d'instruction des apiculteurs enquêtés.....                                                                                            | 41 |
| <b>Figure 18</b> - Fréquences de traitement par année.....                                                                                                        | 43 |
| <b>Figure 19</b> - Périodes d'application du traitement de lutte contre la varroase.....                                                                          | 43 |
| <b>Figure 20</b> - Pourcentages des produits anti-varroa utilisés.....                                                                                            | 44 |
| <b>Figure 21</b> - Prévalence de la nosérose dans la région médio-septentrionale de l'Algérie durant l'année 2011.....                                            | 44 |
| <b>Figure 22</b> - Aspect des colonies de <i>Paenibacillus larvae</i> après incubation (Original) .....                                                           | 54 |
| <b>Figure 23</b> - <i>Paenibacillus larvae</i> après coloration de Gram observés sous microscope photonique à GX 100 (Original).....                              | 54 |
| <b>Figure 24</b> - Prévalences de la loque américaine dans les zones étudiées.....                                                                                | 55 |
| <b>Figure 25</b> - Fréquences de l'apparition des symptômes de la loque américaine dans les colonies infestées par la bactérie <i>Paenibacillus larvea</i> .....  | 56 |



|                                                                                                                                                  |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figure 26</b> - Symptômes de la loque américaine (Original).....                                                                              | <b>57</b> |
| <b>Figure 27</b> - Observation des spores de <i>Nosema sp</i> (Gr x 400) (Original).....                                                         | <b>64</b> |
| <b>Figure 28</b> - Prévalences de la nosérose dans les régions de Blida, d'Alger, de Boumerdes, de Bouira et de Tipaza en février-mars 2010..... | <b>64</b> |
| <b>Figure 29</b> - Humidité enregistrée dans la région d'étude entre septembre et mars 2010.....                                                 | <b>67</b> |
| <b>Figure 30</b> - Pluviométrie enregistrée dans la région d'étude entre septembre et mars 2010.....                                             | <b>67</b> |
| <b>Figure 31</b> - par électrophorèse sur gel, recherche de virus DWV dans les échantillons d'abeilles.....                                      | <b>74</b> |

**Liste des abréviations :**

ABPV : Acute Bee Paralysis Virus

BQCV : Black Queen Cell Virus

CBPV : Chronic Bee Paralysis Virus

CWV: Cloudy Wing Virus

DWV : Deformed Wing Virus

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations

F.O. : Fréquence d'occurrence

INMV : Institut national de la médecine vétérinaire

ITELV : Institut technique des élevages

KBV : Kashmir Bee Virus

M.A.D.R : Ministère de l'Agriculture et du développement rural

MYPGP : Muller-Hintonyeast extract-polymyxin-glucose-sodium pyruvate

OIE : Office international des épizooties

pb : paires de bases ou base pair en anglais

PBS : phosphate buffer salin

PCR : polymeras chain reaction

# **INTRODUCTION**

## Introduction

Le choix du thème sur l'abeille (*Apis mellifera* Linné, 1758) s'explique par l'importance de cet insecte en tant qu'élément indispensable de l'équilibre environnemental dans le monde notamment pour son rôle dans la pollinisation de très nombreuses espèces de plantes. Elle présente aussi d'autres intérêts comme la production du miel, de la propolis, de la gelée royale et de la cire. Il est à souligner qu'au cours de ces dernières années, des affaiblissements du cheptel apicole sont recensés dans de nombreux pays. Ce phénomène se traduit par une mortalité hivernale de colonies d'abeilles supérieure à la normale ainsi que des pertes de population en cours d'année. Cet affaiblissement est connu sous le nom de "Colony Collapse Disorder" (CCD). Ces pertes sont estimées à 40 % en moyenne en Autriche, en Belgique et en Suisse (HAUBRUGE *et al.*, 2006). Il en est de même, en France, chaque année depuis 1995 une perte en colonies comprise entre 300 000 et 400 000 est enregistrée (GUILLET, 2007). Au Canada, une réduction de 21,3 % est observée pendant l'hiver 2009 (BOUCHER, 2009). L'Espagne et l'Italie font état de 30 % de mortalité environ chacune. Pendant la période 2009-2010, 33,8 % des colonies américaines ont disparu (VAN ENGELSDORP *et al.*, 2010). Au Japon, l'effectif des colonies s'est réduit de 25 % (NEUMANN et CARRECK, 2010). A cause de ce phénomène, la profession apicole estime entre 20 % et 30 % la baisse de la production mondiale du miel entre les années 1997 et 2009 (GENERSCH *et al.*, 2010). L'absence d'observations de signes précurseurs et d'identification de symptômes caractéristiques entraîne un désarroi et une incompréhension des apiculteurs face à ces cas de plus en plus récurrents. Plusieurs études sont menées sur les causes de ces affaiblissements et mettent en cause une diversité d'agents pathogènes (BOUCHER et DESJARDINS, 2005; ELLIS et MUNN, 2005 ; OLDROYD, 2007; BURGETT *et al.*, 2009; CURRIE *et al.*, 2010; GUZMAN-NOVOA *et al.*, 2010; NEUMANN et CARRECK, 2010 ; COPLEY et JABAJI, 2012). D'après les statistiques publiées par le Ministère de l'agriculture le nombre de ruches en Algérie est de 1,4 million environ et celui des apiculteurs près de 20.000 (M.A.D.R, 2010). La production du miel a atteint 4,8 millions de kg en 2010. Cependant le rendement des colonies reste très faible et inférieur à 4 kg/ ruche. (Source : Ministère de l'Agriculture et du développement rural : M.A.D.R (2009/2010) ». En Algérie, rares sont les études et les enquêtes sur la situation des colonies d'abeilles bien que depuis plusieurs années, des phénomènes de mortalités anormales des abeilles locales, de disparitions de butineuses sont souvent signalés par les apiculteurs. Aucune étude antérieure n'a permis d'incriminer un facteur de risque précis. Ainsi, plusieurs questions méritent d'être posées :

Possédons-nous les estimateurs adéquats pour évaluer les pertes des colonies d'abeilles locales ? Quels sont les facteurs de risque et quelles peuvent être leurs interactions avec l'abeille domestique en relation avec les pertes signalées ? La première partie de ce travail essayera d'apporter des éléments de réponse à travers une enquête de terrain complétée par des données des différentes institutions et organismes en relation avec l'apiculture.

En Algérie, cinq maladies des abeilles figurent sur la liste des maladies animales à déclaration obligatoire fixée par décret exécutif n° 95-66 du 22 février 1995. Ce sont : La varroase, les loques américaines et européennes, la nosérose et l'acariose des abeilles. A part quelques travaux de recherches sur le *Varroa* (ACHOU, 2007 ; ADJLANE, 2010 ; BELAID et DOUMANDJI, 2010; LOUCIF AYAD *et al.*, 2010; ADJLANE *et al.*,2011). Les études sur les autres pathologies apicoles sont inexistantes. On dispose de très peu d'informations sur la nosérose et la loque américaine. Aucune étude n'a été menée pour évaluer la prévalence de ces maladies dans les colonies d'abeilles, et de déterminer la relation de ces pathologies avec l'affaiblissement et les mortalités signalées.

La loque américaine est une maladie bactérienne commune des abeilles mellifères (HEYNDRICK *et al.*, 1996). C'est la maladie la plus contagieuse du couvain, elle fait partie des maladies susceptibles de détruire une colonie entière (ALLIPI *et al.*, 2004). Elle engendre d'importantes pertes économiques aussi bien pour l'apiculteur que pour l'agriculteur qui a besoin de pollinisateurs (HADDAD *et al.*, 2007). La seconde partie de ce travail se propose donc de déterminer la prévalence de cette pathologie dans la région médio-septentrionale de l'Algérie comprenant les zones agricoles d'Alger, Blida, Boumerdès, Tipaza et Tizi Ouzou là où l'apiculture intensive est pratiquée.

La nosérose constitue également une autre menace pour les colonies d'abeilles, c'est une grave maladie des abeilles à l'état imaginal causée par *Nosema* sp microorganisme unicellulaire qui infecte l'épithélium de la paroi du mésenteron de l'abeille ouvrière (FAUCON, 2005). *Nosema* forme des spores résistantes qui restent viables pendant de longues durées. L'infection peut aboutir à des diarrhées. Elle se traduit par des tremblements chez les imagos d'abeilles, par une incapacité à voler et par un déclin de la colonie jusqu'à sa disparition (FRIES, 1988). L'étude de l'occurrence de cette pathologies dans les ruchers de la zone région médio-septentrionale constitue l'objectif recherché de la troisième partie du document.

La présence de virus et leurs relations avec la mortalité des abeilles est un sujet de préoccupation qui est à l'étude partout dans le monde (BENJEDDOU *et al.*, 2001 ; GRABENSTEINER *et al.*, 2000; BAKONYI *et al.*, 2002; TCHENCHEVA *et al.*, 2004 ; CHEN *et al.*, 2005; YUE et GENERSCH, 2005 ; CHANTAWANNAKUL *et al.*, 2006; CHEN et SIEDE, 2007; WEINSTEIN *et al.*, 2008 ; GENERSCH et AUBERT, 2010 ; GLOVER *et al.*, 2011). Le virus des ailes déformées (DWV) est le virus le plus souvent citée dans les recherches effectuées (TENCHEVA *et al.*, 2004; ANTUNEZ *et al.*, 2006; BERENYI *et al.*, 2006; TODD *et al.*, 2007; COX-FOSTER *et al.*, 2007; GISDER *et al.*, 2010; MARTIN *et al.*, 2010; ZIONI *et al.*, 2011). La question se pose sur la présence de ce virus en Algérie, sa relation avec les mortalités enregistrées et son action avec la présence l'acarien dans les colonies. Pour répondre à ces interrogations, nous avons proposés comme dernier chapitre l'étude de ce virus pour la première fois en Algérie. Cette partie portera sur l'influence de DWV sur l'effondrement des colonies enregistrées dans un rucher d'un apiculteur situé dans la Mitidja.

# CHAPITRE I

## Chapitre I - Revue bibliographique sur l'abeille domestique

Après avoir présenté des généralités bibliographiques sur *Apis mellifera*, les principales maladies de l'abeille sont développées.

### 1.1. - Généralités sur l'abeille *Apis mellifera*

Les points traités concernent la position systématique de l'abeille, sa répartition géographique ainsi que sa biologie.

#### 1.1.1. – Position systématique de l'abeille

*Apis* est un genre qui regroupe neuf espèces d'insectes sociaux de la famille des Apidae. C'est le seul genre de la tribu des Apini. Ces espèces produisent du miel en quantité notable. Ce genre regroupe les espèces qui sont principalement exploitées pour l'apiculture. Les membres de ce genre sont communément désignés par le terme abeilles, quoique ce terme puisse désigner aussi les taxons supérieurs Apoidea, Apidae et Apinae. Il existe d'autres espèces d'abeilles à miel en dehors du genre *Apis*, qui produisent du miel en très petites quantités (PROST et LE CONTE, 2005).

**Tableau 1** - Classification de l'abeille (*Apis mellifera*) (RAVAZZI, 2003).

| Règne          | Animal                                                   |
|----------------|----------------------------------------------------------|
| Embranchement  | Arthropodes                                              |
| Classe         | Insectes                                                 |
| Ordre          | Hyménoptères                                             |
| Sous-ordre     | Apocrites                                                |
| Super- famille | Apoïdés                                                  |
| Famille        | Apidés                                                   |
| Sous-famille   | Apinae                                                   |
| Tribu          | Apinés                                                   |
| Genre          | <i>Apis</i>                                              |
| Espèce         | <i>Apis mellifera intermissa</i> BUTTEL – REEOEN (1906). |



### **1.1.2. - Répartition géographique**

L'abeille appartient à la classe des insectes. La plus répandue dans le monde est *Apis mellifera*, qui s'étend depuis la pointe sud des savanes africaines, passant par la méditerranée jusqu'à atteindre la limite de son expansion en Europe du nord et en Scandinavie du sud. Une telle variété d'habitat, de conditions climatiques et de flore, a permis l'apparition de nombreuses sous espèces ou races géographiques qui sont interfécondes, chacune avec ses caractéristiques morphologique et physiologique adaptées à chaque région (CHAUVIN, 1968). La race présente en Algérie *Apis mellifera intermissa* est également appelée abeille tellienne. *Apis mellifera sahariensis*, ou abeille saharienne, a été décrite par HACCOUR (1961). C'est une abeille jaune de petite taille, à indice cubital élevé. Elle est peu agressive et possède une résistance remarquable aux conditions difficiles du milieu. Elle se retrouve au sud du Maroc et de l'Algérie.

### **1.1.3. – Biologie d'*Apis mellifera***

#### **1.1.3.1. - Organisation des abeilles dans la colonie**

La colonie d'abeille est composée de 30 000 à 50 000 individus avec environ 95 % d'ouvrières et 5 % de mâles ou faux-bourçons. Le nombre varie suivant les saisons et selon la race, les qualités génétiques et l'âge de la reine (VON FRISCH, 1977). Ces individus correspondent à la descendance d'une mère unique, la reine. Celle-ci est totalement investie dans la reproduction comme en témoigne son abdomen hypertrophié. Elle pond jusqu'à 2 000 œufs par jour (BULL, 1983). Les mâles haploïdes résultent du développement d'un ovule non fécondé par parthénogenèse arrhénotoque. Les femelles résultent d'œufs fécondés et sont diploïdes (ADAM *et al.*, 1977).

#### **1.1.3.2. – Description du nid des abeilles**

La société d'abeilles domestiques est établie dans un nid fonctionnel composé de milliers d'alvéoles hexagonales en cire qui lui procure une interface pour les diverses interactions entre les individus (Fig. 1). Le nid est aussi une structure optimale pour l'évolution de la colonie, pour le développement larvaire et le stockage de pollen et de miel (WILSON, 1971).

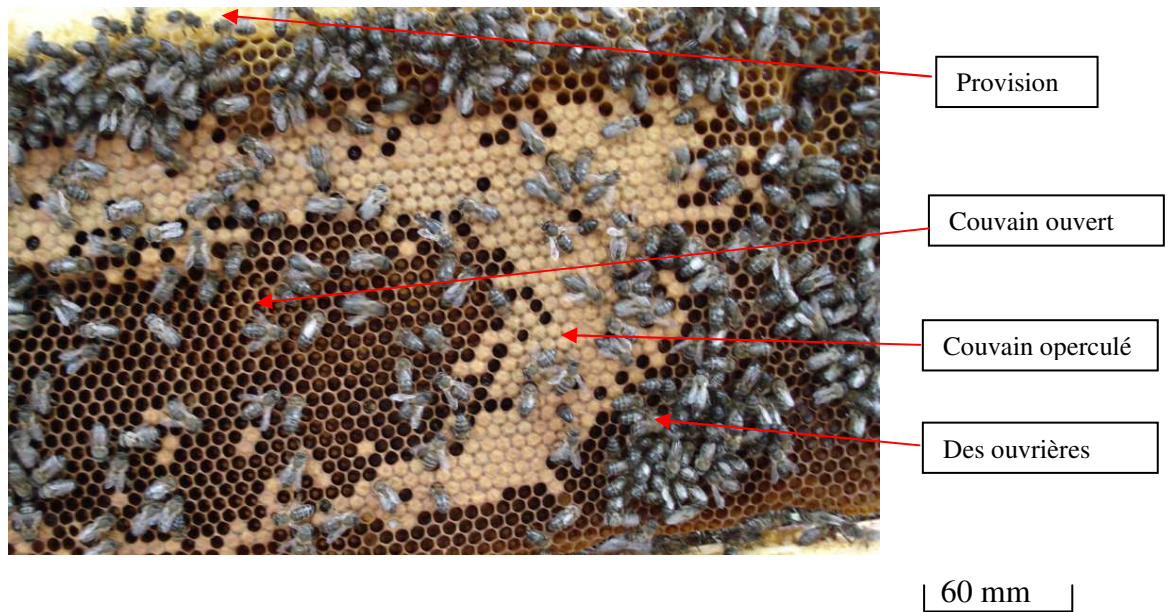


Figure 1 - Un cadre avec couvain ouvert, operculé et provision et des ouvrières (Original).

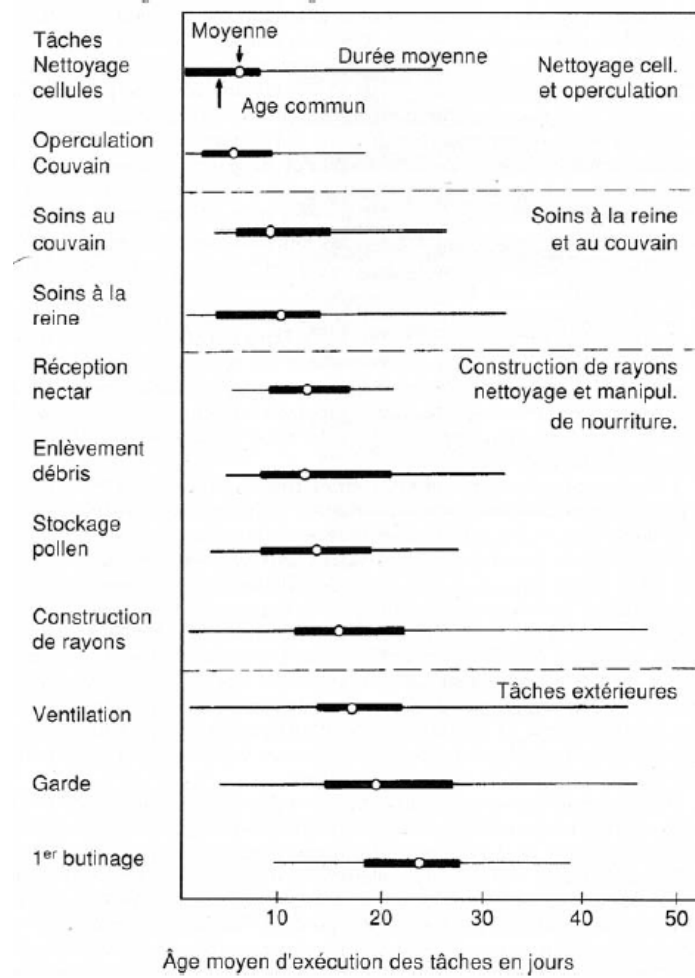


Figure 2 - Chevauchement dans le temps des activités des ouvrières (WINSTON, 1993).

#### 1.1.3.2.1. - Reine

La reine est entourée par des ouvrières qui lui prodiguent les soins nécessaires, en la nourrissant avec une nourriture riche lui permettant d'assurer ses rôles principaux. Son premier rôle de pondreuse est indispensable à la survie de la colonie. A l'intérieur de son abdomen se trouvent deux ovaires de taille importante ainsi qu'une spermathèque ou réserve de spermatozoïdes faisant de la reine une puissante « machine à pondre ». Son deuxième rôle, permet la cohésion de la colonie par le biais des phéromones régulant la physiologie et le comportement des ouvrières (WINSTON et PUNNETT, 1982).

#### 1.1.3.2.2. - Ouvrières

L'ouvrière, occupera plusieurs fonctions au cours de sa vie : nettoyage de la ruche, soins au couvain et à la reine, production de cire, construction de rayons, butinage, défense de la ruche. Toutes ces tâches peuvent être interchangeables au besoin de la colonie (SPÜRGIN, 2008). (Fig. 2).

#### 1.1.3.2.3. - Faux bourdons

Les mâles sont nourris par les ouvrières et ne s'approvisionnent pas directement sur les fleurs. Leur principale fonction est l'accouplement qui a lieu au printemps après l'essaimage, et parfois en cours d'été en cas de la mort d'une reine ou d'épuisement des réserves en spermatozoïdes de celle-ci (ALPHANDERY, 2002).

#### 1.1.3.3. - Alimentation et durée de vie

Au cours des premiers jours qui suivent l'émergence, les jeunes abeilles consomment du pollen en abondance. En même temps, la teneur en azote dans le corps de l'abeille passe de 2 à 3 mg par abeille (HAYDAK, 1970). Les jeunes abeilles ont besoin de protéines du pollen pour la constitution des organes internes tels que la glande nourricière, les corps adipeux et la musculature de vol (MAURIZIO, 1934). La durée de vie de l'abeille dépend de cette consommation de pollen. Si les jeunes abeilles ne peuvent consommer ce pollen, leur durée de vie se réduit (MAURIZIO, 1946).

#### 1.1.3.4. - Reproduction et cycle de développement

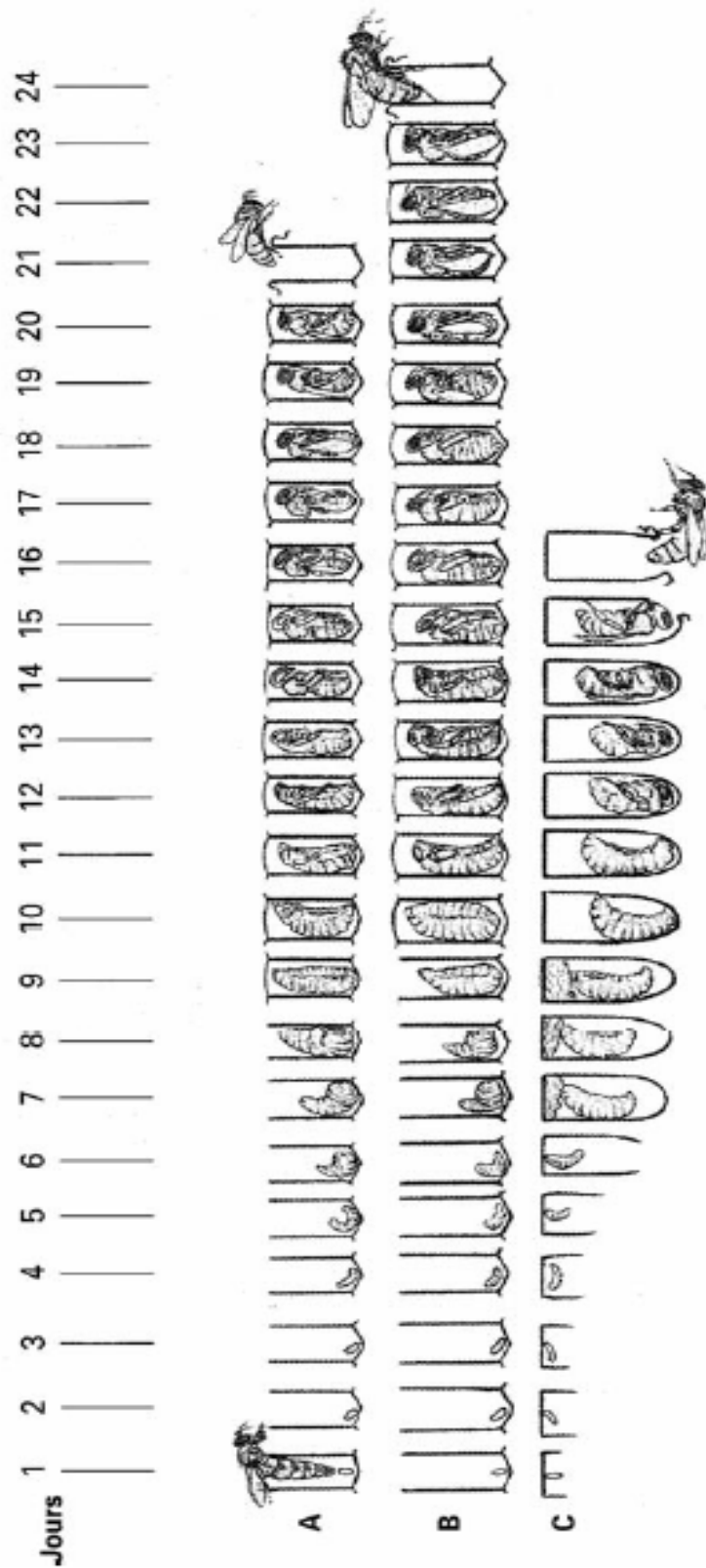
Le cycle de vie annuel de la colonie d'abeilles débute en fin d'hiver, quand la colonie commence à se développer. Comme tout organisme, le but principal de la colonie est de se reproduire pour se développer (SEELEY, 2002). Pendant l'hiver, les abeilles se regroupent au centre de la colonie et forment une grappe pour maintenir une température adéquate de survie dans la ruche. A la fin des mois froids, une centaine de jeunes ouvrières sont produites. Quand les premières floraisons commencent, des milliers de cellules sont alors utilisées pour élever des larves. Durant le printemps, la colonie a une croissance maximale pouvant atteindre 80 000 individus (FREE, 1977). Après la fécondation de la reine par plusieurs mâles, elle devient capable de pondre des œufs dans les cellules des rayons. Les œufs donneront des ouvrières et des reines, et seule l'alimentation détermine la caste de ces individus (PROST et LE CONTE, 2005). La reproduction de l'abeille passe par trois états: embryonnaire ou l'œuf, larvaire et nymphal (Fig. 3)

##### 1.1.3.4.1. - Oeuf

L'œuf pondu est un bâtonnet blanc de 1,5 mm de long et de 0,5 mm de large, son poids est de 0.13 mg (FAUCON, 1992). Il est collé par son extrémité effilée, au fond de l'alvéole où la reine l'a déposé (PROST et LE CONTE, 2005).

##### 1.1.3.4.2. - Larve

La larve éclot de l'œuf trois jours après la ponte. Elle évoluera pour devenir une ouvrière, une reine ou un mâle (PROST et LE CONTE, 2005). La larve mesure environ 106 µm, son poids est de 0,1 mg (VANDAME, 1996). Elle est plus petite que l'œuf, et couchée au fond de l'alvéole dans une gouttelette de gelée royale. La durée de vie larvaire d'abeille dépend de sa caste. En moyenne, elle est de 5 jours et 1/2 pour une reine et 6 jours pour une ouvrière. Lorsqu'il s'agit d'un mâle, la durée est de 6 jours et 1/2 (PROST et LE CONTE, 2005)



**Figure 3** - Développement des larves d'ouvrières (A), de faux-bourçons (B) et de reine (C) (WINSTON, 1993).

#### 1.1.3.4.3. – Nymph

Après le 9<sup>ème</sup> jour, la larve commence sa transformation en nymphe. Après un temps variable selon la caste, la nymphe mue pour donner naissance à l'adulte qui ronger l'opercule et sort de l'alvéole (WINSTON, 1993).

### 1.2. - Principales maladies de l'abeille

Dans cette partie, on s'intéresse aux maladies les plus dangereuses qui touchent les abeilles adultes et le couvain. Il s'agit de présenter l'agent causal, les principaux symptômes et les facteurs de propagation. Ensuite on conclue avec les moyens de préventions et les traitements disponibles.

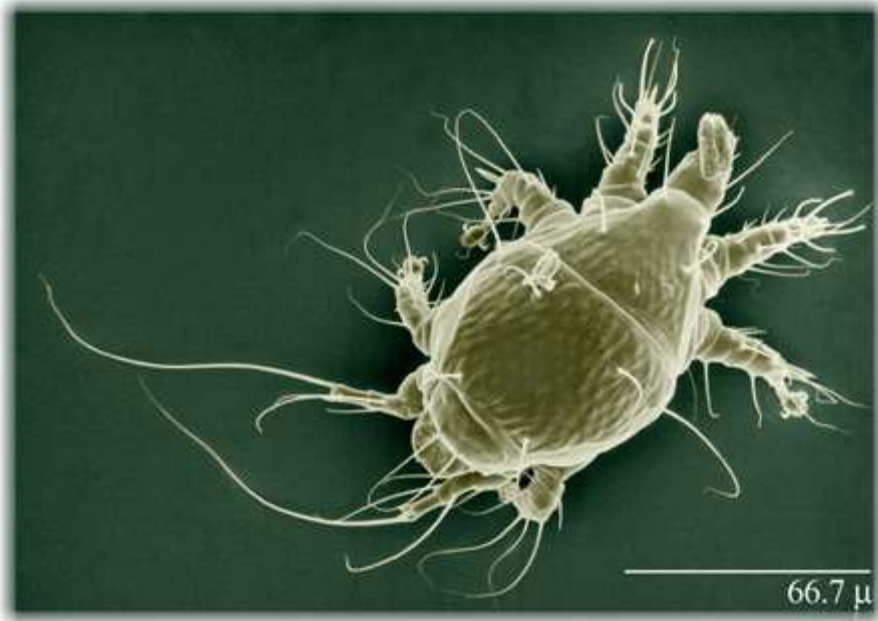
#### 1.2.1.- Maladies des abeilles adultes

##### 1.2.1.1.- L'acariose

C'est en 1921, en Angleterre, que cette maladie fut identifiée pour la première fois. L'acariose est une maladie parasitaire contagieuse de l'appareil respiratoire de l'abeille adulte. Elle est causée par un acarien microscopique *Acarapis woodi* (RENNIE, 1921). C'est un arthropode de la classe des Arachnides, de l'ordre des Acariens, de la famille des Tarsonémidés. Le mâle mesure de 96 à 102 µm de long par 60 à 63 µm de large et la femelle mesure de 123 à 180 µm par 76-100 µm (Fig. 4). Les œufs sont très gros: ils mesurent de 110 à 128 µm par 54 à 67 µm (GRANT *et al.*, 1993).

##### 1.2.1.1.1.-Etiologie

*Acarapis woodi* infeste les trois castes des abeilles : les ouvrières, les faux bourdons et les reines (BAILEY, 1985). Cet acarien est un parasite interne qui vit, se nourrit et se reproduit dans le système respiratoire des abeilles. Tous les stades de son développement y habitent et occupent principalement la première paire de trachées thoraciques (DELFINADO-BAKER et BAKER, 1984) (Fig. 5).



**Figure 4** - *Acarapis woodi* observé avec microscope électronique ( DELFINADO-BAKER et BAKER, 1982)



**Figure 5** - Femelle adulte d'*Acarapis woodi* dans la trachée d'une abeille ( DELFINADO-BAKER et BAKER, 1982)

#### 1.2.1.1.2.- Biologie

Au cours de la vie de l'acarien, on reconnaît successivement : un œuf, une larve, une nymphe, et des adultes mâles et femelles (DELFINADO-BAKER et BAKER, 1984). Le cycle de vie de cet acarien se déroule entièrement dans les trachées du système respiratoire de l'abeille adulte sauf pour de courtes périodes migratrices. Dans les 24 heures suivant la sortie de l'abeille de son alvéole, les acariens adultes femelles vont pénétrer dans les trachées en passant au travers des stigmates thoraciques et vont y demeurer jusqu'à la mort de leur hôte. Les femelles de l'acarien, après avoir été fécondées à l'intérieur de la trachée vont chercher une autre abeille sur laquelle elles vont migrer (GIORDANI, 1965).

#### 1.2.1.1.3.- Dispersion et transmission

Le parasitisme le plus important pour une colonie est sans doute celui des ouvrières, en raison du nombre d'individus et de leur rôle dans la production et la survie de la colonie (ROYCE et ROSSIGNOL, 1991). Les faux bourdons constituent les hôtes préférés des acariens (DAWICKE, 1991). La taille des trachées est plus grande et c'est peut être l'une des raisons de cette préférence. Concernant les reines, ils ont une durée de vie plus longue, elles peuvent constituer un réservoir important pour les acariens. La possibilité de l'essaimage et le parasitisme dans la production de reines, peuvent permettre la dispersion de la maladie à de grandes distances. La transmission de la pathologie s'effectue directement d'abeille à abeille, elle se fait également par l'achat de colonies ou de reines et par le pillage des abeilles (SMITH *et al.*, 1991).

#### 1.2.1.1.4.- Pathogénie

Les effets pathogènes trouvés chez les abeilles infectées dépendent du nombre de parasites dans la trachée et ils sont attribuables aux dommages mécaniques et aux désordres physiologiques consécutifs à l'obstruction des conduits d'air, aux lésions dans les parois des trachées et à la réduction de l'hémolymphe (OTIS et SCOTT-DUPREE, 1992). BAILEY en 1961 a montré que le parasitisme réduit la longévité des abeilles. Celles qui sont parasitées vont mourir avant celles qui ne le sont pas, ou vont présenter une importante perte de production.



L'action spoliatrice de l'acarien ouvre la voie à des infections secondaires (EISCHEN *et al*, 1989) et provoque également une perte de substances nutritives pour l'abeille (EISCHEN, 1987).

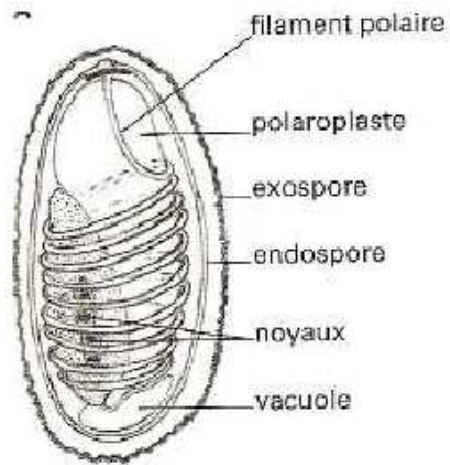
#### 1.2.1.1.5. - Traitements

Un examen attentif de la trachée est nécessaire pour déterminer l'infestation par les acariens. Il n'existe aucun traitement efficace à 100% pour l'acariose. Une fois la maladie présente dans le rucher, l'apiculteur devra vivre avec et contrôler son développement à un niveau qui ne portera pas atteinte à la santé de la colonie. Plusieurs produits permettent de traiter cette infestation parasitaire : le menthol, le thymol, l'acide formique et des produits chimiques comme l'amitraz, le fluméthrine et le fluvalinate (DAWICKE *et al.*, 1992)

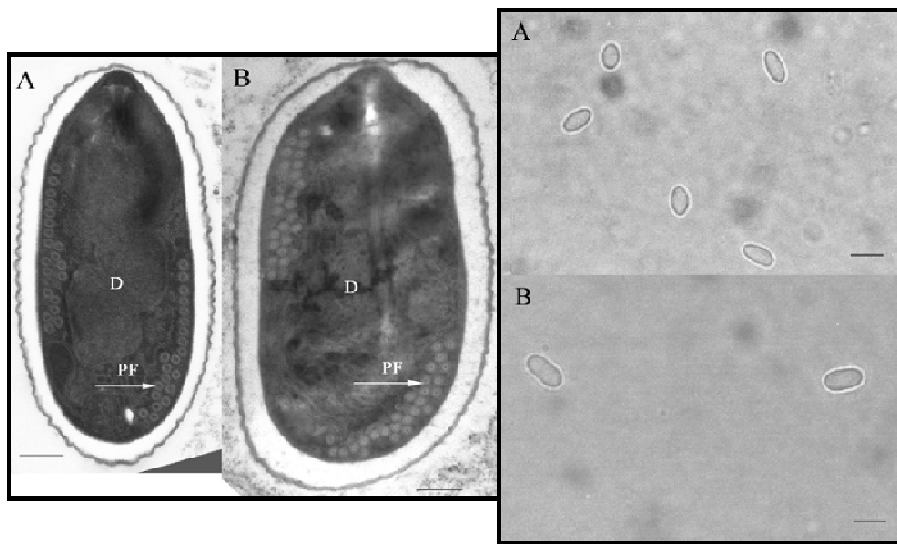
#### 1.2.1.2. - La nosérose

##### 1.2.1.2.1. - Agent infectieux

La nosérose des abeilles est une maladie provoquée par une microsporidie du genre *Nosema* qui touche le système digestif de l'abeille adulte. Les trois castes peuvent en être atteintes. Les microsporidies sont des eucaryotes unicellulaires apparentes aux champignons. Ils sont des parasites intracellulaires obligatoires sur de nombreuses espèces connues, la plupart sont des parasites des poissons et des arthropodes (DELBACE, 2009). En 1909, ENOCH ZANDER décrit le germe agent causal de la nosérose pour la première fois (protozoaire) *Nosema apis*: Parasite intracellulaire obligatoire, dont le cycle se déroule dans la cellule de l'abeille. Au cours de son cycle évolutif, *Nosema* peut se trouver sous deux formes. Au stade végétatif, le parasite se reproduit dans l'organisme de l'abeille et au stade de spore, une forme passive et infectieuse responsable de la transmission de la maladie. La spore est de forme ovoïde et d'une longueur de 6 µm, une largeur de 3 µm (Fig. 6). Plus récemment, un autre microsporidé, *Nosema ceranae* a été mis en évidence en Europe. Les spores de *Nosema ceranae* sont légèrement plus petites que celles de *Nosema apis* (Fig. 7) (HIGES *et al.*, 2006).



**Figure 6-** Spore de *Nosema* sp (HIGES *et al.*, 2006)



**Figure 7-** *Nosema cerana* (A) et *apis* (B) observés avec microscope électronique et au microscope photonique (HIGES *et al.*, 2006).



**Figure 8-** Traces de diarrhée provoquées par la nosérose sur la colonie (Original).

#### 1.2.1.2.2. - Epidémiologie et mode de propagation

Les abeilles atteintes de nosérose vont déféquer sur les cadres à l'intérieur de la ruche alors que leurs excréments contiennent des millions de spores. Leurs congénères s'infectent en effectuant le nettoyage ou en consommant de la nourriture contaminée (L'ARRIVEE, 1965). La situation est aggravée en période de confinement. Cette infection peut se propager à la faveur de la dérive des abeilles, du pillage, de l'achat d'abeilles et par l'utilisation par l'apiculteur de matériel souillé de matières fécales, de l'eau ou du miel contaminé (BAILEY, 1968). Les insectes parasites comme la fausse teigne *Galleria melonella* peuvent également transmettre les spores (FRIES, 1988).

#### 1.2.1.2.3. - Causes favorisantes

Les causes qui favorisent le développement de cette pathologie sont liées essentiellement durant les hivers longs au confinement prolongé de l'abeille à l'intérieur de la ruche (BAILEY, 1981). D'autres facteurs peuvent contribuer aussi au développement de la maladie comme l'installation inadéquate de colonies dans des zones humides déposées directement sur le sol. Selon une étude faite en Afrique du Sud (SWART, 2003), la plus forte incidence de la maladie apparaît dans les zones forestières à cause du manque de lumière directe du soleil sur les colonies placées dans ces milieux boisés, ce qui pourrait nuire à la bonne régulation de la chaleur et de l'humidité à l'intérieur des nids et étouffer les colonies. Un mauvais nourrissage artificiel donné aux abeilles favorise également l'apparition de la pathologie (KLEINSCHMIDT et KANDOS, 1976).

#### 1.2.1.2.4. - Symptômes

Les abeilles fortement infectées ne peuvent digérer convenablement leur nourriture puisque les cellules épithéliales de l'intestin ont été endommagées par *Nosema*. Il en résulte une forme de diarrhée chez l'abeille, qui peut alors déféquer dans la ruche ou sur le plateau d'envol (BAILEY, 1954). On observera alors une souillure plus ou moins importante de la ruche. Ces souillures renferment des millions de spores qui deviennent une source de contamination pour les abeilles affairées au nettoyage (BAILEY, 1955) (Fig. 8). Cette pathologie provoque un affaiblissement des colonies et une augmentation du nombre de butineuses: la colonie meurt avec de fortes provisions de miel et de pollen.

La nosérose provoque également une modification de la partie postérieure de l'abdomen (BAILEY, 1968). Chez les abeilles malades, il est blanchâtre, dilaté et ne présente pas de constriction habituelle, alors que chez les abeilles saines, il est de teinte jaune à rougeâtre et marqué de constriction. L'infection provoquée par *Nosema cerana* est différente de celle induite par *Nosema apis*. *Nosema cerana* perturbe les abeilles de plusieurs façons : stress énergétique, diminution de la durée de vie (FRIES, 2010; MAYACK et NUAG, 2010) et de la capacité de vol (KRALJ et FUCHS, 2010), perturbation du comportement de butinage (DUSSAUBAT *et al.*, 2010 ; HIGES *et al.*, 2010).

#### 1.2.1.2.5. Prévention

En prévention, on doit viser à créer des conditions optimales pour un solide développement de la colonie tout au long de la saison. Dans les cas d'hivernage, on doit faire une sélection minutieuse des sites d'hivernage. Alors qu'en saison de production, les sites de ruchers doivent être secs et ensoleillés. La désinfection du matériel apicole sera une mesure efficace pour détruire les spores de *Nosema* et diminuer le développement des microorganismes en général (VAILLANT, 1989).

#### 1.2.1.2.6. - Traitements

Le seul traitement qui existe est l'antibiotique fumidil (fumagiline), cet antibiotique est mélangé avec le sirop de sucre et distribué à la colonie. Les expériences de laboratoire effectuées au Belgique suggèrent que la nourriture acidifiée entraîne la baisse du développement de *Nosema apis* dans l'intestin (MOTTOUL, 1996).

### **1.2.2.- Maladies typiques du couvain**

#### **1.2.2.1. - Loque américaine**

En 1769, le naturaliste SCHIRACH, attribua différentes origines à la loque américaine : mauvaise ponte de la reine, mauvaise position de la larve. C'est en 1885 que fut soupçonnée par CHESHIRE et CHEYNE la nature bactérienne de l'agent de la loque américaine (FAUCON, 1992).

Vers 1903, WHITE a remarqué la présence d'une bactérie associée à une maladie qui affectait le couvain d'abeilles et a nommé la bactérie, *Bacillus larvae*. La maladie a été nommée loque américaine, parce que les premières investigations ont été faites dans l'Etat de New York (HEYNDRICK *et al.*, 1996). Ensuite la bactérie a été classifiée sous le nom de *Paenibacillus larvae ssp larvae* (ASHIRALIEVA et GENERSCH, 2006).

#### 1.2.2.1.1. - Agent causal

La bactérie *Paenibacillus larvae subsp. Larvae* est un bacille gram positif, de la forme d'un bâtonnet droit ou légèrement incurvé de 1,5 à 6 µm de long et environ 0,5 µm de large. (ALIPPI *et al.*, 2004). Le bacille est mobile grâce à la présence de trente à trente-cinq cils vibratiles. Cette forme végétative peut se transformer en forme de résistance, la spore qui est fusiforme dépourvue de cils et qui ne fait plus que 1,1 à 1,9 µm de long pour 0,4 à 0,7 µm de large (GENERSCH *et al.*, 2005). Seule cette spore présente un pouvoir pathogène, et elle peut rester virulente de nombreuses années dans l'environnement. Elle est très stable aux températures extrêmes et résistante aux agents chimiques (HEYNDRICK *et al.*, 1996).

#### 1.2.2.1.2. - Pathogénie

Les spores ingérées arrivent au niveau du tube digestif d'une larve d'abeille et germent dans l'intestin après 12 heures (YUE *et al.*, 2008). Après la destruction des tissus, la bactérie franchit la barrière intestinale et se multiplie dans l'hémolymphe provoquant une septicémie et la mort de la larve. Les larves sont les plus vulnérables à l'infection au cours des premiers stades larvaires, c'est-à-dire 12-36 h après l'éclosion des œufs (BRODSGAARD *et al.*, 2000; GENERSCH *et al.*, 2005). Les abeilles adultes ne sont pas infectées lors de l'ingestion de spores de la bactérie (WILSON, 1971).

#### 1.2.2.1.3. - Symptômes :

Les symptômes de la maladie s'observent sur le couvain operculé dont les opercules sont affaiblis et percés. Les larves mortes qu'il contient sont filantes ou desséchées sous forme d'écailles et il se dégage une forte odeur d'ammoniac.

Lors de l'examen d'un cadre de couvain, on constate que l'operculation du cadre n'est pas homogène et qu'il ya de nombreuses cellules désoperculées avec une répartition irrégulière. Dans les cellules désoperculées on trouve des larves à plusieurs stades. C'est un couvain en mosaïque (FERNANDEZ et COINEAU, 2007). FAUCON (1992) rapporte la présence à l'intérieur des cellules du couvain des écailles de couleur brun foncé à noir en forme de languette plate. Les larves et nymphes infectées par la loque américaine se dénaturent et, avec les bactéries, forment un produit élastique qui s'étire lorsqu'on introduit un petit cure-dents dans l'alvéole affecté (PROST et LE CONTE, 2005).

#### 1.2.2.1.4. - Propagation

La propagation de la maladie se fait par les abeilles, en particulier les nourrices, qui sont en contact avec les larves malades ou mortes et qui véhiculent ainsi les spores d'une larve à l'autre. Le tableau 2 résume les modes de transmission de la bactérie *Paenibacillus larvae* à l'intérieur de la colonie et entre colonies (LINDSTROM *et al.*, 2008)

**Tableau 2** - Mode de transmission de *Paenibacillus larvae* à l'intérieur de la colonie et entre colonies (LINDSTROM *et al.*, 2008).

|                                    | <b>Horizontal</b>                                                                                                                                      | <b>Vertical</b>                                                                                                                                                       |
|------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>A l'intérieur de la colonie</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- De l'ouvrière au couvain, à l'ouvrière ou au mâle</li> <li>- Du mâle à l'ouvrière ou au mâle</li> </ul>       | <ul style="list-style-type: none"> <li>- De la reine à la fille (ouvrière)</li> <li>- De la reine à la fille (reine)</li> <li>- De la reine au fils (mâle)</li> </ul> |
| <b>Entre colonies</b>              | <ul style="list-style-type: none"> <li>- De l'ouvrière à l'ouvrière ou au mâle</li> <li>- De mâle à l'ouvrière ou au mâle (dérive, pillage)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Essaimage</li> </ul>                                                                                                         |

#### 1.2.2.1.5. - Techniques de diagnostic :

Les techniques incluent la caractérisation microbiologique, biochimique et l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) (HAYNES, 1972 ; NEUENDORF *et al.*, 2004). Le diagnostic de la loque américaine est basé uniquement sur l'identification de l'agent pathogène. Des méthodes d'identification nécessitent une étape préalable de culture, tandis que d'autres peuvent être réalisées directement sur les prélèvements (MURRAY et ARONSTEIN, 2008).

#### 1.2.2.1.6. - Mesures préventives

Pour protéger son rucher de cette pathologie, l'apiculteur doit éviter la contamination due à des ruchers déjà infectés et il doit également sélectionner des colonies à forte vitalité. Le maintien d'un niveau d'hygiène élevé dans la conduite du rucher constitue aussi une mesure de prévention très importante. La résistance vis-à-vis de la loque américaine est héréditaire et répond à une sélection artificielle des abeilles avec un comportement hygiénique intense. Le comportement hygiénique est défini selon SPIVAK et REUTER (2001) comme étant la capacité des abeilles à reconnaître, désoperculer et éliminer les larves ou nymphes mortes ou malades.

#### 1.2.2.1.7. - Traitements

Le traitement de cette maladie dépend de son stade de développement dans la colonie. Une colonie très infestée sera obligatoirement détruite par le feu. Une colonie contenant quelques cellules loqueuses pourra être traitée par un antibiotique. La présence de spores nécessitera de transvaser les abeilles dans une autre ruche saine, de les traiter aux antibiotiques et de brûler les cadres de la ruche malade. Il faut procéder aussi à une désinfection minutieuse de tous les objets qui ont été en contact avec les produits de la ruche loqueuse. Les antibiotiques arrêtent la croissance des bactéries ou même les détruisent à condition d'agir pendant la vie active de ces bactéries, mais les antibiotiques restent sans effet sur les spores. Plusieurs antibiotiques peuvent être utilisés dans la lutte contre la loque américaine comme streptomycine, terramycine et tétracycline.

Cependant depuis plusieurs années, des souches de *Paenibacillus larvae* résistantes à ces antibiotiques sont apparues dans de nombreuses régions du monde (MIYAGI *et al.*, 1999; ALIPPI, 2000; MUSSEN, 2000; EVANS, 2003) . L'utilisation incontrôlée des antibiotiques présente un risque sur les produits de la ruche a travers la présence des résidus (LODESANI et COSTA, 2005; MARTEL *et al.*, 2006)

### **1.2.2.2. - Loque européenne**

#### 1.2.2.2.1. - Agent causal

La loque européenne est une maladie infectieuse et contagieuse du couvain d'abeille moins dangereuse que la loque américaine (ALIPPI, 1999). L'agent causal principal est une bactérie : *Melissococcus pluton*. D'autres germes se développent secondairement (*Lactobacillus eurydice*, *Paenibacillus alvei*, *Paenibacillus apiarius*, *Enterococcus faecalis*) (BAILEY, 1963; BAILEY et COLLINS, 1982; ALIPPI, 1991).

#### 1.2.2.2.2.- Pathogénie :

Les trois castes d'abeilles sont atteintes par la maladie. *Melissococcus pluton* affecte le couvain, principalement avant l'operculation. Les formes encapsulées de cette bactérie sont ingérées par les jeunes larves avec la nourriture. Elles se développent dans l'intestin moyen sous leur forme végétative et s'y multiplient en masse. Les germes secondaires pénètrent dans la larve et la détruisent. Les larves âgées de plus de 2 jours sont difficilement contaminables et les abeilles adultes sont résistantes (BAILEY et BALL, 1991). Le degré de mortalité des larves mesuré dans une expérience est directement lié à la quantité de bactéries présentes dans les alvéoles. Les larves sont moins résistantes lorsque le nombre de bactéries est très important (MCKLEE *et al.* 2004).

#### 1.2.2.2.3- Biologie et diffusion de la maladie

L'agent pathogène *melissococcus pluton* ne produit pas de spores, mais il peut conserver sa virulence pendant une année. Les abeilles adultes éliminent une partie des larves malades ou mortes, mais quelques larves malades parvenant à survivre vont vider leur intestin et contaminer les cellules (BAILEY, 1985).



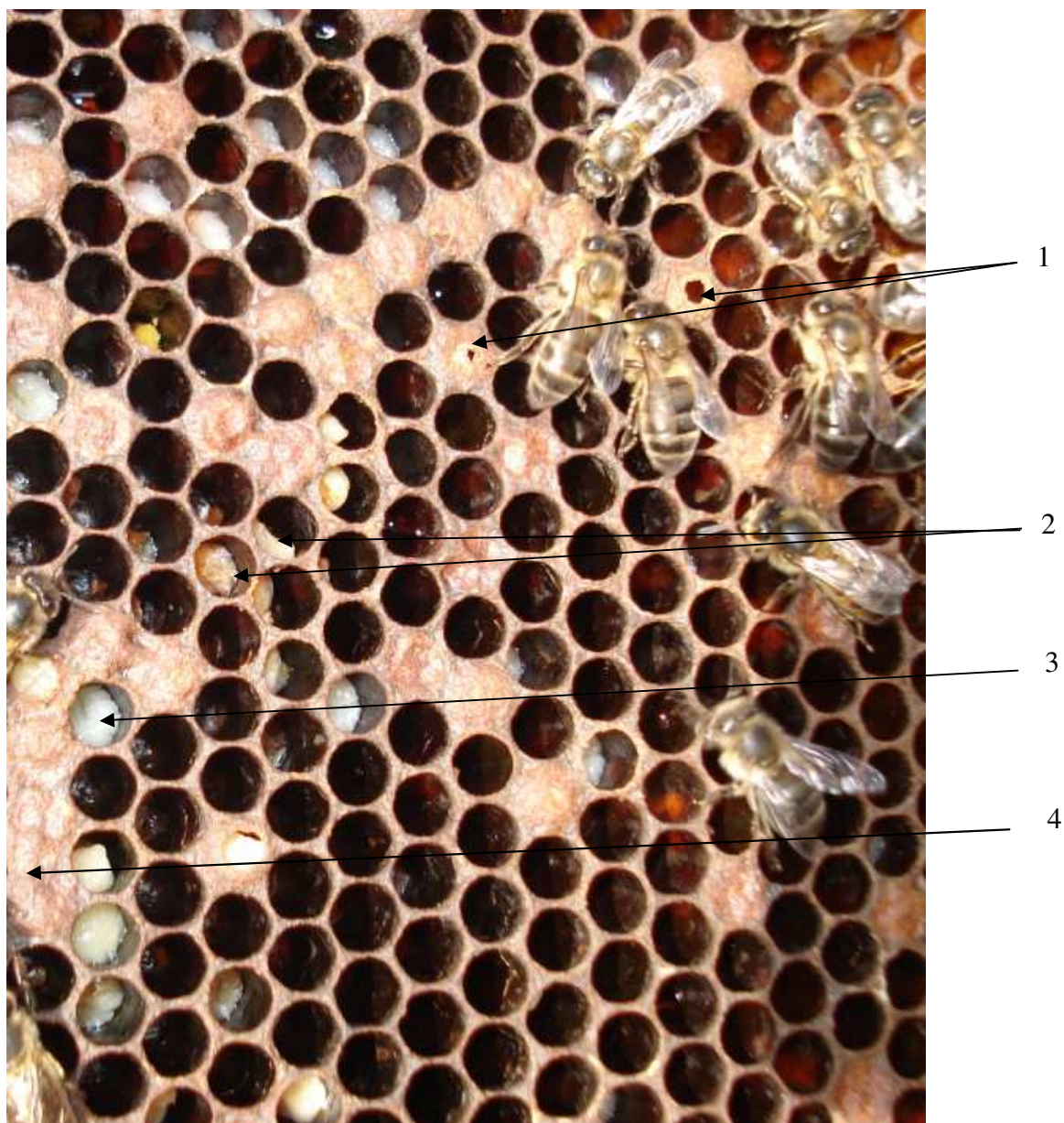
A l'intérieur de la colonie, les abeilles font le nettoyage des cellules, puis quand elles nourrissent les larves, elles peuvent les contaminer. Les abeilles peuvent être contaminées directement par trophallaxie avec des abeilles qui ont été en contact avec l'agent pathogène. Les ruches peuvent être atteinte par la maladie, sans présenter de symptômes clinique et celle-ci peut passer inaperçue aux yeux de l'apiculteur (MORSE et NOWOGRODZKI, 1990). La propagation de la pathologie entre les colonies et entre les ruchers est liée à plusieurs facteurs tels que le pillage, la dérive, le déplacement des colonies infestées et les échanges de cadres de provisions contaminés (FORSGREN *et al.*, 2005).

#### 1.2.2.2.4.- Symptômes

Lors d'une infection, les larves prennent une teinte jaunâtre et tournent sur la paroi inférieure de la cellule, le dos face à l'ouverture. Les larves saines, quant à elles, sont blanches et remplissent toute la cellule. Une odeur acidulée typique émane du couvain malade. Selon l'activité de nettoyage des abeilles, les larves malades sont éliminées du couvain, il s'ensuit ainsi un nid à couvain lacunaire (MCKEE *et al.*, 2003). Les larves d'abeilles atteintes de loque européenne meurent 1 ou 2 jours avant l'operculation des cellules, parfois juste après, mais toujours avant la métamorphose en chrysalide (BAILEY, 1960) (Fig. 9).

#### 1.2.2.2.5- Réceptivité et causes favorisantes

Les bactéries se multiplient durant la période de production de couvain causant les symptômes cliniques. L'apparition de la maladie est favorisée essentiellement par une carence alimentaire en pollen et le mauvais temps qui peut être à l'origine de cette carence. Une colonie affaiblie par *Varroa* ou une autre cause est très sensible également au développement de la pathologie (DELAPLANE, 1998)



20 mm

**Figure 9** - Symptômes de la loque européenne sur un cadre du couvain (Original).

- 1 - Opercules troués par les abeilles nettoyeuses qui cherchent à éliminer les larves atteintes
- 2- Des larves avec une teinte jaunâtre
- 3 – Une larve saine
- 4 – Un couvain operculé

#### 1.2.2.2.6.- Prévention et traitement

Les mesures relatives à l'assainissement et à la prévention du rucher sont les mêmes que pour la loque américaine. Le traitement chimique s'effectue avec des antibiotiques tels que tylosine, terramycine et oxytétracycline (HITCHCOK *et al.*, 1970 ; THOMPSON et BROWN, 2001 ; RUTH *et al.*, 2003 ; WAITE *et al.*, 2003). Ces dernières sont actuellement interdites depuis des années dans les pays européens. La destruction de la colonie, le nettoyage du matériel et des cadres sont obligatoires pour les apiculteurs (BELLOY *et al.*, 2007)

#### 1.2.2.3.- Le couvain plâtré ou Ascospherose

##### 1.2.2.3.1.- Agent causal

L'ascospherose est une maladie du couvain provoquée par un champignon, *Ascospheera apis* (SPILTOIR, 1955). Elle est appelée aussi couvain calcifié, couvain dur ou mycose. Toutes les castes de la colonie peuvent être atteintes (BAMFORD et HEATH, 1989).

##### 1.2.2.3.2.- Infection et multiplication

Les spores du champignon sont ingérées par les larves âgées de 3 à 4 jours avec la nourriture. Une fois parvenues dans l'intestin, elles germent et produisent un mycélium qui grandit et finit par transpercer les larves. Si à la surface du corps des mycéliums mâles et femelles se rencontrent, il se forme un corps de fructification noir contenant de nouvelles spores qui constitue la forme de résistance (GUILLIFORD, 1994). Les larves infestées de champignons que l'on appelle aussi momies, deviennent foncées et sont contagieuses (BAILEY, 1967).

##### 1.2.2.3.3.- Transmission et causes favorisantes de la maladie

La propagation se fait par les spores de ce champignon avec deux voies de contamination. La voie buccale est la plus fréquente, elle se fait par ingestion de la nourriture souillée. Cependant, il y a également la voie transcutanée qui affecte au début

l'intestin moyen des abeilles et finit par envahir l'organisme entier (HEATH, 1985). La diffusion de l'ascospherose entre les colonies se fait lors de pillage, de dérive et lors des manipulations apicoles. L'apparition de cette pathologie est favorisée par une chute brutale de la température et par des conditions d'humidité élevée (PEDERSON, 1976; HEARTH, 1982). KOENIG *et al* (1986) ont montré le refroidissement du couvain est une des causes favorisant l'apparition de la maladie. Selon ces mêmes auteurs, le développement rapide de la colonie au printemps, c'est à dire l'augmentation du ratio couvain-abeille adulte constitue un risque pour le refroidissement du couvain.

#### 1.2.2.3.4.- Symptômes

Parmi les symptômes typiques de la pathologie, on observe devant la ruche ou sur la planche d'envol des larves momifiées, dures et blanches (THURBER, 1979). Concernant le couvain, il apparaît clairsemé, "mosaïque" et non compact avec une répartition aléatoire des larves d'âges différents. La pathologie provoque également la formation autour des larves d'un amas cotonneux de filaments mycéliens blancs qui occupent l'alvéole (THORSTENSEN, 1976)

#### 1.2.2.3.5.- Prévention et traitement :

Il n'y a aucun traitement pour lutter contre la maladie. Dans le cas d'une infestation légère, l'apiculteur doit remplacer la reine et introduire de préférence des reines sélectionnées sur la base du comportement de nettoyage et enlever également les rayons fortement infestés (TABER, 1986). Dans le cas d'une forte infestation, il faut former un essaim artificiel et le mettre dans une ruchette contenant des nouveaux cadres (STACE, 1994).

### **1.2.3. - Maladies communes au couvain et aux abeilles adultes**

#### **1.2.3.1. - Varroase**

La varroose est une parasitose de l'abeille adulte et de son couvain, due à un acarien parasite externe hématophage, *Varroa destructor* ANDERSON et TRUEMAN, 2000 (Fig. 10). *Varroa* est responsable d'une épizootie chez *Apis mellifera* depuis son transfert de l'abeille asiatique, *Apis cerana*, son hôte original (COLIN, 1999).

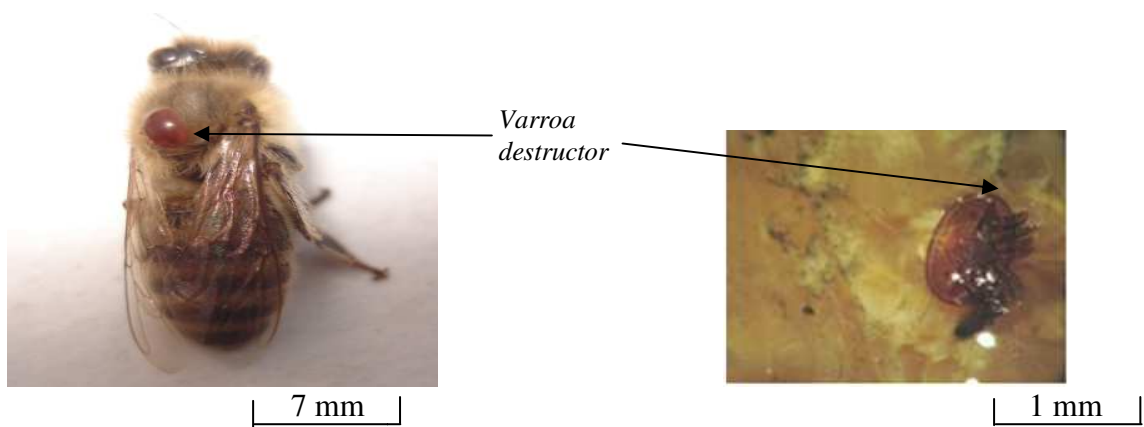


Figure 10- Acarien parasite *Varroa destructor* de l'abeille mellifère (Original).

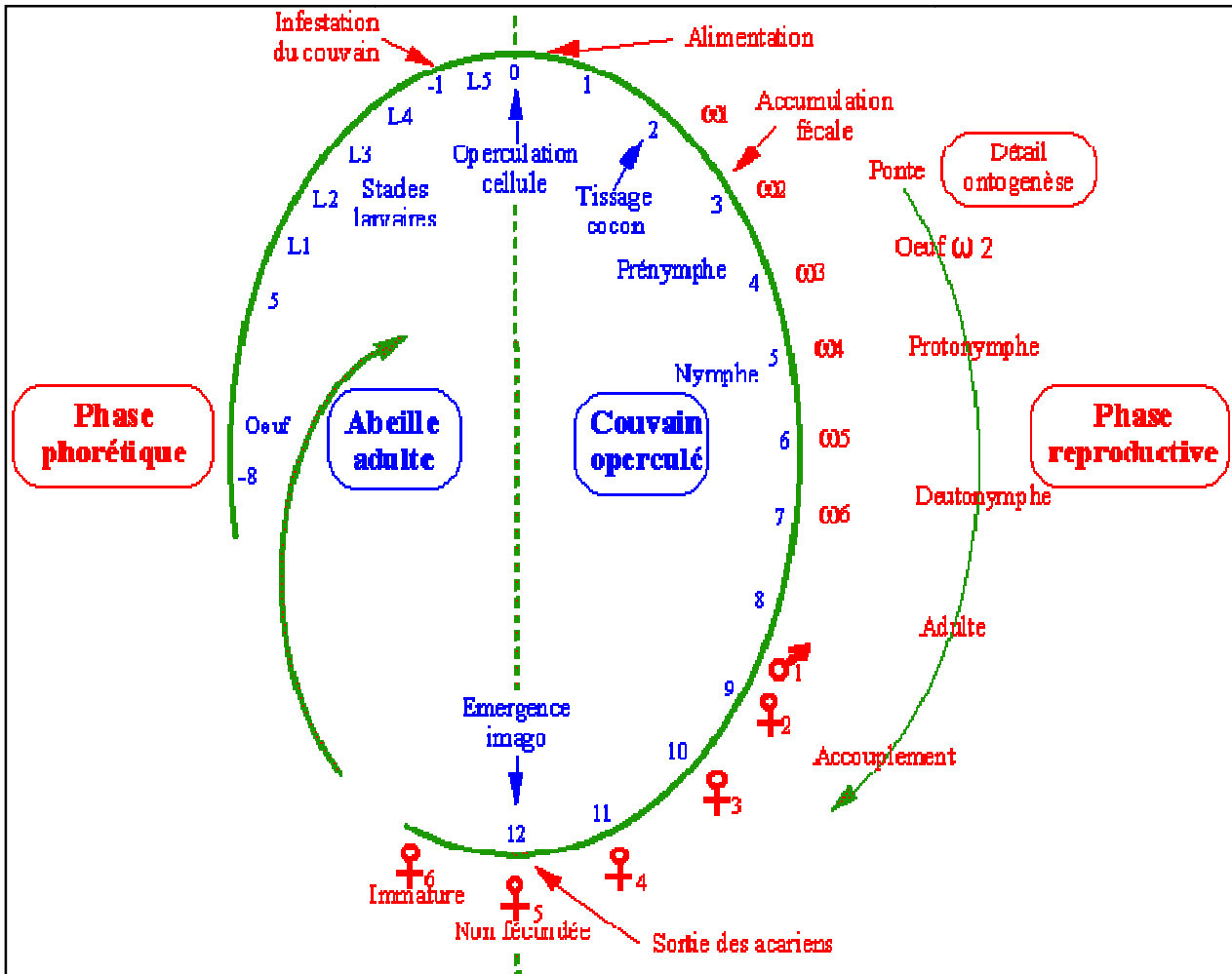


Figure 11 - Cycle de vie de *Varroa destructor* (VANDAME, 1996)

Il a été découvert par JACOBSON en Indonésie (1904) sur l'abeille *Apis cerana*. Présent sur cette abeille depuis fort longtemps, un équilibre hôte-parasite est établi (FAUCON, 1992). C'était aux environs de 1960 que le *varroa* a été mis en évidence sur *Apis mellifera*. Son rôle pathogène fut ignoré alors que la parasitose s'est propagée avec une extrême rapidité dès 1964 dans le monde entier ne laissant à ce jour aucune zone indemne et entraînant la mort d'un nombre considérable de colonies.

#### 1.2.3.1.1.- Biologie de l'acarien

*Varroa destructor* présente un dimorphisme sexuel remarquable (MARTIN, 2003). La femelle, de couleur rouge brune, a une forme elliptique. Elle mesure en moyenne 1,1 mm de long et 1,7 mm de large (BOECKING et GENERSCH, 2008). Le mâle *Varroa* se différencie de la femelle par sa petite taille, sa couleur blanche, son corps globuleux et ses pattes tendues vers l'avant. Il n'existe que dans les alvéoles au moment de la reproduction, pour cela, ses chélicères sont modifiés pour injecter les spermatophores (ROSENKRANZ *et al.*, 2009).

#### 1.2.3.1.2.- Reproduction et cycle de vie

Le cycle de vie du *Varroa* est strictement lié à celui de l'abeille. Il présente deux phases : phorétique sur l'abeille adulte, et reproductrice dans les cellules du couvain operculé des mâles et des ouvrières (FRIES, 2005). La phase de reproduction du *Varroa* dure de l'operculation à l'émergence de l'abeille. La femelle *Varroa* dite fondatrice pénètre dans une cellule du couvain quelques heures avant l'operculation et s'immerge dans la nourriture larvaire (IFANTIDIS, 1988). Après l'operculation, elle perfore les téguments de la nymphe créant un site de nourrissage, stimule son ovogenèse et commence sa ponte. Le premier œuf, haploïde, donnera un mâle, les autres diploïdes donneront des femelles en passant par les stades suivants : œuf, larve, protonymphe et deutonymphe (Fig. 11). L'accouplement se déroule dans l'alvéole, dans la zone d'accumulation fécale. Lorsque l'abeille adulte émerge, la femelle fondatrice et les femelles filles matures sortent de l'alvéole alors que le mâle meurt avec les immatures (FAUCON, 2003). La phase de phorésie correspond à la période comprise entre la sortie du *Varroa* de la cellule et de son entrée dans une autre cellule (MARTIN, 2003).

La durée du cycle évolutif est de 7 à 8 jours chez les femelles, et de 6 à 7 jours pour les mâles. Les femelles peuvent présenter quatre à cinq cycles dans leur vie (DE VAUBLANC, 2004).

#### 1.2.3.1.3.- Symptômes

Les symptômes cliniques de la varroase englobent des troubles du couvain et des abeilles (CHARRIERE *et al.*, 2012). La présence d'un couvain irrégulier ou lacunaire avec des nymphes mortes atrophiées sous l'opercule est l'une des principaux signes de la pathologie. Sur les abeilles adultes, les symptômes sont liés surtout à la présence des ouvrières avec des ailes déformées, des abeilles trainantes et mortes (Fig. 12 et 13).

#### 1.2.3.1.4.- Facteurs de propagation

La varroase se propage par plusieurs voies, d'une abeille à abeille, d'une ruche à ruche, et même d'un rucher à un autre. Cela est dû à plusieurs facteurs, soit naturels par la dérive des butineuses, l'essaimage et le pillage ou apicoles par la transhumance et les échanges entre les apiculteurs. (ANDERSON, 1988)

#### 1.2.3.1.5.- Actions pathologiques

Le parasitisme de *Varroa destructor* agit sur les abeilles adultes et sur le couvain selon trois actions : spoliatrice, mécanique et vectrice.

##### 1.2.3.1.5.1.- Action spoliatrice

Les prises répétées d'hémolymphe par *Varroa* conduisent à une diminution de son volume total mais également de son taux de protéines, ce qui compromet le développement de la nymphe (BOWEN-WALKER *et al.*, 1999). La baisse des protéines totales fluctue entre 10 et 50 % chez les nymphes parasitées (DANDEU *et al.*, 1991). Les travaux de YANG et COX-FOSTER (2005) montrent clairement que le *Varroa* affaiblit le système immunitaire de l'abeille et la rend plus sensible aux infestations virales et bactériennes.



**Figure 12-** Des abeilles mortes avec des ailes déformées (Original)

10 mm



3 mm

**Figure 13-** Une abeille noire avec des ailes écartées et déformées (Original)



#### 1.2.3.1.5.2. Action mécanique

La présence du parasite chez l'abeille adulte altère son comportement au détriment de ses tâches habituelles (FAUCON, 2003). Le parasitisme entraîne des malformations et une faiblesse de la jeune ouvrière. Une forte infestation provoque la mort de nymphes avant l'émergence et la naissance d'abeilles mutilées. (BOECKING et GENERSCH, 2008). *Varroa* provoque également une baisse de poids d'environ 30% et une diminution de l'espérance de vie (BOWEN- WALKER et GUN, 2001). Selon les travaux de SCHNEIDER et DRESCHER (1987), le taux de survie des abeilles adultes au-delà de 25 jours, dans des conditions de laboratoire, est d'environ 50 % si les abeilles sont issues de larves saines, mais il est réduit à 25 % si les larves sont contaminées par trois *Varroa*. DE JONG *et al.* (1982) signalent que 6 % des abeilles naissantes parasitées présentent un raccourcissement de l'abdomen et des déformations localisées surtout au niveau des ailes. Au niveau des organes internes, une réduction de 10 % de la taille des acini des glandes hypopharyngiennes est observée chez les abeilles nées parasitées (SCHNEIDER et DRESCHER, 1987).

#### 1.2.3.1.5.3. Action vectrice :

Le rôle de l'acarien dans la transmission et la pathogénie de certains virus semble double. D'une part, *Varroa* par son rôle de vecteur injecte les virus qu'il porte directement dans l'hémolymphe de l'abeille. D'autre part, un rôle d'activateur à travers la morsure de *varroa* permet l'activation de certains virus, présents à l'état latent dans l'hémolymphe de l'abeille (TENTCHEVA *et al.* 2004). Les différents facteurs se combinent et accroissent leurs effets délétères. L'abeille, une fois parasitée par un acarien et infestée par un virus, pourrait en effet être plus sensible aux effets toxiques des pesticides présents dans l'environnement.

#### 1.2.3.1.6.- Traitement de la varroase

La lutte contre la varroase vise à maintenir l'infestation en dessous du seuil dommageable. Les apiculteurs disposent de plusieurs moyens de luttés chimiques, biotechniques et naturelles.

Le phénomène de résistance vis-à-vis de plusieurs molécules chimiques a été signalé par plusieurs auteurs (LODESANI *et al.*, 1995; VANDAME *et al.*, 1995 ; LONDZIN et SLEDZINKY, 1996 ; ELZEN *et al.*, 1988 ; MOZES *et al.* 2000 ; MILANI et DELLA VEDOVA, 2002; GARCIA-SALINAS *et al.*, 2006). Ce qui a obligé les apiculteurs à s'orienter vers la lutte naturelle basée essentiellement l'utilisation de l'acide oxalique, formique et le thymol. Néanmoins, le contrôle des chutes des varroas sur le lange est important et permet de déterminer la période et le mode du traitement.

### **1.2.3.2.- Les virus**

#### 1.2.3.2.1.- Description des agents causaux

Les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires. Ils utilisent la machinerie cellulaire de l'hôte infesté pour se répliquer et causent de ce fait des dommages. Ils sont composés uniquement d'acides nucléiques entourés par une capsidie protéique. Chez l'abeille, environ 18 virus sont connus jusqu'à présent. A l'exception du virus filamenteux (FV, *filamentous virus*) qui est considéré comme un virus à génome ADN, tous les virus de l'abeille domestique identifiés à ce jour sont des petits virus à ARN simple brin positif et à capsidie non enveloppée. Les virus de l'abeille appartiennent à la famille des Dicistroviridae (OLIVIER et RIBIERE, 2006). Ils sont ronds et mesurent de 15 à 30 nm de diamètre (DAINAT *et al.*, 2008).

#### 1.2.3.2.2.- Transmission

La transmission horizontale entre individus d'une même génération peut être directe ou indirecte. Celle directe peut par exemple survenir par contact cutané. Les abeilles peuvent transmettre le virus de la paralysie chronique (CBPV) par contact, notamment au niveau de blessures (BLANCHARD *et al.*, (2007). La contamination est dite indirecte lorsqu'elle se fait via un intermédiaire. Les particules virales excrétées via les excréments d'abeilles touchées par le CBPV peuvent contaminer les individus en contact avec celles-ci (RIBIERE *et al.*, 2000). La transmission des virus peut être également verticale. Une reine contaminée avec un virus mis en évidence dans les ovaires et la spermathèque peut pondre des œufs infestés (CHEN *et al.*, 2006).

#### 1.2.3.2.3.- Principaux virus de l'abeille

L'infection des abeilles par les virus est souvent latente et ne présente souvent pas de pathogénie ou de symptômes (CHEN *et al.*, 2006). Ceux présentés ci-dessous sont les plus connus et qui provoquent des problèmes aux colonies (Tab.3).

##### 1.2.3.2.3.1. - Virus des ailes déformés (DWV)

Le DWV (Deformed Wing Virus) a été initialement isolé à partir des abeilles adultes au Japon sur des colonies infestées par *Varroa destructor* (BALL, 1985). Il a ensuite été identifié comme une cause de la mortalité des colonies abeilles dans de nombreux pays (BALL, 1985; BALL, 1987; BAILEY et BALL, 1991). C'est le virus le plus prévalent et le plus dangereux actuellement (KAJOBÉ *et al.*, 2010 ; MOCKEL *et al.*, 2011 ; HONGXIA *et al.*, 2012). Le nom donné au virus provient du symptôme caractéristique des ailes déformées ou peu développées dans les abeilles nouvellement écloses à partir de colonies infectées (BALL, 1993). Le virus des ailes déformées touche les œufs, larves, nymphes et abeilles adultes (ALLEN et BALL, 1996). Ce même virus peut être détecté dans toutes les parties du corps de l'abeille (CHEN *et al.*, 2004; YUE et GENERSCH, 2005). Les nourrices infectées transmettent le virus aux jeunes larves par le biais de la gelée larvaire (BALL, 1987). Les abeilles adultes se transmettent le virus lors de la trophallaxie (BOWEN-WALKER *et al.*, 1999 ; NORSTROM *et al.*, 1999)

##### 1.2.3.2.3.2. – Virus de la paralysie aiguë des abeilles (ABPV)

L'ABPV (Acute Bee Paralysis Virus) a été découvert au cours de travaux de laboratoire sur l'identification de l'agent causal de la maladie virale CBPV (BAILEY *et al.*, 1963). Avant la propagation de l'acarien *Varroa destructor*, ce virus n'a été jamais associé à une mortalité ou une maladie au niveau de la colonie (BAILEY et GIBBS, 1964 ; BAILEY *et al.*, 1981). Il a été détecté dans le cerveau (BAILEY et MILNER, 1969), dans les tissus et les glandes salivaires des abeilles (BAILEY, 1965). En Europe, de grandes quantités de virus ont été détectés sur des abeilles adultes et du couvain des colonies mortes fortement infestées par *Varroa destructor* (BALL, 1985; CARPANA *et al.*, 1990; FAUCON *et al.*, 1992).

**Tableau 3-** Les 11 principaux virus de l'abeille : l'historique de leur découverte, les particularités démontrées en infection expérimentale, leur association avec d'autres agents pathogènes ainsi que l'impact supposé ou démontré de la virose sur la santé des colonies et les symptômes décrits sur les ruchers (OLIVIER et RIBIERE, 2006)

| Virus                                                                       | Découverte                                                                           | Infection expérimentale                                     | Conséquence de la virose et symptômes                                                                                                                             |
|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Virus de la paralysie aiguë (ABPV, <i>acute bee paralysis virus</i> )       | Lors d'études sur le CBPV (1963).                                                    | Symptômes de paralysie précoce, mortalités rapides          | Participe aux affaiblissements, associé à <i>V. destructor</i> en entraînant des mortalités d'ouvrières et de couvain                                             |
| Virus de la cellule royale noire (BQCV, <i>black queen cell virus</i> )     | À partir de larves de reines dans des alvéoles à parois noires (1977).               | Dépendant de <i>N. apis</i> pour l'infection des adultes.   | Participerait à des mortalités d'ouvrières, associé à <i>N. apis</i> . Entraînerait des mortalités de larves de reines                                            |
| Virus X de l'abeille (BVX, <i>bee virus X</i> )                             | Lors de l'étude d'autres virus (1974).                                               | Pas de symptôme, raccourcirait la durée de vie des adultes  | Participerait à des mortalités d'ouvrières, associé à <i>M. mellificae</i> ,                                                                                      |
| Virus Y de l'abeille (BVY, <i>bee virus Y</i> )                             | À partir d'abeilles mortes en Angleterre (1980).                                     | Dépendant de <i>N. apis</i> pour l'infection des adultes    | Participerait à des mortalités d'ouvrières, associé à <i>N. apis</i> ,                                                                                            |
| Virus de la paralysie chronique (CBPV, <i>chronic bee paralysis virus</i> ) | Maladie connue depuis l'antiquité (Aristote) : maladie noire ou paralysie chronique. | Symptômes paralytiques plusieurs jours avant la mort.       | Entraîne des mortalités, parfois importantes, d'ouvrières dépilées et noires avec des symptômes de tremblements.                                                  |
| Virus des ailes nuageuses (CWV, <i>cloudy wing virus</i> )                  | À partir d'abeilles aux ailes opaques (1980).                                        | Pas de symptôme précis, études sujettes à controverse.      | Conséquences mal connues. La dissémination du virus serait associée à <i>V. destructor</i> , ns.                                                                  |
| Virus des ailes déformées (DWV, <i>deformed wing virus</i> )                | À partir d'abeilles provenant du Japon (1983).                                       | Déformations des ailes et du corps des abeilles naissantes. | Participe aux affaiblissements, associé à <i>V. destructor</i> <sup>b,c</sup> en entraînant des mortalités d'ouvrières et des déformations d'abeilles naissantes. |
| Virus filamenteux (FV, <i>filamentous virus</i> )                           | À partir d'hémolymphe d'abeilles aux USA (1977).                                     | Pas de symptôme, ni mortalité.                              | Conséquences mal connues. Virus considéré comme commun mais non pathogène                                                                                         |
| Virus du Cachemire (KBV, <i>Kashmir bee virus</i> )                         | À partir d'abeilles <i>Apis cerana</i> provenant du Cachemire (1974).                | Mortalités très rapides sans symptôme.                      | Participerait aux affaiblissements associé à <i>V. destructor</i>                                                                                                 |
| Virus du couvain sacciforme (SBV, <i>sacbrood virus</i> )                   | 1er virus identifié comme responsable d'une maladie : le couvain sacciforme (1917).  | Mortalités de larve en forme de sac.                        | entraînant des affaiblissements de colonies.                                                                                                                      |
| Virus de la paralysie lente (SBPV, <i>slow bee paralysis virus</i> )        | Lors de l'étude du BVX (1974).                                                       | Symptômes de paralysie tardive, suivi de mortalités         | Participerait à des mortalités d'ouvrières associé à <i>V. destructor</i>                                                                                         |

Des expériences en laboratoire ont démontré que des acariens adultes *Varroa destructor* pourraient agir en tant que vecteurs du virus (WIEGERS, 1986). Des séquences virales ont été détectées dans le sperme prélevé à partir de faux-bourçons indiquant que le virus ABPV peut être également transmis verticalement (YUE *et al.*, 2006).

#### 1.2.3.2.3.3. - Virus de la cellule noire de la reine (BQCV)

Le BQCV (Black Queen Cell Virus) a été isolé pour la première fois sur une larve d'une reine morte trouvée partiellement décomposée dans une cellule royale sombre avec une couleur noire de la paroi, d'où le nom de ce virus (BAILEY et WOODS, 1977). BQCV est associé avec le parasite *Nosema apis* dans son cycle de développement. Le pic de l'infection par ce virus se situe au printemps et en début de l'été (BAILEY *et al.*, 1983). Ce virus est rarement détecté sur les larves des ouvrières, selon BAILEY *et al.* (1983) le couvain des ouvrières reçoit moins de nourriture que la larve de la reine, donc si il y a une infection virale la quantité ingérée est moins importante que celle ingérée par la reine. Le BQCV peut être transmis verticalement, CHEN *et al.* (2006) ont mis en évidence la présence de ce virus dans l'intestin et les ovaires des reines (CHEN *et al.*, 2006). Sa transmission est largement indépendante de l'acarien *Varroa destructor*. Lors d'une étude menée par TENTCHEVA *et al.* (2004), le BQCV était plus fréquemment détecté chez les abeilles adultes que dans le couvain. Selon toujours les mêmes auteurs, ce virus ne provoque pas de symptômes visibles d'infection chez les abeilles adultes.

#### 1.2.3.2.3.4.- Le couvain sacciforme (SBV)

Le SBV (Sac Brood Virus) est une maladie infectieuse de l'abeille causant des pertes énormes pour la colonie. Les symptômes caractéristiques sont un couvain clairsemé et de larves en forme de petits sacs. C'est la première maladie des abeilles attribuée à un virus, ce dernier a été identifié dans un couvain malade en 1917 par WHITE (BAILEY, 1969). Ensuite ce même virus a été isolé par BAILEY *et al.* (1964). Bien qu'il soit principalement une maladie des larves. Le SBV se multiplie dans les abeilles adultes sans induire de symptômes évidents (BAILEY, 1968). Il se reproduit beaucoup plus dans la tête des abeilles adultes infectées que dans d'autres parties du corps et de grandes quantités de virus ont été détectées dans les glandes nourricières (MUSSEN et FURGALA, 1977). Ce virus se transmet aux jeunes larves par les nourrices avec la gelée larvaire (HITCHCOCK, 1966).

#### 1.2.3.2.3.5.- Virus du Cachemire (KBV)

Le KBV ( Kashmir Bee Virus) a été découvert en 1974 sur l'abeille domestique asiatique *Apis cerana* provenant de la région de Cachemire (BAILEY et WOODS, 1977). Le KBV ne provoque pas de symptômes cliniques caractéristiques (HORNITZKY, 1987). Ce virus peut être détecté sur les abeilles adultes et dans le couvain (BAILEY *et al.*, 1979 ; STOLZ *et al.*, 1995). *Varroa destructor* peut transmettre le virus entre abeilles adultes et entre les nymphes (HUNG et SHIMUNUKI, 1999; HUNG *et al.*, 2000; CHEN *et al.*, 2004). TENTCHEVA *et al.* (2004) ont étudié la prévalence et les variations saisonnières de six virus d'abeilles dans des colonies en bonne santé au niveau de 36 ruchers dans toute la France. Dans l'ensemble, KBV a été le moins fréquemment détecté. Ce même virus a été détecté également sur les acariens *Varroa*. L'impact de l'infection par le virus KBV sur les colonies d'abeilles et son rôle dans la mortalité des colonies infestées par *Varroa* sont encore mal compris.

#### 1.2.3.2.3.6.- Virus de la paralysie chronique (CBPV)

L'agent causal du CBPV (Chronic Bee Paralysis Virus) a été isolé en 1963 par BAILEY *et al.* Les abeilles touchées par ce virus deviennent incapables de voler, tremblantes, rampantes, entassées dans les ruches, aux ailes disloquées avec l'abdomen gonflé (RINDERER et ROTHENBUHLER, 1976 ; BAILEY et BALL, 1991). La voie d'entrée du virus peut être orale ou cutanée (BALL, 2004; CHEN *et al.*, 2006). Le CBPV se transmet facilement entre les abeilles adultes expérimentalement par application à la surface de la cuticule, Le virus envahit le corps des abeilles adultes via le cytoplasme épidermique (BAILEY *et al.*, 1983). L'infection par voie orale moins efficace, peut également contribuer à la diffusion de ce virus via le partage de la nourriture (BAILEY, 1965). Ce virus peut être détecté chez la reine, et dans tous les stades de développement de l'abeille (CHEN *et al.*, 2005).

#### 1.2.3.2.4.- Diagnostic

Lors du diagnostic du virus, il faut tenir compte de la quantité d'agents pathogènes, la multiplication du virus, la sensibilité de l'hôte et le stade de développement de ce dernier. Actuellement, la technique de RT-PCR ou réaction de polymérisation en chaîne pour amplifier le matériel génétique, après action d'une transcriptase inverse pour convertir l'ARN en ADN est la plus utilisée (GAUTHIER *et al.*, 2007 ; RACHEL *et al.*, 2011; HONGXIA *et al.*, 2012). Elle permet non seulement une identification certaine du virus, mais également un dosage du matériel viral (BERTHROUD *et al.*, 2005).

# CHAPITRE II



## **Chapitre II - Situation sanitaire des colonies d'abeilles dans la région médio-septentrionale de l'Algérie**

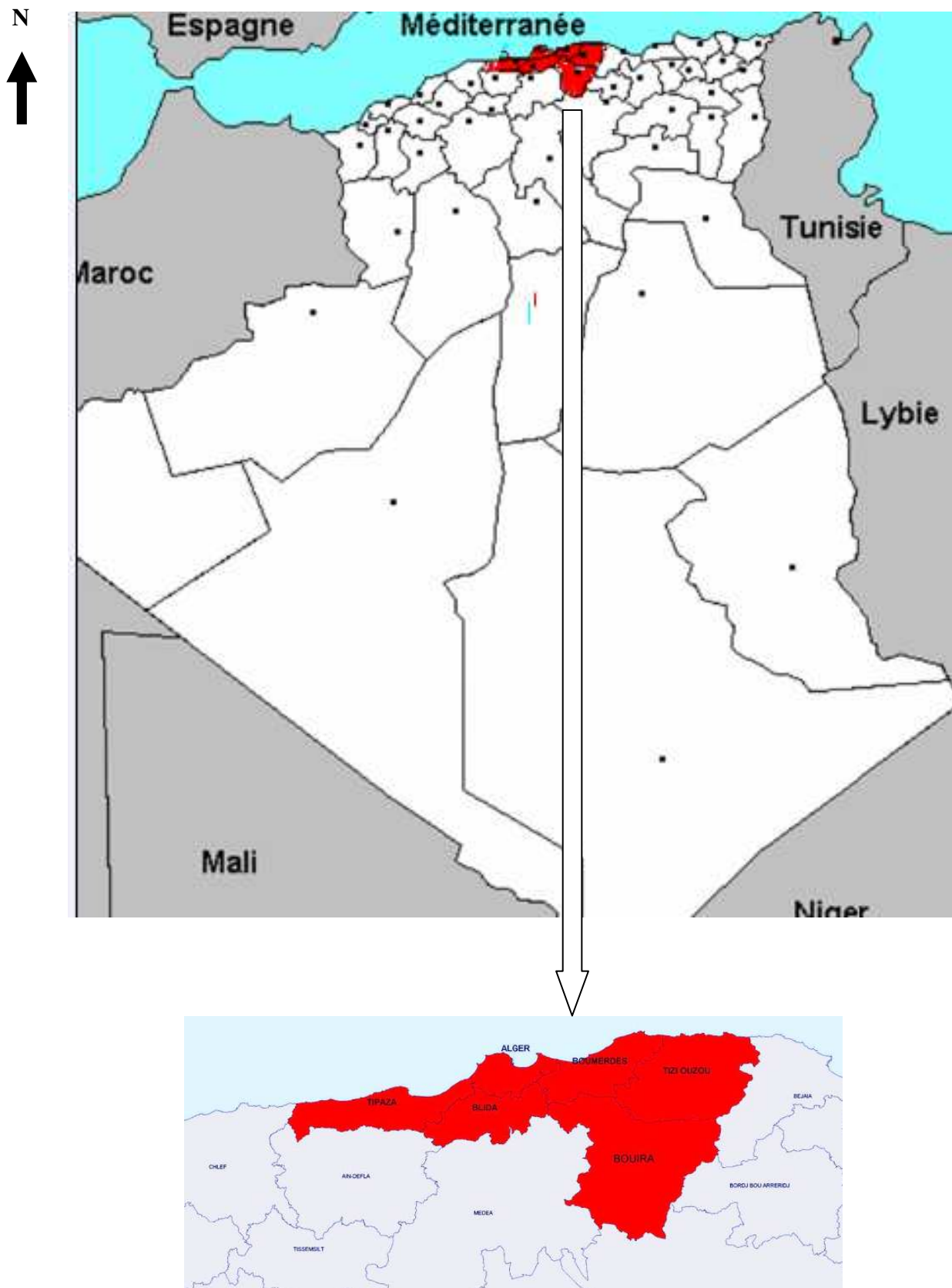
Pour ce qui concerne la situation sanitaire des colonies d'abeilles dans la région medio-septentrionale de l'Algérie, trois parties sont développées, l'une porte sur la méthodologie et les autres sur les résultats obtenus et sur les discussions.

### **2.1. – Méthodologie adoptée**

Dans le but recherché, il est apparu nécessaire de faire une enquête à l'échelle de la région d'étude et d'aborder les techniques employées pour la détection des pathologies apicoles.

#### **2.1.1.- Enquête dans la région médio-septentrionale d'Algérie**

Afin de faciliter la récolte des données pour cette étude, 181 apiculteurs des zones de la région médio-septentrionale sont enquêtés à l'aide d'un questionnaire fermé (Fig. 14). Le questionnaire de l'enquête porte essentiellement sur plusieurs aspects. Il cherche à rassembler des renseignements concernant l'apiculteur et le rucher, la conduite générale du rucher, les pertes de colonies et les symptômes observés par l'apiculteur sur les abeilles et sur le couvain (Annexe 1). L'enquête vise aussi la récupération d'informations sur les effets des traitements phytosanitaires effectués dans un rayon de 3 km autour du rucher, sur la molécule de pesticide employée et sur les méthodes de lutte utilisées contre *Varroa destructor* comme la période de traitement et le problème éventuel d'inefficacité des produits et des applications alternatives. Le questionnaire porte également sur la présence dans le rucher de pathologies autres que la varroase comme notamment la loque américaine et européenne, la nosérose et le couvain plâtré. Ces enquêtes sont complétées par des données fournies par les coopératives apicoles, l'institut technique des élevages, la direction des services vétérinaires au niveau du ministère de l'agriculture ainsi que par les laboratoires régionaux de la médecine vétérinaire. En parallèle, des observations de terrain sont réalisées entre janvier et mars 2011 dans le but d'évaluer les effets de trois maladies, la nosérose, la loque américaine et la varroase, dans les zones de la région médio-septentrionale.



**Figure 14** - Zone d'étude (région médio-septentrionale de l'Algérie)

Echelle : 1/10.000.000

### 2.1.2. - Détection des pathologies apicoles

Pour ce qui concerne la loque américaine, en mars 2011 au début du printemps, l'échantillonnage est effectué dans 5 régions, celles de Tizi-Ouzou, de Blida, de Boumerdès, d'Alger et de Tipaza. Chaque échantillon composé de plus de 100 abeilles adultes est prélevé sur les cadres du couvain. Les ouvrières prises sont placées dans des boîtes contenant de l'éthanol à 90 % et sont congelés immédiatement. Ainsi, 197 prélèvements sont réalisés chez l'ensemble des apiculteurs des régions étudiées. Au laboratoire les spores de *Paenibacillus larvae* sont détectées séparément pour chaque échantillon selon la méthode microbiologique de LINDSTROM et FRIES (2005). Un échantillon était considéré comme positif à *Paenibacillus larvae* si les observations microscopiques mettaient en évidence des bacilles en forme de bâtonnets arrondis, droits ou/et parfois incurvés. Des tests de confirmations biochimiques et microscopiques sont réalisés sur les échantillons positifs. Ces tests sont ceux de la catalase (HAYNES, 1972), de l'hydrolyse de la caséine (NEUENDORF *et al.*, 2004), et de Gram (MURRAY et ARONSTEIN, 2008). Pour la nosérose, les prélèvements sont effectués en 2011, également en mars, au début de la période printanière, dans 3 zones près de Blida, d'Alger et de Boumerdès. Ainsi, 96 prélèvements sont réalisés chez tous les apiculteurs enquêtés. L'échantillon est composé par des abeilles prélevées également sur les cadres du couvain. Au laboratoire les spores de *Nosema* sp. sont détectées et comptées séparément pour chaque échantillon selon les protocoles proposés par l'OIE (2008) (Office international des épizooties). Pour la varroase, il s'agit d'estimer le taux d'infestation des varroas phorétiques, La méthode consiste à prélever dans chaque ruche sur plusieurs cadres de couvain environ 100 abeilles adultes avant de les immerger dans un récipient contenant de l'éthanol à 70°. Après quelques secondes, lorsque toutes les abeilles sont mortes, il est nécessaire d'agiter quelques minutes l'ensemble (alcool + abeilles) afin que tous les *Varroa* puissent se détacher de leur hôte. Lorsque toutes les abeilles sont retirées, les *Varroa* restent au fond du récipient. Ces derniers sont comptés également (DE JONG *et al.*, 1982). A partir des échantillons d'abeilles prélevés, une simple règle de trois permet alors de connaître le taux d'infestation des abeilles (T.i.a.)

$$\text{T.i.a. (\%)} = \frac{\text{Nombre de Varroas phorétiques trouvés}}{\text{Nombre d'abeilles prélevées}} \times 100$$

## **2.2. - Résultats et discussion**

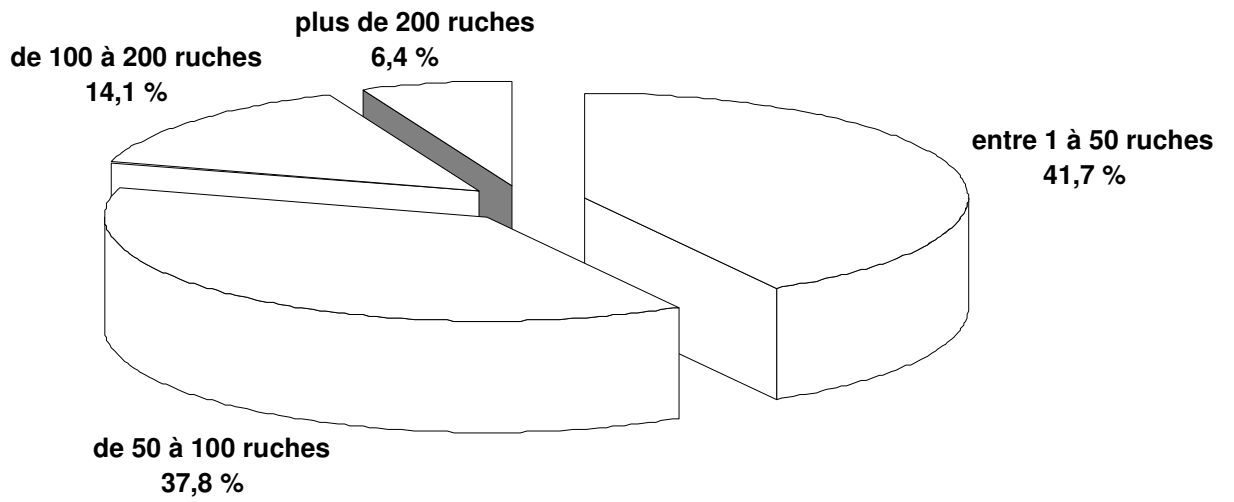
Les principaux résultats obtenus sur le terrain et au laboratoire sont exposés. Ils sont comparés à d'autres travaux faits sur le même thème en Algérie et dans d'autres pays du monde.

### **2.2.1.- Résultats de l'enquête auprès des apiculteurs et au niveau des ruchers et discussion**

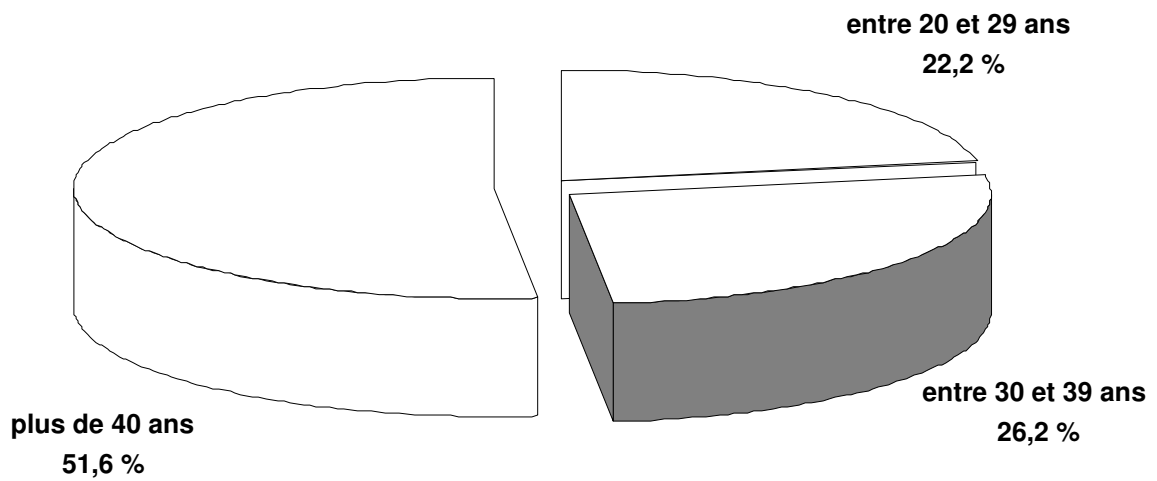
Environ la moitié des apiculteurs possèdent moins de 50 ruches (A.R. % = 41,7 %). Plus d'un quart soit 37,8 % des apiculteurs questionnés disposent de 50 à 100 ruches. Seulement 14,1 % ont plus de 100 colonies et 6,4 % plus de 200 ruches (Fig. 15). Ces résultats confirment que l'apiculture demeure une activité secondaire pratiquée par un nombre très important d'amateurs. Pour ce qui concerne l'âge des apiculteurs, plus de la moitié d'entre eux sont âgés de plus de 40 ans (A.R. % = 51,6 %), 22,2 % sont âgés de 20 à 29 ans et seulement 26,2 % ont 30 à 39ans d'âge (Fig. 16). Sur le plan des études presque la moitié des apiculteurs questionnés ont un niveau secondaire (45,5 %). Près du tiers, soit 37,6 % ont un niveau universitaire alors qu'à peine 11 % ont un niveau primaire et même 5,9 % sont sans niveau (Fig. 17). Il est à souligner que le nombre d'apiculteurs ayant un niveau universitaire est important, ce qui constitue un avantage certain pour l'amélioration et la vulgarisation des techniques apicoles modernes.

### **2.2.2. - Résultats de l'enquête concernant les pathologies apicoles et discussion**

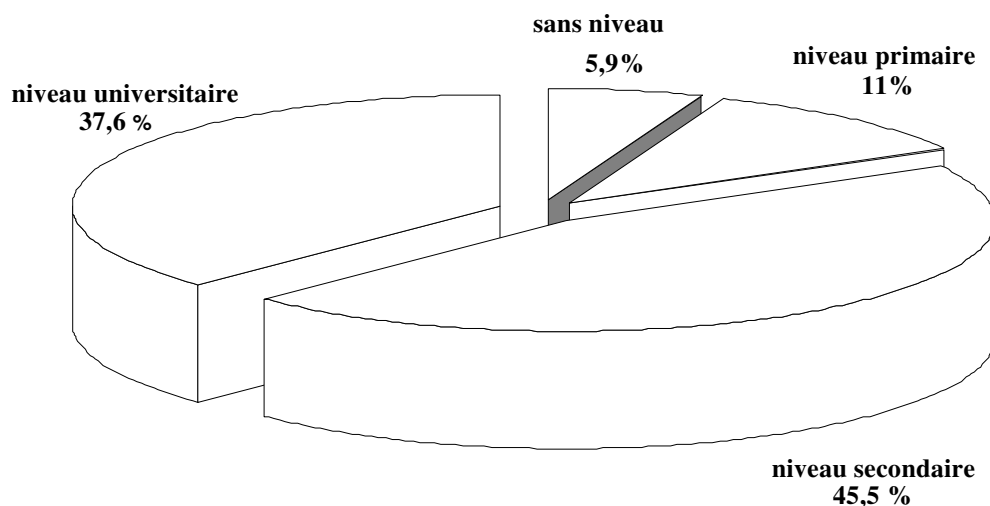
En Algérie, cinq maladies des abeilles figurent sur la liste des maladies animales à déclaration obligatoire fixée par le décret exécutif n° 95-66 du 15 mars 2006 modifié et complété. Ce sont la varroase, les loques (américaine et européenne), la nosérose et l'acariose des abeilles. Malgré l'absence de données réelles sur les pertes de colonies en Algérie, l'enquête en 2011 montre que la plupart des apiculteurs rapportent des mortalités de plus de 10 %. Ce chiffre reste toutefois une estimation compte-tenu de la difficulté des apiculteurs à comptabiliser les mortalités réelles. Les symptômes les plus couramment rapportés par les apiculteurs et observés dans les ruchers lors des visites effectuées sont représentés dans le tableau 4.



**Figure 15** - Nombre de ruches par apiculteur



**Figure 16**- Âges des apiculteurs enquêtés



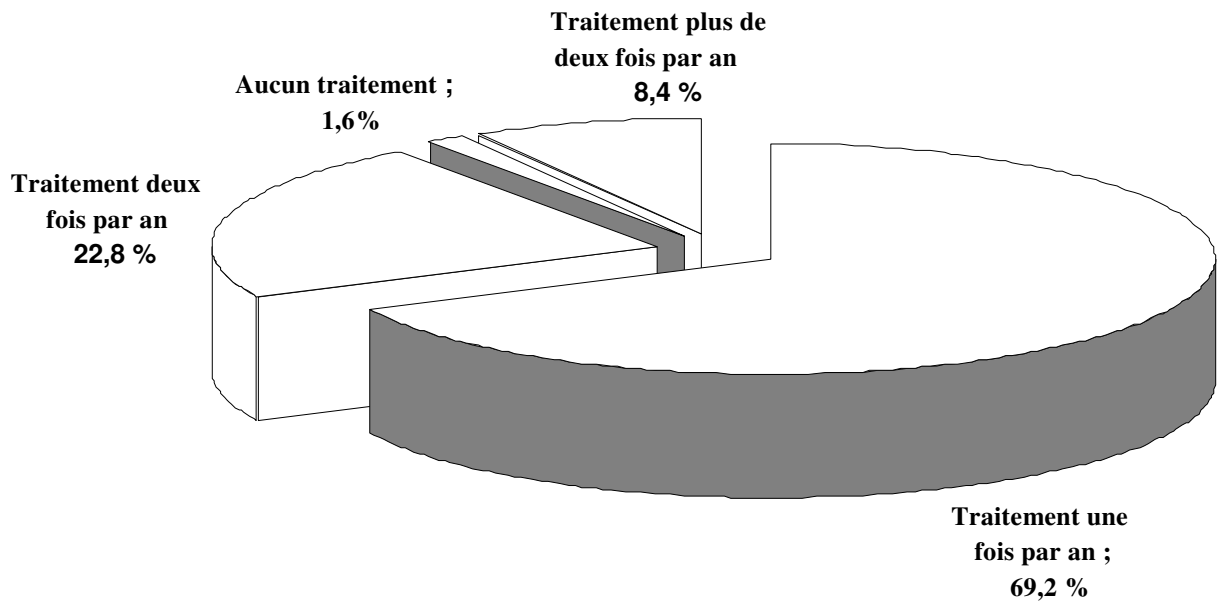
**Figure 17** - Niveaux d'instruction des apiculteurs enquêtés

**Tableau 4** - Symptômes rapportés par les apiculteurs lors de l'enquête

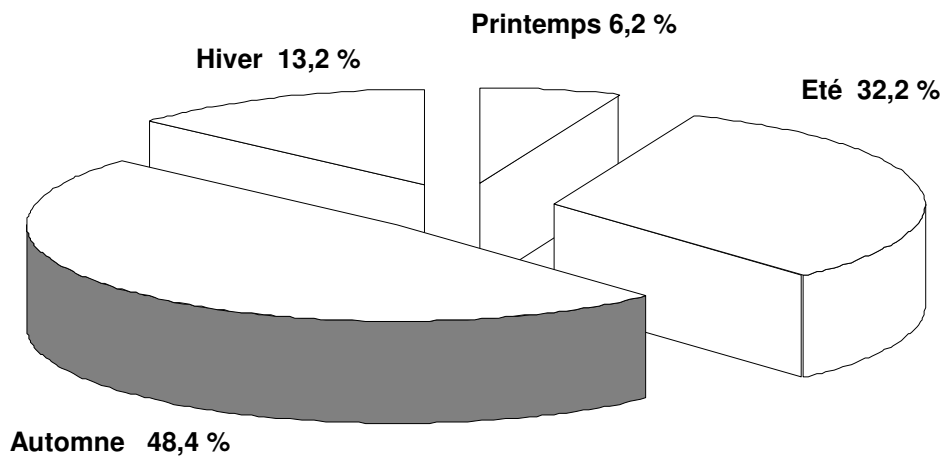
| Symptômes rapportés par les apiculteurs                                                                      | Nombres de cas |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| - Abeilles mortes près de la ruche                                                                           | 60             |
| - Abeilles traînantes, parfois avec des ailes atrophiées, abeilles noires et dépilées                        | 47             |
| - Renouveau prématuré de jeunes reines en dehors de l'essaimage                                              | 21             |
| - Petit paquet d'abeilles restant dans la ruche avec des quantités importantes de miel et de pollen stockées | 40             |
| - Couvain abandonné et mort avec des réserves                                                                | 16             |
| - Dépeuplement et affaiblissement de la colonie                                                              | 47             |
| - Diarrhées / Traces d'excréments sur la paroi des ruches                                                    | 30             |
| - Disparition des colonies à l'exception d'une grappe d'abeilles au cœur de la ruche                         | 32             |

L'agent principalement suspecté concernant les mortalités observées est *Varroa destructor*, agent causal de la varroase. Il existe en Algérie depuis 1981 (ANCIAX DE FAVAU, 1984). Cet acarien a causé beaucoup de dégâts au niveau des ruchers du pays, malgré les traitements effectués par les apiculteurs (ADJLANE et DOUMANDJI, 2011). En effet, plus de la moitié des ruchers avaient un niveau d'infestation en varroas dépassant un seuil tolérable par une colonie saine. Cette situation était caractérisée par la présence de très nombreuses abeilles incapables de voler sur le plancher et dans la grappe. WITTERS (2003) signale que *Varroa destructor* détruit en Espagne un million de ruches par an et que celui-ci a engendré un accroissement du travail autour des ruches et une augmentation des frais de traitement. La présence de cet acarien et les méthodes de lutte sont les facteurs de risque le plus souvent pris en considération dans les études multifactorielles portant sur la surmortalité des abeilles notamment en Angleterre (BROWN, 2000), en France (FAUCON *et al.*, 2002), en Allemagne (ROSENKRANZ, 2004), en Belgique (BRUNEAU, 2005), au Canada (BOUCHER et DESJARDINS, 2005), en Suisse (IMDORF *et al.*, 2007) et aux Etats Unis (BURGETT *et al.*, 2009).

Selon l'enquête menée dans le Nord de l'Algérie, par rapport aux nombres des traitements anti-varroas utilisés, la plupart des apiculteurs soit 98,4 % traitent chaque année contre la varroase, dont 69,2 % le font une fois par an, 22,8 % deux fois par an et 8 % plus de deux fois par an. Seulement 1,6 % ne traitent pas du tout ou irrégulièrement (Fig. 18). La période d'utilisation des produits anti-varroas, correspond à l'été (32,2 %), à l'automne (48,4 %), au printemps (6,2 %) et à l'hiver (13,2 %) (Fig. 19). Il est à constater aussi d'après les présents résultats qui concerne les produits homologués que l'Apistan est le produit le plus utilisé (16,9%), suivi de Bayvarol (13,7 %) et Apivar (9,6%). Les produits naturels à base de Thymol (10%) dont Apiguard (5,9%) et Thymovar (11,8 %). Les acides organiques représentés par l'acide oxalique et formique sont utilisés uniquement par 8 % des apiculteurs. Les résultats présentées ci-dessus mettent en évidence la place très importante des produits non homologués dans le programme de lutte contre *Varroa*, en effet environ 39,4 % des apiculteurs utilisent Klartan et l'amitrazé en goutte et en lanière (Fig. 20).

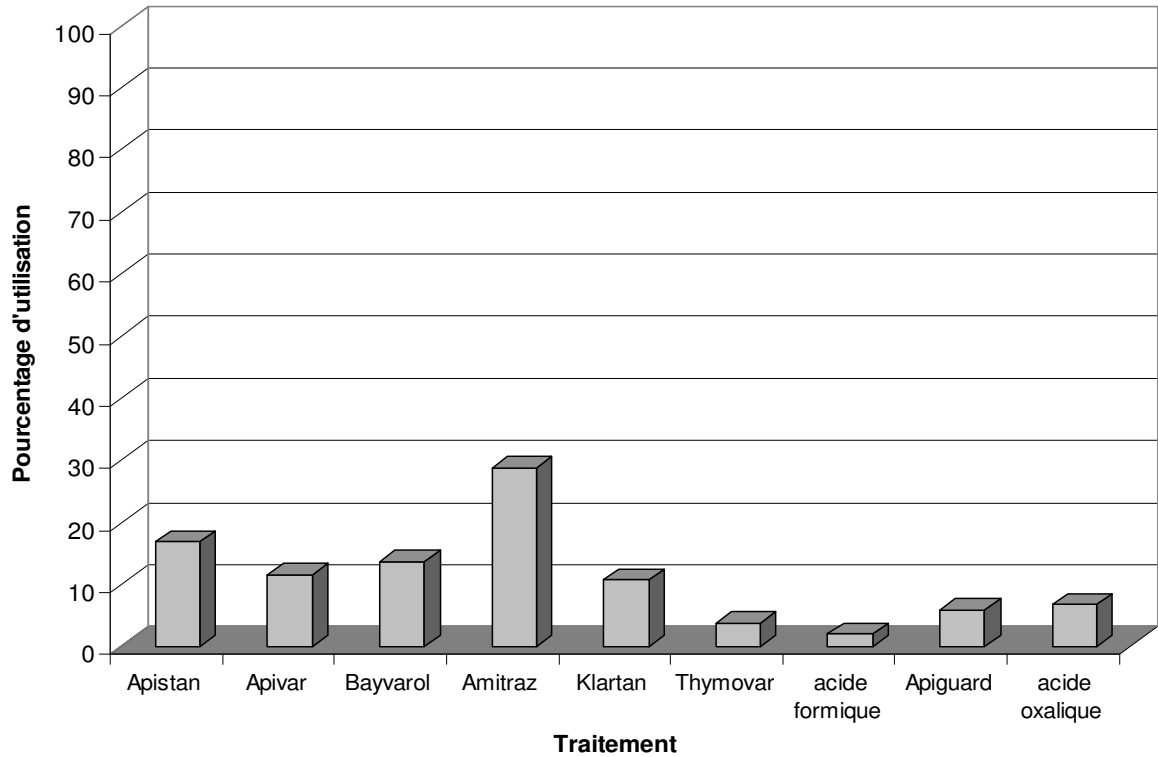


**Figure 18-** Fréquences de traitement par année

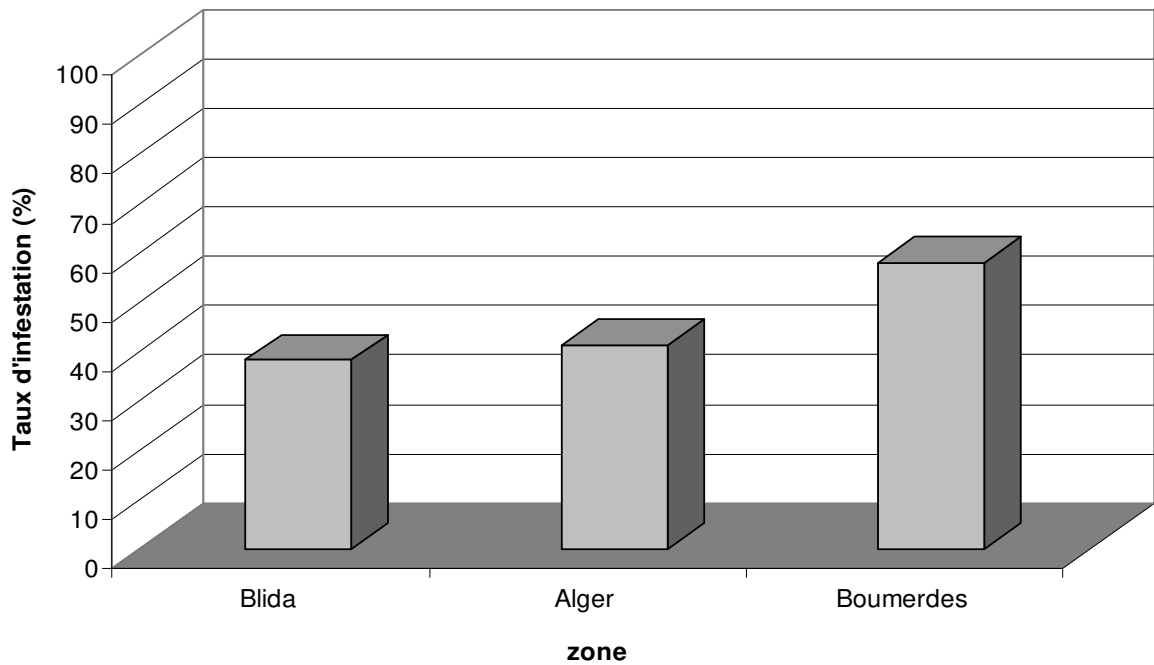


**Figure 19 -** Périodes d'application du traitement de lutte contre la varroase





**Figure 20** - Pourcentages des produits anti-varroa utilisés



**Figure 21** - Prévalences de la nosérose dans la région médio-septentrionale de l'Algérie durant l'année 2011

La lecture des résultats obtenus pour la lutte contre la varroase permet aussi de constater que seulement 43,2% des apiculteurs font alterner les produits anti-varroa et que 56,8 % appliquent un seul produit pendant de longues années. Il est à remarquer que l'alternance des traitements se fait le plus souvent entre le fluvalinate (Apistan) et le fluméthrine (Bayvarol). Or il s'avère que ces deux produits appartiennent à la même famille soit celle des pyréthrinoides. Selon BECKER (1996) l'apparition d'une résistance à un produit chimique d'insecticide ou d'acaricide entraîne l'apparition d'un "effet de classe " c'est à dire que l'insecte résiste à tous les produits de la même famille : C'est la résistance croisée. Bien que les moyens de lutte contre la varroase soient nombreux, les apiculteurs en Algérie préfèrent de beaucoup utiliser les dispositifs artisanaux à base de lanières imprégnées de tau-fluvalinate et d'amitraz. Ces lanières sont introduites dans les colonies et laissées plusieurs mois. La matière active qui circule dans la colonie est très concentrée au départ, alors qu'au bout de quelques semaines, elle perd de son efficacité. Il y a donc d'abord surdosage, puis sous – dosage (FAUCON *et al*, 1995). Ces conditions sont connues pour développer le phénomène de résistance, signalé dans divers pays pour plusieurs matières actives telles que l'amitraz, la fluméthrine, le fluvalinate et le coumaphos (MILANI, 1999; ELZEN et WESTERVELT, 2002). Les inconvénients de l'application des traitements traditionnels, en raison essentiellement de la non-disponibilité d'autres produits homologués sur le marché, sont liés à leur faible efficacité (ADJLANE et DOUMANDJI, 2011) et au risque associé à la présence des résidus dans les produits de la ruche (WALLNER, 1999, LODESANI et COSTA, 2005).

Autre agent ayant un rôle important dans les mortalités des abeilles, *Nosema* sp. microorganisme unicellulaire qui infecte l'épithélium de la paroi du mésenteron de l'abeille ouvrière est à mentionner (FAUCON, 2005). La nosérose provoque une dépopulation progressive des colonies, et dans de nombreux cas elle passe totalement inaperçue (JEFFREE et ALLEN, 1956). *Nosema* sp. apparaît sous la forme des spores résistantes qui restent viables pendant longtemps (BAILEY, 1962). L'infection peut aboutir à des diarrhées. Les analyses de laboratoire ont confirmé la présence des spores de *Nosema* sp (Fig. 21). Selon MUSSEN *et al* (1975), des seuils d'infestation de 10 millions environ de spores par abeille sont responsables de fortes mortalités hivernales et de pertes de reines. L'infection se traduit aussi par des tremblements chez les imagos d'abeilles, par une incapacité à voler et par un déclin de la colonie jusqu'à sa disparition (FRIES, 1988). *Nosema* sp. est appelé le tueur silencieux, en raison de son développement insidieux (AURRIERE, 2001).

D'autres pathologies s'attaquent à la santé des abeilles comme les loques américaine et européenne. Toutes deux très contagieuses, elles sont dues à des bactéries qui se développent dans le couvain. La loque américaine est la plus dangereuse. Elle affaiblit la colonie jusqu'à l'anéantir (SHIMANUKI ET KNOX, 1988). Les symptômes cliniques de la loque américaine sont observés dans environ 20 % des ruchers étudiés. Dans le cadre de la présente étude des diagnostics au laboratoire sont effectués sur des échantillons d'abeilles adultes prélevés dans le Nord de l'Algérie. Ceux-ci mettent en évidence la présence de 45 % d'abeilles infectées par la bactérie *Paenibacillus larvae* (agent causal de la loque américaine) dans les 5 zones étudiées. D'après une enquête menée sur le terrain en 2009 par l'institut national de la médecine vétérinaire d'Algérie (INMV), la varroase reste l'une des principales pathologies qui affecte les élevages. *Varroa destructor* est largement répandue dans toutes les régions étudiées et cette espèce est présente dans 100 % des ruches échantillonnées. Cette maladie est suivie par la nosébose avec une régression du nombre de foyers. Les autres maladies apicoles sont moins signalées.

Selon BAILEY *et al.* (1983) la fréquence de maladies virales est étroitement corrélée à la densité des colonies. Ces auteurs ont montré qu'une densité élevée augmente la probabilité de transmission virale inter-colonies et diminue la disponibilité en nourriture. Or la région médio-septentrionale de l'Algérie est caractérisée par une très forte densité des colonies d'abeilles et un nombre important d'apiculteurs, ce qui accroît le risque de ce type de maladie. Au cours des dernières années, plusieurs témoignages et articles de presse ont rapporté un affaiblissement et une mortalité inhabituels des colonies d'abeilles dans plusieurs pays du monde. L'Autriche, la Belgique et la Suisse rapportent des pertes en moyenne de 40 % (HAUBRUGE *et al.*, 2006). La France enregistre chaque année depuis 1995 une mortalité qui varie de 300 000 à 400 000 colonies (GUILLET, 2007). L'Espagne enregistre des mortalités de près de 30 % chacune (HIGES *et al.*, 2009). Au Japon, ce sont 25 % des colonies qui meurent chaque année (NEUMANN et CARRECK, 2010). Pour la période 2009-2010, la mortalité des colonies américaines a été de 33,8 % (VAN ENGELSDORP *et al.*, 2010). Au Canada, la mortalité hivernale atteint 21,3 % en 2009 (BOUCHER, 2009).

A cause de ce phénomène de mortalité accrue, les professionnels de l'apiculture estiment qu'il y a eu une perte de production mondiale de miel de 20 % à 30 % entre les années 1997 et 2009 (GENERSCH *et al.*, 2010).

### **2.2.3. - Résultats de l'enquête pour les pratiques apicoles et discussion**

Il est constaté que l'entretien des ruches par les apiculteurs est très faible. En effet, parmi eux, très peu sont ceux qui protègent leurs colonies des intempéries et de l'humidité, qui respectent l'orientation des colonies, qui pratiquent le nourrissage avec une source protéique et protègent les cadres contre la fausse teigne en été. L'ensemble de ces facteurs non respectés contribuent à un affaiblissement des colonies, et en conséquence à l'augmentation du risque de mortalité des abeilles. Ils influencent négativement la production de miel. Effectivement d'après les résultats obtenus environ 41,5 % des apiculteurs produisent moins de 5 Kg / ruche / an. Le faible recours à la transhumance explique aussi cette faiblesse. La majorité des apiculteurs ne pratiquent pas la transhumance, par manque de moyen de transport. Il est à signaler aussi que le miel n'est pas le seul produit de la ruche. Les apiculteurs produisent aussi des essaims, du pollen et des reines. Cependant rares sont ceux qui produisent la gelée royale.

### **2.2.4.- Résultats de l'enquête concernant l'influence des traitements phytosanitaires sur les colonies et discussion**

D'après les résultats de l'étude, l'une des causes des pertes des colonies qui revient le plus fréquemment est l'action des pesticides tels que les herbicides, les fongicides et les insecticides. Ainsi, 11 % des apiculteurs déclarent qu'ils sont victimes des traitements effectués par les agriculteurs. Aucune loi en Algérie ne protège l'abeille des pesticides. Les pesticides peuvent entraîner des effets négatifs sur la physiologie de l'abeille comme des altérations morphologiques aux stades immatures (ATKINS ET KELLUM, 1986 ; Da Silva-Cruz *et al.*, 2010 ; Gregorc et Ellis, 2011), malformations des ailes, diminution de la croissance et des troubles de butinage (Thomposon et al., 2005; Yang *et al.*, 2008 ; ALIOUANE et al., 2009). D'après FRIEDLER (1987) les pesticides provoquent une réduction du couvain, une diminution de la consommation de la nourriture, et donc un affaiblissement des colonies d'abeilles. Les abeilles peuvent être exposées aux divers agents chimiques susceptibles d'être présents dans l'environnement. Les pesticides tuent souvent directement les abeilles par intoxication aiguë. Ils peuvent aussi agir à des doses sublétales par intoxication chronique (COLIN *et al.*, 2004 ; Ramirez-Romeo et al., 2005; PETTIGREW, 2008).

### **2.2.5. - Résultats de l'enquête relatifs aux effets des facteurs environnementaux sur les abeilles et discussion**

L'influence de l'environnement sur l'abeille domestique est due à deux facteurs, d'une part aux ressources alimentaires et d'autre part aux conditions climatiques. Lorsque les apiculteurs sont consultés, ils pointent souvent du doigt les mauvaises conditions climatiques allusion faite au froid et aux pluies. Ces facteurs empêchent les abeilles de sortir pour faire des réserves de nourriture.

En 2011, la miellée est tardive et l'hiver rigoureux a provoqué des mortalités hivernales dans les ruches de quelques apiculteurs. La dégradation de l'environnement conduit à un manque de disponibilité en plantes à pollen et mellifères et donc à une pénurie de nourriture pour les abeilles. Or les carences alimentaires augmentent la sensibilité des abeilles aux insecticides (WAHL et ULM, 1983). Selon FRIES (1995) lorsqu'il y a peu de pollen, source de protéines, dans la ruche, cette situation favorise le développement de maladies. Selon une étude faite en Afrique du Sud par SWART (2003) la nosérose montre une plus forte incidence dans les zones forestières à cause du manque de lumière directe du soleil sur les colonies placées dans les milieux boisés, ce qui pourrait nuire à une bonne régulation de la chaleur et de l'humidité à l'intérieur de la ruche et empêcher une bonne aération des colonies. Selon le dernier auteur cité, ces conditions défavorables sont propices à la nosérose. Déjà en 1981, BAILEY indique que les causes qui favorisent le développement de la nosérose sont liées essentiellement au confinement prolongé de l'abeille à l'intérieur de la ruche durant les hivers trop longs, ce qui favorise une dissémination active de *Nosema*. Par ailleurs, les périodes où la température maximale de la journée demeure inférieure à 12°C sans pluie ou à 16°C avec pluie inhibent l'activité de vol et interrompent l'approvisionnement en pollen de la ruche avec des conséquences néfastes sur l'élevage du couvain et le développement des futures nourrices (DUSTMANN et VON DER OHE, 1988). Dans le même sens, CRAILSHEIM *et al* (1996) soulignent l'importance des conditions climatiques sur le développement de la colonie et la durée de vie de l'abeille.

Les résultats de cette étude présentent clairement les contraintes de développement de l'apiculture et les causes des mortalités des colonies d'abeilles observées dans le Nord-centre de l'Algérie. Dans le contexte actuel, il est très difficile d'incriminer une seule cause. Il existe bon nombre de facteurs de risques susceptibles d'influer sur la surmortalité des abeilles domestiques.

# CHAPITRE III

## **Chapitre III - Prévalence de la loque américaine dans les colonies d'abeilles locales d'*Apis mellifera intermissa***

Au niveau de la prévalence de la loque américaine, trois parties sont abordées, d'abord la méthodologie adoptée dans la détection de la pathologie, ensuite les résultats obtenus et enfin les discussions.

### **3.1. – Méthodologie adoptée**

Afin de mener à bien cette présente expérimentation, plusieurs étapes sont réalisées à partir de l'échantillonnage jusqu'à l'observation au laboratoire des spores de la bactérie, en passant par le transport et la conservation des abeilles, la préparation de milieu de culture, et l'utilisation des méthodes de diagnostics microbiologique, biochimique et microscopique.

#### **3.1.1. - Echantillonnage**

L'échantillonnage est effectué dans 5 régions, celles de Tizi-ouzou, de Blida, de Boumerdès, d'Alger, Tipaza, sur des colonies d'abeilles de la race *Apis mellifera intermissa*. 101 prélèvements sont réalisés dans l'ensemble des régions étudiées durant l'année 2010. 42 ruchers sont visités lors de ces prélèvements dont le but est de détecter les symptômes typiques de la loque américaine. Les symptômes se situent au niveau de l'apparence du couvain malade dont les larves présentent une consistance typique (larves filantes). Lorsque la larve morte se dessèche, des écailles durcies se forment et adhèrent fermement à la paroi de la cellule (LINDSTROM *et al.*, 2008).

#### **3.1.2. - Prélèvement des échantillons d'abeilles**

Le prélèvement des ouvrières destinées à l'expérimentation se fait au niveau des cadres à couvain. A l'aide d'une brosse et d'un geste rapide les abeilles sont directement collectées dans une boîte de conservation laquelle est aussitôt refermée. Au cours du présent prélèvement, il faut prendre soin d'écarter la reine.

### **3.1.3. - Transport et conservation des abeilles**

Pendant le transport, les abeilles adultes sont conservées et plongées dans des boîtes numérotées contenant de l'éthanol 90°. Quand le délai entre le prélèvement et l'utilisation des abeilles pour l'analyse est grand, il est procédé à la congélation des abeilles à -20°C.

### **3.1.4. - Préparation du milieu de culture**

La gélose MYPGP est le milieu de culture utilisée dans le présent essai. Elle est composée d'après DINGMANN et STAHLY (1983) de 10 g de Bouillon Mueller-Hinton (Oxoid CM0405), de 15 g d'extrait de levure, de 3 g de phosphate de potassium (K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), de 2 g de glucose, de 1 g de pyruvate de sodium (C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>) et de 20 g de gélose. Pour la préparation cette gélose, peser et verser les ingrédients mentionnée ci-dessous dans un flacon de 1000 ml et compléter le flacon jusqu'à 1000 ml avec l'eau distillée, après faire bouillir la préparation à 100°C et verser le liquide dans des flacons. Par la suite autoclaver les flacons pendant 1heure à 120°C et coller la gélose sur des boîtes de Pétrie et la laissée refroidir.

### **3.1.5. - Méthode de diagnostic microbiologique de l'agent causal**

La méthode de LINDSTROM et FRIES (2005) est utilisée dans la détection de la bactérie. Ecraser soigneusement avec la main les intestins d'abeilles, après filtration, placer l'échantillon dans un tube à essai et ajouter 20 ml de l'eau physiologique. Le mélange obtenu est centrifugé pendant 10 minutes. Le culot est récupéré et mélanger avec 12 ml de NaCl stérile (13 g/litre), l'échantillon est incubé pendant 10 minutes a 85 °C et 10 µl de la suspension est inoculer sur les plaques MYPGP-agar. La lecture des résultats s'effectuera après avoir incubé ce dernier échantillon dans pendant 7 jours à 36°C et à 5 % de CO<sub>2</sub>. Sur la gélose MYPGP, les colonies de la bactérie *Paenibacillus larvae* sont petites, régulières, en général rugueuses, plates, blanchâtres ou beiges

### **3.1.6. - Tests de confirmation**

La bactérie *Paenibacillus larvae* est un bacille Gram positif avec certaines caractéristiques qui le distingue des autres bacilles contaminant les abeilles et les produits de



la ruche. Après avoir obtenu des résultats positifs sur les prélèvements, des tests de confirmations biochimiques et microscopiques sont utilisés dans le but de vérifier la véracité des premiers résultats.

### **3.1.6.1. - Tests biochimiques**

Les tests mis en œuvre sont ceux de la catalase et de l'hydrolyse de la caséine.

#### **3.1.6.1.1. - Test de la catalase**

Le test de la catalase cherche à mettre en évidence si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau ( $H_2O$ ) et en oxygène ( $O_2$ ). Dans le cadre de la présente étude, le protocole consiste à placer une goutte d'eau oxygénée à 3 % sur une lame à laquelle il est ajouté un peu de culture en milieu solide (MYPGP). La décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase se traduit par un dégagement gazeux abondant sous la forme de bulles. L'absence de bulles constitue une réponse négative. La réaction de la bactérie de la loque américaine est toujours négative au test de la catalase (HAYNES, 1972).

#### **3.1.6.1.2. - Hydrolyse de la caséine**

Le milieu qui est employé pour ce test se compose d'une solution A (10 g de lait écrémé en poudre, 90 ml d'eau distillée) et d'une solution B (3 g de gélose, 97 ml d'eau distillée) stérilisées séparément à  $121^\circ C$  pendant 20 minutes et refroidies à  $45^\circ C$  puis mélangées. Le milieu ainsi préparé (25 ml) est versé dans des boîtes de Pétri. Celles-ci sont ensuite inoculées avec des cultures de *Paenibacillus. larvae* âgées de 24 h. L'incubation se poursuit pendant 7 jours. Une réaction positive est indiquée par l'éclaircissement du milieu sous et autour de la zone de croissance de la colonie. *Paenibacillus. larvae* induit une réaction positive.

### **3.1.6.2. - Méthode microscopique**

La coloration de Gram est la technique microscopique utilisée pour confirmer la présence de la bactérie *Paenibacillus larvae* dans les échantillons des abeilles (MURRAY et ARONSTEIN, 2008). La première étape de cette méthode consiste à fixer un film bactérien provenant d'une culture de 18 à 24 heures sur une lame. Couvrir complètement la lame avec du violet cristal. Ensuite laisser agir le violet cristal pendant 60 s puis laver à l'eau pendant 5 s. L'échantillon doit apparaître coloré en bleu-violet à l'œil nu. Recouvrir la lame avec la solution d'iode pendant 1 min.

Après il faut rincer la lame à l'eau pendant 5 s (à ce stade, l'échantillon doit toujours être bleu-violet) et continuer immédiatement par application du décolorant, l'éthanol. ajouter l'éthanol goutte à goutte jusqu'à ce que l'échantillon n'apparaisse plus bleu-violet. L'étape finale consiste à faire un rinçage pendant 5 secondes et appliquer le contre-colorant, la safranine. Ce dernier doit couvrir la lame pendant 1 min. Les bactéries Gram + ne se coloreront pas ou très peu avec la safranine tandis que les bactéries Gram - apparaîtront colorées en rose et seront faciles à distinguer. Avant l'observation avec le microscope, il faut rincer la lame avec de l'eau distillée pour éliminer l'excès de colorant et laisser sécher à l'air.

### **3.1.7. – Techniques employées pour l'analyse statistique des résultats**

Les données obtenues sont analysées avec le logiciel Statistica version 5.0 suivant le processus de l'analyse de la variance (Anova). La comparaison des moyennes est faite par le test de Newman – Keuls au seuil de 5 %.

### 3.2. – Résultats

La culture bactérienne sur un milieu de culture permet de reconnaître sans équivoque possible la bactérie *Paenibacillus larvae* (Fig. 22 et 23). La prévalence de la loque américaine en 2010 dans la région médio- septentrionale de l'Algérie est représentée dans la figure 24. Il existe une différence significative entre les taux de contamination de la bactérie des régions étudiées ( $p < 0,05$ ) (Tab.5). La région de Boumerdès enregistre la fréquence la plus élevée avec un taux de contamination de 40 %, suivie par celle de Tizi Ouzou avec 35 %. Dans les autres régions les fréquences d'occurrence (F.O. %) sont plus basses comme à Alger (F.O. % = 22 %), et Tipaza (F.O. % = 20 %). Il faut attirer l'attention sur les ruchers de Blida qui présentent la prévalence la plus faible égale à 17 %.

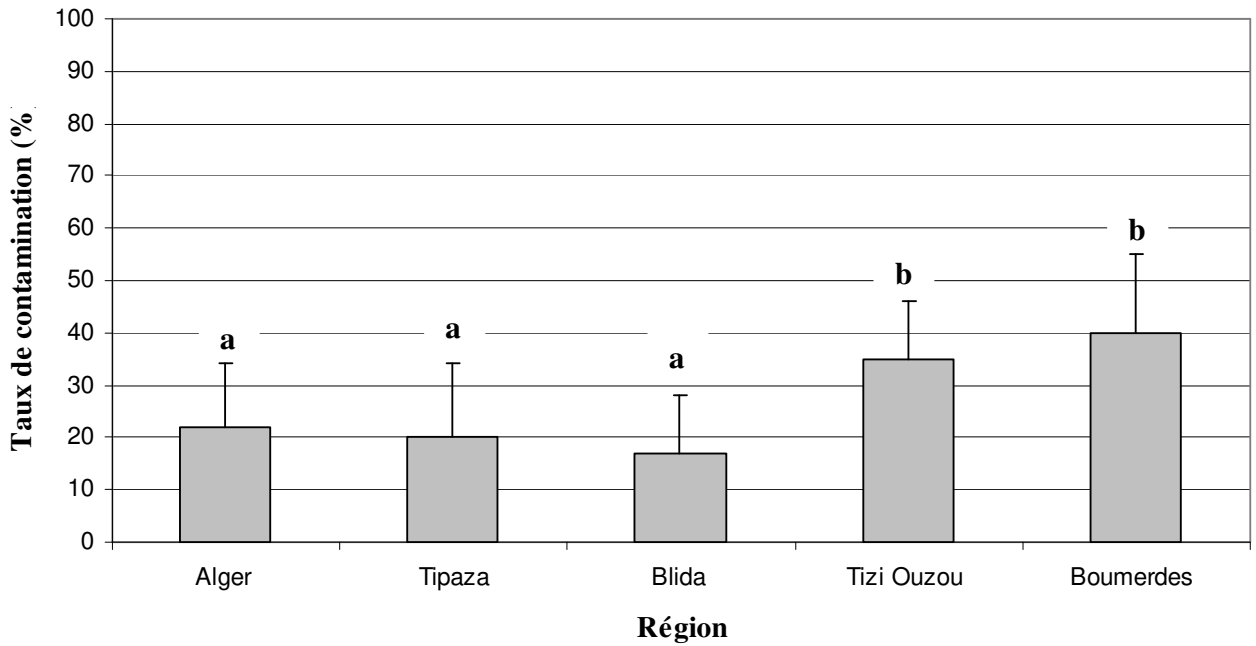
En conditions réelles, la détection de la loque américaine est basée sur l'apparence du couvain contenant des larves malades dont l'aspect est très particulier. Pour l'ensemble des ruches infestées, seulement 9 % en moyenne sont caractérisés par la présence des symptômes de la maladie (Fig. 25). La zone de Boumerdes domine avec un taux de 12 %. Parmi les symptômes typiques de la loque américaine, un couvain irrégulier, des opercules perforés et écailles et Masse brun clair dans la cellule formant un fil (Fig. 26). On ne note d'ailleurs aucune corrélation entre le pourcentage de contamination des ruches par la bactérie et la présence des signes de la pathologie ( $R= 0,23$ ,  $p=0,64 > 0,05$ ) (Tab. 6).



**Figure 22** - Aspect des colonies de *Paenibacillus larvae* après incubation (Original)



**Figure 23** - *Paenibacillus larvae* après coloration de Gram observés sous microscope photonique à GX 100 (Original).

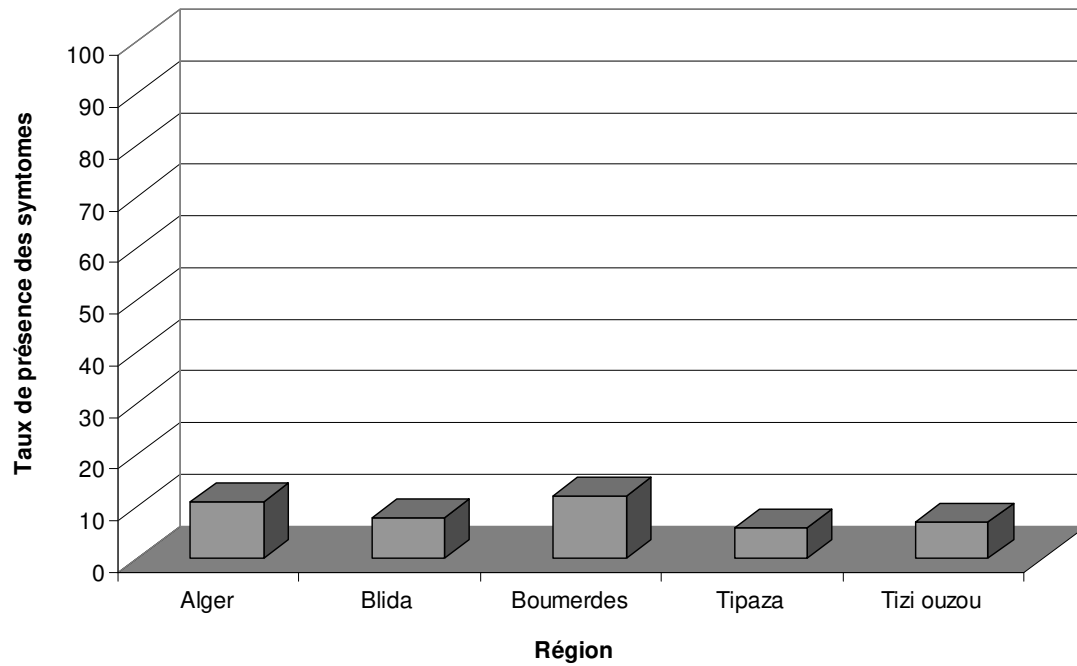


**Figure 24 -** Prévalences de la loque américaine dans les zones étudiées

a-b : les lettres différentes indiquent une différence significative entre a  $p < 0,05$  après l'analyse de la variance et le test de Newman-Keuls

**Tableau 5 -** Recherche de différence significative par une ANOVA entre les prévalences de la loque américaine entre les zones étudiées

| Source des variations     | Somme des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F          | Probabilité | Valeur critique pour F |
|---------------------------|------------------|------------------|--------------------|------------|-------------|------------------------|
| Entre Groupes             | 3839,56944       | 4                | 959,892361         | 3,63189177 | 0,01356748  | 2,62605228             |
| A l'intérieur des groupes | 9778,93056       | 37               | 264,29542          |            |             |                        |
| Total                     | 13618,5          | 41               |                    |            |             |                        |



**Figure 25** - Fréquences de l'apparition des symptômes de la loque américaine dans les colonies infestées par la bactérie *Peanibacillus larvea*

**Tableau 6** - Recherche de différence significative par une ANOVA entre la corrélation entre prévalence de la loque américaine et les symptômes

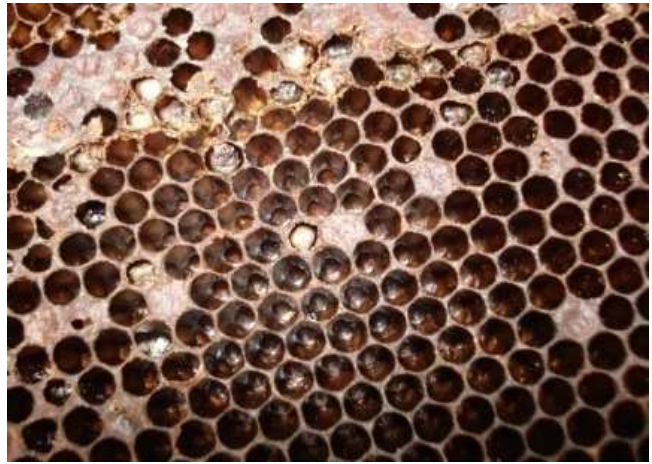
|            | Degré de liberté | Somme des carrés | Moyenne des carrés | F          | Valeur critique de F |
|------------|------------------|------------------|--------------------|------------|----------------------|
| Régression | 1                | 4,7159292        | 4,7159292          | 0,64063314 | 0,48200144           |
| Résidus    | 3                | 22,0840708       | 7,36135693         |            |                      |
| Total      | 4                | 26,8             |                    |            |                      |



**a**



**b**



**c**

**Figure 26 -** Symptômes de la loque américaine (Original)

**a** : Le test de l'allumette pour la détection de la loque américaine (le contenu des cellules atteintes est filandreux et de consistance visqueuse)

**b, c** : Un couvain en mosaïque avec des opercules perforés et des écailles

### 3.3. – Discussion

Elle constitue une pathologie grave qui menace les colonies d'abeilles locales. Elle est considérée comme est la maladie la plus néfaste du couvain de l'abeille domestique *Apis mellifera* (HANSEN et BRODSGAARD, 2003; GENERSCH *et al.*, 2005). Les spores représentent le stade infectieux.

Si dans le couvain les larves absorbent des spores en se nourrissant, ces dernières germent dans leurs intestins moyens. Les bâtonnets, forme végétative très mobile, traversent la paroi de l'intestin et pénètrent dans la cavité abdominale. Là ils se multiplient rapidement et provoquent la mort de la larve ( GREGORC et BOWEN, 1998). Jusqu'à présent, il n'y a eu aucune étude en Algérie sur la prévalence de cette bactérie dans les colonies d'abeilles. La seule information qui existe est celle relative aux données de la direction des services vétérinaires d'Algérie. Cette dernière rapporte à travers une étude sur l'évolution des foyers des maladies apicoles entre 2003 et 2009, que la loque américaine se place au deuxième rang après la varroase. Les résultats obtenus dans la présente étude montrent une variation dans le taux d'infestation des ruches d'une région à l'autre. Plusieurs facteurs peuvent expliquer éventuellement cette grande variation dans la fréquence d'occurrence de la maladie. D'après HAUBRUGE *et al.* (2006), les conditions climatiques sont évoquées comme cause potentielle de la loque. La sporulation de *Paenibacillus larvae* est déclenchée par le taux élevé d'humidité en hiver (HANSEN et BRODSGAARD, 1999). Les bactéries se multiplient dans le couvain au printemps lorsque la reproduction est intense causant des symptômes cliniques. En général, la loque américaine est décelée à la fin de l'hiver et au printemps. L'échantillonnage dans le cas de la présente étude est effectué au début du printemps, ce qui explique la détection de la maladie dans l'ensemble des zones de la région centre du nord d'Algérie. Par ailleurs, les manipulations effectuées par l'apiculteur sont considérées comme un important facteur dans la propagation de la pathologie. Les mauvaises pratiques apicoles sont elles-mêmes favorables à l'apparition et à la diffusion de la loque. L'échange des cadres de couvain contenant des restes de larves malades est la voie de diffusion de la maladie la plus commune (SHIMINUKI et KNOX, 1988). L'alimentation ou le pillage de miel chargé en spores, les paquets d'abeilles et la cire contaminée par des spores de *Paenibacillus larvae* utilisée pour la création de nouveaux cadres de ruche peuvent également aussi disséminer la maladie (FAUCON, 2002). Le remplacement fréquent des rayons par l'apiculteur devrait donc être encouragé dans la conduite apicole pour lutter contre les maladies par simple retrait



des rayons contaminés (DE GRAAF *et al.*, 2001). La commercialisation des reines peut être également un élément de dissémination de la pathologie. En effet, une reine provenant d'une colonie infestée peut disséminer la maladie dans des colonies saines (WILSON, 1972). La vente des reines entre les apiculteurs algériens est une pratique très courante, et elle se fait sans aucun contrôle sanitaire. Ce qui augmente le risque de propagation de la maladie entre les ruchers. Un travail de recherche laisse entendre que *Varroa destructor* peut jouer un rôle dans la diffusion de la maladie (RYCKE *et al.*, 2002), sachant que les ruchers en Algérie sont très infestés par la varroase (ADJLANE et DOUMANDJI, 2011), ce qui constitue donc une autre voie potentielle de diffusion de la bactérie. D'après SAEGERMANN *et al* (2009) l'un des facteurs les plus importants qui peuvent faciliter la dissémination de la loque américaine est le fait que les spores de *Paenibacillus larvae* ont la capacité à rester viables durant une période pouvant atteindre 35 ans. Les résultats de LINDSTROM *et al.* (2008) démontrent un effet direct de la distance entre les colonies cliniquement malades sur la probabilité de contracter une quantité élevée de spores aussi bien que sur celle de développer des symptômes visibles de la maladie. La forte densité des colonies d'abeilles est un facteur de dissémination de la pathologie. Cette forte présence de la pathologie dans les colonies d'abeilles est liée aussi à la densité élevée des colonies dans les zones étudiées. Le pillage est un moyen important de transmission des spores de *Paenibacillus larvae* entre colonies d'abeilles sur de courtes distances. Il est prouvé que la contamination est particulièrement importante à une distance de l'ordre de 1 km ou moins (LINDSTROM *et al.*, 2008). Le comportement de l'abeille est un facteur qui peut déterminer l'incidence de la loque: FRIES et RAINA (2003) rapportent dans une étude effectuée sur la loque américaine sur des colonies d'abeilles africanisée que le comportement hygiénique de cette abeille est responsable de la faible présence de la bactérie dans les colonies en Afrique. Il faut rappeler qu'il existe d'autres voies de dispersion de la maladie tels que la vente des essaims qui peuvent être porteurs de spores, le déplacement des colonies d'abeilles (PANKIW et CORNER, 1966) En Algérie, les apiculteurs déplacent leurs ruches plusieurs fois par an dans différents endroits à la recherche de ressources nectarifères. Ces mouvements peuvent contribuer à la propagation de la maladie. Des ruches contaminées peuvent introduire la maladie dans un nouvel endroit. A signalé que la transhumance des ruches en Algérie se fait sans aucune autorisation sanitaire.

Concernant le taux de présence des signes de la loque dans des ruchers visités, on mentionne dans ce présent travail le faible pourcentage enregistré qui est de 9 %. En effet, les signes cliniques de la loque américaine sont très variés et dépendent essentiellement du stade de la maladie. Les jeunes larves peuvent être tuées rapidement quand elles sont pelotonnées dans des alvéoles non operculés. Selon BRØDSGAARD *et al* (2000) il est difficile de détecter les signes de la loque, puisque les ouvrières éliminent souvent les larves mortes et restera uniquement un alvéole vide. Les signes cliniques de la loque américaine dépendent aussi du niveau de la virulence de la souche de la bactérie (RITTER, 2003; EVANS, 2004), de la concentration des spores dans les colonies et de la force de la ruche et sa résistance éventuelle à la loque américaine (HANSEN et BRODSGAARD, 1997). Selon DE GRAAF *et al* (2001) rapportent à travers les résultats de leurs essais que la présence de *Paenibacillus larvae* dans une ruche n'est pas systématiquement accompagnée de symptômes cliniques. Les résultats de LINDSTROM *et al.* (2008) montrent qu'une colonie peut présenter de grandes quantités de spores par abeille adulte sans présenter de signes cliniques de la loque américaine. Lorsque des symptômes cliniques de la maladie apparaissent dans les colonies infectées, en l'absence de traitement, celles-ci succomberont très probablement à cette maladie (GENERSCH *et al*, 2005). Dans des colonies ne présentant pas de symptôme clinique de la maladie, des spores du pathogène peuvent être détectées dans des échantillons d'abeilles adultes (HORNITZKY, 1988; NORDSTROM *et al.*, 2002), ou dans le miel (AUTUNEZ *et al.*, 2004; BOHERECKA et BOBER, 2008). A l'échelle mondiale, plusieurs travaux de recherche ont porté sur la répartition de la loque au sein des colonies d'abeilles. Une étude basée sur l'analyse bactériologique de 1328 échantillons de miel de la récolte de l'été 1999 en Belgique a détecté 146 échantillons contaminés par les spores de *Paenibacillus larvae* (DE GRAAF *et al.*, 2001). En suède, une étude a mis en évidence une prévalence de 70 % des abeilles contaminées par la loque (LINDSTROM et FRIES, 2005). En Argentine, IURLINA *et al* (2006) rapportent que 38 % des échantillons du miel des apiculteurs sont contaminés par la bactérie *Paenibacillus larvae*.

En Argentine, 50 % des échantillons de miel sont contaminés par la bactérie (BASUADO *et al.*, 2008). Selon une étude faite par BOHORECKA et BOBER (2008) en Pologne sur 242 échantillons du miel analysés en 2006, 23 % sont caractérisés par la présence de la bactérie. En république tchèque RYBA *et al* (2009) rapportent un taux de 12 % des colonies sont contaminés par la bactérie. En 2010, YUSEFHANI et LOTFI ont détectés un taux de 17 et 13 % d'infestation par la bactérie dans un échantillonnage qui a été effectué en Iran dans deux mois différents (Mai et Juin).

# CHAPITRE IV

## **Chapitre IV - Prévalence de la nosérose dans les colonies d'abeilles *Apis mellifera intermissa* dans la région médio-septentrionale de l'Algérie**

Dans le but d'étudier la prévalence de nosérose dans la région médio-septentrionale de l'Algérie, deux parties sont exposées dans ce chapitre. La première consiste en la présentation de la méthodologie adoptée. La deuxième est la présentation des résultats de cette étude et des discussions

### **4.1. - Méthodologie adoptée**

La recherche des spores de *Nosema sp* dans les colonies d'abeilles est effectuée au laboratoire de Biologie animale à l'université M'Hamed Bougara de Boumerdès. Plusieurs étapes sont réalisées. Ce sont l'échantillonnage, le prélèvement des abeilles, la détection des symptômes et l'application du protocole au laboratoire.

#### **4.1.1.- Echantillonnage**

Au cours de ce travail, 19 ruchers sont suivis. Au niveau de chaque rucher, l'échantillonnage est effectué sur 10 % des ruches. Les prélèvements sont effectués en 2010, au cours des dernières semaines hivernales, dans 5 zones agricoles près de Blida, d'Alger, de Boumerdès, de Bouira et de Tipaza.

#### **4.1.2. – Méthode de prélèvement des abeilles**

Pour cette étude, des abeilles ouvrières d'âge indéterminé sont prélevées au niveau du 4<sup>ème</sup> ou du 6<sup>ème</sup> cadre du couvain des colonies de la race *Apis mellifera intermissa*. Après le prélèvement, les abeilles sont conservés dans des boîtes contenant de l'éthanol à 95° et à une température de – 20°C jusqu'au jour des analyses.

#### **4.1.3. – Méthode de détection des symptômes**

Au niveau des ruchers visités lors de ces prélèvements, un contrôle des symptômes typiques de la nosérose est effectué pour chaque colonie. Les principaux symptômes de cette pathologie sont la présence d'abeilles incapables de voler, rampantes avec

un abdomen gonflé, et des taches brunes d'excréments sur la planche d'envol, dans la ruche et sur les cadres.

#### **4.1.4. - Protocole des analyses**

Au laboratoire les spores de *Nosema* sp. sont détectées et comptées séparément pour chaque échantillon selon les protocoles proposés par l'Office international des épizooties (OIE, 2008). L'échantillon est composé par des abeilles prélevées sur les cadres du couvain; les abdomens de 50 individus sont broyés dans 5 ml d'eau à l'aide d'un mortier et d'un pilon. Quand les fragments de tissu deviennent assez fins, la suspension est filtrée au travers de 2 couches de tissu de type mousseline placées sur un entonnoir au dessus d'un tube gradué à centrifuger. Le pilon et le mortier sont rincés avec 5 ml d'eau. Ce deuxième sous-échantillon est également filtré. Les contenus des tubes sont égalisés avec de l'eau; les suspensions sont ensuite centrifugées à 800 g pendant 6 min. Les surnageants sont décantés et les tubes sont complétés à 10 ml.

En utilisant des micropipettes jetables et une poire en caoutchouc, les culots sont remis en suspension par aspirations-refoulements répétés. Quand la solution semble être homogène, un volume d'échantillon est pris et déposé sous la lamelle d'un hémocytomètre, et observé avec un microscope photonique au grossissement x 400. Le calcul du nombre de spores est obtenu en utilisant la méthode de CANTWELL (1970). L'échelle de classification de l'infection utilisée pour déterminer le degré de l'infestation des colonies d'abeilles par la nosérose en fonction du nombre de spores est la suivante (SOESENSEN, 2009):

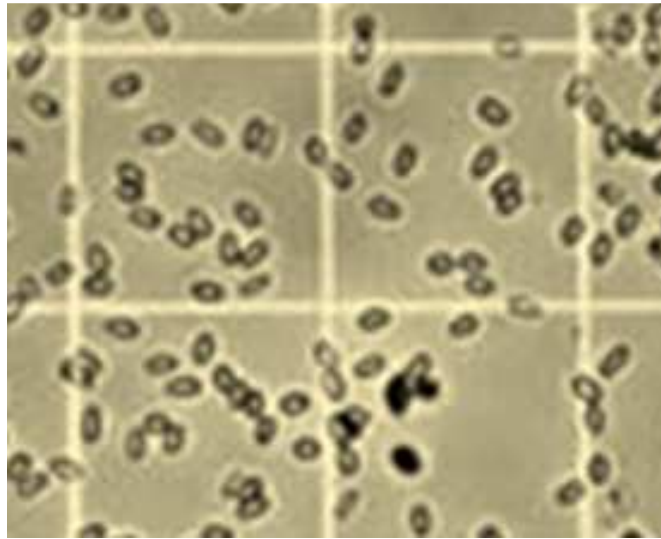
- 1 : très forte infection (plus de 5 millions de spores par abeille)
- 2 : infection forte (2 à 5 millions de spores par abeille)
- 3 : infection faible (0,5 à 2 millions de spores par abeille)
- 4 : très faible infection (0 -0,5 millions de spores par abeille)
- 5 : Pas d'infection

#### **4.1.5. – Méthode d'analyse statistique des résultats**

Les données obtenues sont analysées avec le logiciel Statistica version 5.0 suivant le processus d'analyse de variance (Anova). La comparaison des moyennes est faite par le test de Newman – Keuls au seuil de 5 %.

## 4.2.- Résultats et discussion

Après observation avec le microscope photonique, les spores de *Nosema* semblent transparentes avec un contour foncé très distinct, mesurant entre 5 et 7  $\mu\text{m}$  de long et 3 à 4  $\mu\text{m}$  de large (Fig. 27). Les résultats de la prévalence de la nosérose sont représentés dans la figure 28. Il est mis en évidence la présence d'un <sup>c</sup>taux très élevé de cas de colonies d'abeilles malades dans les cinq régions étudiées (40,5 %). A l'échelle mondiale, plusieurs travaux de recherche ont porté sur la répartition de la nosérose au sein des colonies d'abeilles, notamment en Europe comme en Espagne (HIGES *et al.*, 2008), dans le Nord.-Ouest de la Turquie (AYDIN *et al.*, 2006), en France (CHAUZAT *et al.*, 2007), au Danemark, en Finlande, en Allemagne, en Grèce, en Hongrie, en Italie et en Serbie (KLEE *et al.*, 2007)) et en Asie entre autres à Taiwan (HUANG *et al.*, 2007). Les recherches menées sur *Nosema* indiquent que l'infestation atteint son taux le plus élevé pendant les saisons humides de l'année (FRIES, 1988; HUANG *et al.*, 2007). Précisément, dans une recherche menée en Turquie, 23,8 % des 168 colonies étudiées sont infectées par *Nosema* pendant la période printanière (AYDIN *et al.*, 2006). Dans les régions méditerranéennes où l'humidité est élevée en été, l'infection est également forte au cours de cette même période (MARTIN-HERNANDEZ *et al.*, 2007). En Iran, l'infection des colonies d'abeilles par *Nosema* atteint son plus haut niveau au printemps (LOTFI *et al.*, 2009). Il se produit un décalage dans le temps dans le Bassin méditerranéen puisqu'en Espagne, le maximum de l'infestation est enregistré au printemps et le taux le plus faible en été (HIGES *et al.*, 2006). Récemment, COPLEY et JABAJI (2012) signalent à travers une étude faite en 2009 et en 2010 au Canada que le taux d'infestation par *Nosema apis* est de 29 % avec des pics saisonniers détectés au printemps et en automne. Une infection typique par *Nosema* donne un niveau bas de spores, voire indétectable pendant l'été (FLUTOM, 2007). Il est à mentionner le faible niveau de l'infection en automne, suivi par une augmentation d'abord lente en hiver, puis rapide au printemps lorsque le nourrissage du couvain et le nettoyage s'intensifient alors que la température s'élève dans la colonie. En plus des conditions climatiques favorables à l'augmentation de la prévalence de la nosérose, d'autres facteurs peuvent expliquer cette forte infestation des colonies, comme le miellat produit par les Homoptères et ramené dans les ruches qui laisse des résidus dans l'intestin de chaque abeille en hiver, ce qui favorise le développement de *Nosema* (FAUCON, 1992).



**Figure 27** - Observation des spores de *Nosema sp* (Gr x 400) (Original)



**Figure 28** - Prévalences de la nosérose dans les régions de Blida, d'Alger, de Boumerdes, de Bouira et de Tipaza en février-mars 2010

a- b- c : les lettres différentes indiquent une différence significative  $p < 0,05$  après l'analyse de la variance et le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %.

La forte infestation des colonies peut être due à la sensibilité de certaines races d'abeilles. C'est le cas des races italienne et caucasienne (FAUCON, 1992). Pourtant selon MALONE et STEVANOVIC (1999) il n'y a aucune différence entre la race italienne et la race noire face à

l'infection par *Nosema*. Aucune étude n'est menée jusqu'à présent sur la sensibilité des deux races d'abeilles locales, tellienne et saharienne à l'égard de la nosérose. Une colonie fortement parasitée par *Varroa destructor* constitue un champ favorable pour le développement de la nosérose (ORANTES BERNEJO et GARCIA FERNANDEZ, 1997; BARBANCON et L'HOSTIS, 2007; COLIN et al., 2007). AYDIN et al. (2006) soulignent que la présence dans une ruche de couvain atteint de la mycose due à *Ascosphaera apis* augmente l'incidence de la de la nosérose. Par ailleurs, une mauvaise hygiène de l'élevage induite par l'utilisation prolongée pendant plusieurs années des mêmes cadres constitue une autre source favorisant le développement de la *Nosema* sp. (FRIES, 1988). Enfin, la faible présence dans la ruche de pollen, source de protéines, favorise aussi le développement de cette maladie (FRIES, 1995).

La comparaison de la prévalence entre les cinq zones étudiées montre que les ruchers situés dans la zone de Boumerdès enregistre le taux d'infestation le plus élevé (56 %) (Tab. 7). Ce pourcentage correspond à une différence largement significative ( $p < 0,05$ ) par rapport à ceux notés dans les autres zones, celles d'Alger (41 %), Blida (37 %), Tipaza (36 %) et Bouira (29 %).

**Tableau 7-** Recherche de différence significative par une ANOVA entre le taux de prévalence de la nosérose entre les zones étudiées

| Source des variations     | Somme des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F          | Probabilité | Valeur critique pour F |
|---------------------------|------------------|------------------|--------------------|------------|-------------|------------------------|
| Entre Groupes             | 4112,9236        | 4                | 1028,2309          | 4,24809984 | 0,01193596  | 2,8660814              |
| A l'intérieur des groupes | 4840,898         | 20               | 242,0449           |            |             |                        |
| Total                     | 8953,8216        | 24               |                    |            |             |                        |



Aucun symptôme aigu de nosérose n'a été relevé à l'occasion des prélèvements d'abeilles. Selon FRIES (1988) l'infection peut aboutir à des diarrhées. Elle se traduit par des tremblements chez les imagos d'abeilles, par une incapacité à voler et par un déclin de la colonie jusqu'à sa disparition. Il est généralement admis que *Nosema sp.* est répandue dans les zones froides et que la gravité de l'infection se limite aux régions à hiver long (MOELLER, 1978). BAILEY (1981) indique que les causes qui favorisent le développement de cette pathologie sont liées essentiellement durant les hivers longs au confinement prolongé de l'abeille à l'intérieur de la ruche, ce qui favorise une dissémination active de *Nosema*. LANGRIDGE (1961) a déjà identifié deux principales périodes de forte mortalité, soit mars-mai et août-novembre et que des épidémies graves de nosérose semblent être lancées à l'automne et se terminent au printemps.

MARTIN-HERNANDEZ *et al.* (2007) ont confirmé pour leur part que le pic de l'infestation par *Nosema* est remarqué au printemps, après l'analyse d'échantillons d'abeilles pris en Espagne de 1999 à 2005. Selon BARRONCON et L'HOSTIS (2007) le nombre d'individus infectés par *Nosema* a tendance à baisser au cours de l'hiver, d'autant plus vite que les températures s'élèvent. Selon une étude faite en Afrique du Sud, la plus forte incidence de la maladie apparaît dans les zones forestières à cause du manque de lumière directe du soleil sur les colonies placées dans ces milieux boisés, ce qui pourrait nuire à la bonne régulation de la chaleur et de l'humidité à l'intérieur des nids et étouffer les colonies. Ces conditions défavorables sont propices à la maladie (SWART, 2003). Les plus fortes précipitations dans la zone de Boumerdès constituent un autre facteur qui justifie la forte présence de la nosérose dans les ruchers, contrairement à ceux des alentours d'Alger et de Blida (Fig. 29 et 30). Effectivement, de nombreuses études montrent une forte corrélation entre la quantité de précipitations et le niveau de l'incidence de la maladie (FRIES, 1988 ; LOTFI *et al.*, 2009).

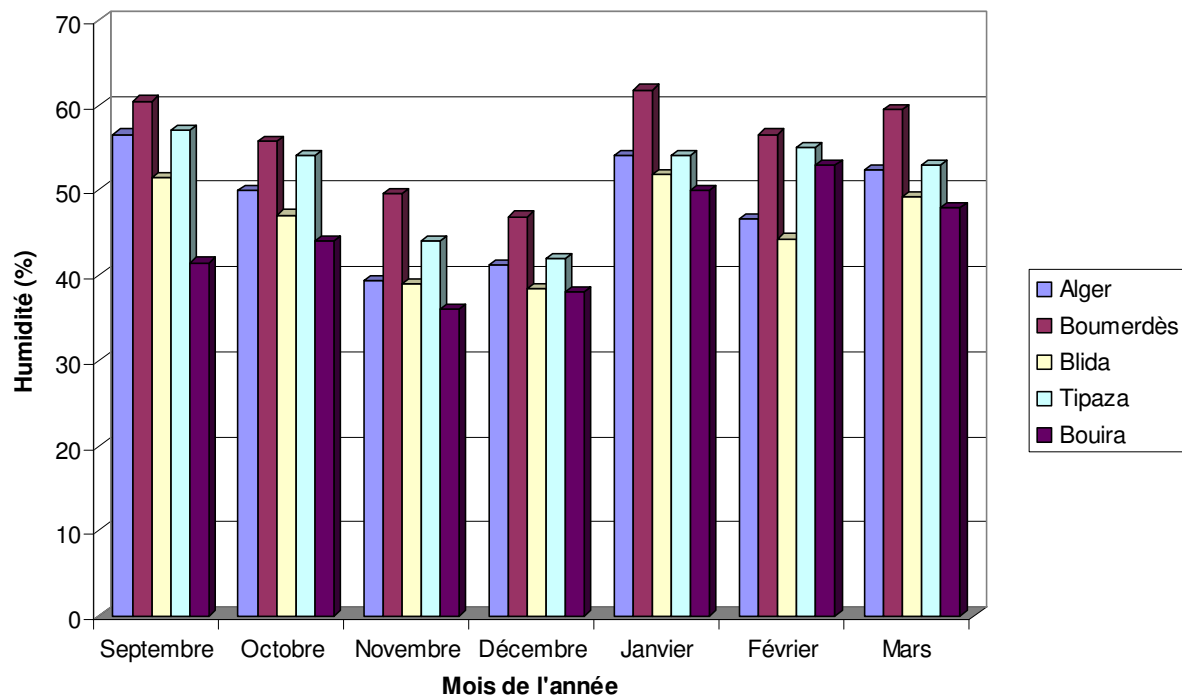
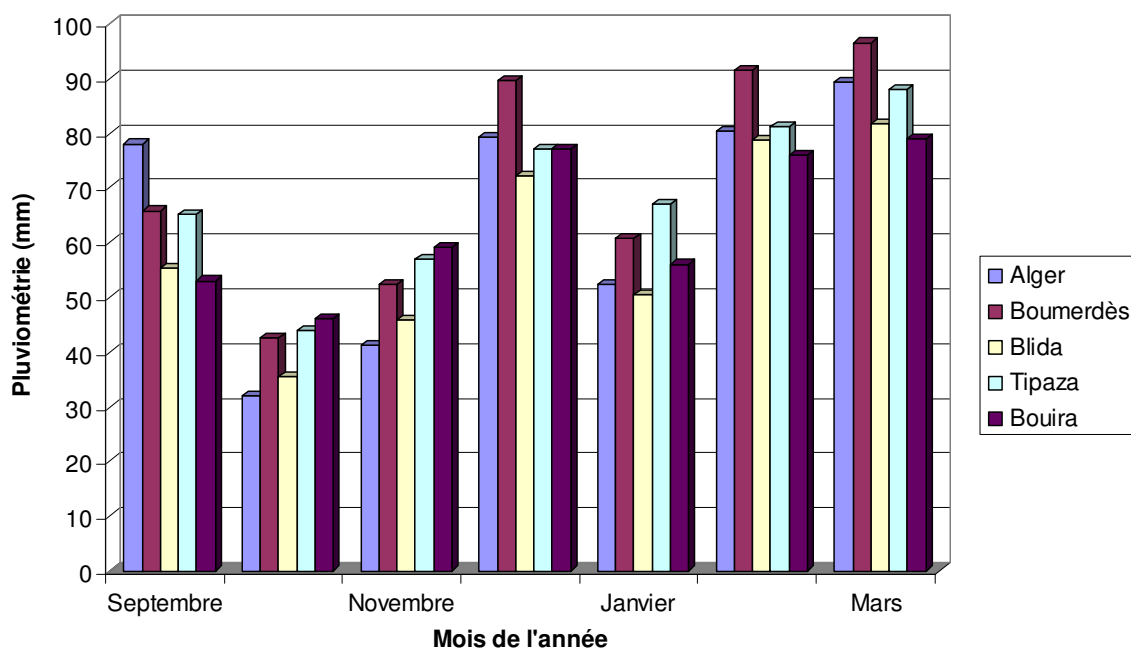


Figure 29 - Humidité enregistrée dans la région d'étude entre septembre et mars 2010



**Figure 30** - Pluviométrie enregistrée dans la région d'étude entre septembre et mars 2010

Dans le cas de la nosébose, le nombre moyen de spores par abeille est habituellement utilisé pour évaluer le niveau d'infection de la colonie : une forte relation de proportionnalité est établie entre le nombre de spores par abeille et le degré d'infestation de la colonie (FURGALA et HYSER, 1969). En fonction de la classification de SOERENSEN (2010) les taux des abeilles infestées par les spores de *Nosema sp.* dans les régions d'étude sont rassemblés dans le tableau 8. Presque la moitié des échantillons contaminés par les spores de *Nosema* contiennent plus de 5 millions de spores par abeille. Cette proportion est supérieure par rapport aux contaminations de niveaux 2, 3 et 4 (Tab. 8). Selon MUSSEN *et al.* (1975) le seuil d'infestation de 10 millions environ de spores par abeille est responsable des fortes mortalités hivernales et des pertes de reines. Déjà en 1970 CANTWELL signale que l'intestin des abeilles fortement infestées peut contenir jusqu'à 180 millions de spores. Le nombre très élevé de spores en combinaison avec d'autres facteurs comme la varroase, des conditions climatiques défavorables, le manque de provisions dans la colonie, peut expliquer les cas de mortalité rapportés par les apiculteurs dans les zones prises en considération (ADJLANE, 2009). *Nosema sp.* est appelée tueur silencieux, en raison de son développement insidieux (AIRRIERE, 2001). Les abeilles meurent, le plus souvent dans la nature, ce qui engendre une dépopulation progressive qui peut passer inaperçue aux yeux de l'apiculteur (DOTTIN, 1986).

**Tableau 8** - Répartition (en %) des échantillons d'abeilles infestées par des spores de *Nosema sp.* près de Blida, d'Alger, de Boumerdes, de Bouira et de Tipaza

| Echelle de classification | Boumerdès | Blida | Alger | Bouira | Tipaza |
|---------------------------|-----------|-------|-------|--------|--------|
| 1                         | 56        | 62    | 46    | 40     | 39     |
| 2                         | 14        | 25    | 17    | 23     | 32     |
| 3                         | 23        | 10    | 22    | 11     | 13     |
| 4                         | 7         | 13    | 15    | 24     | 16     |

1, 2, 3, 4 : l'échelle de classification de SOESENSEN (2009)

Une forte infection des colonies d'abeilles par la nosérose provoque une baisse de la production de miel. D'après HUCORNE (2002) une chute de 50 % de la production de miel est remarquée dans une ruche où le taux d'infestation par *Nosema* est de 5 à 25 %. Cette réduction atteint 80 % dans une ruche infestée entre 30 et 50 %. En effet, *Nosema* sp. réduit la durée de vie des ouvrières de plus de la moitié (KLEINSCHMIDT et FERGUSON, 1989). Ce champignon perturbe la physiologie de l'abeille en réduisant le développement des glandes hypopharyngiennes (DOTTIN, 1986), en provoquant l'atrophie des ovaires et en diminuant le développement des glandes cirières (FAUCON, 1992). Il entraîne également une diminution rapide des capacités protéolytiques de l'abeille (MALONE et GATEHOUSE., 1998). Les répercussions de cette infection sont considérés comme égaux ou supérieurs aux pertes causées par toutes les autres maladies réunies, y compris les maladies du couvain plus facilement diagnostiquées (MUSSEN *et al.*, 1975).

Depuis quelques années, le parasite *Nosema ceranae*, qui n'était alors connu que sur l'espèce asiatique *Apis cerana*, est apparu chez *Apis mellifera* pour la première fois noté en 2005 (HUANG *et al.*, 2007). La maladie provoquée par *Nosema ceranae* est aujourd'hui appelée nosérose type C et elle est considérée comme l'une des menaces majeures pour les colonies d'abeilles. MAYACK et NUAG (2009) avancent l'hypothèse que la présence de *Nosema* dans la colonie serait l'une des explications de l'absence de cadavres d'abeilles autour des ruches atteintes de CCD (Colony Collapse Disorder). Contrairement à *Nosema apis*, HIGES *et al.* (2010) ont prouvé que des facteurs tels que l'accès à du pollen frais, d'origines diverses, ou encore la variation des conditions d'humidité et de température tout au long de l'année ne semblent apparemment pas influencer le développement du parasite au sein des ruches. Evidemment, la question reste posée sur la proportion de *Nosema apis* et de *Nosema ceranae* en Algérie. Des études complémentaires sont nécessaires pour pouvoir répondre à cette interrogation

# CHAPITRE V

## **Chapitre V - Détection du virus des ailes déformées dans les colonies d'abeilles locales**

Après avoir abordé la nosérose et la loque américaine, il est traité à présent d'une maladie virale très dangereuse des abeilles mellifères celle due au virus des ailes déformées le D.W.V. (Deformed Wing Virus). Une fois la méthodologie exposée, les principaux résultats sont présentés et discutés.

### **5.1. - Méthodologie adoptée concernant le virus des ailes déformées des abeilles**

Parmi les parties abordées, la présentation de la zone d'étude et du matériel biologique utilisé est faite en premier. Elle est suivie par la technique d'échantillonnage et le calcul du taux d'infestation du couvain et des abeilles par les varroas. La méthode utilisée au laboratoire pour la détection du virus est décrite.

#### **5.1.1. - Lieu d'étude**

L'échantillonnage est réalisé dans un rucher situé dans la région de Bougara près de Blida. La région de Blida est considérée comme l'une des principales régions mellifères de la plaine de la Mitidja

#### **5.1.2. - Matériel biologique**

Le rucher d'étude est constitué au départ de 45 colonies. Il a subi de lourdes pertes durant l'hiver 2011-2012. De ce fait, à la fin de l'hiver, il reste uniquement 19 colonies. Le matériel biologique utilisé dans la présente étude est représenté par des abeilles ouvrières adultes d'*Apis mellifera intermissa* d'âges indéterminées. Les colonies sont déjà traitées contre la varroase dès juin 2011 avec l'amitraz en gouttes en deux applications séparées par un intervalle de temps d'une semaine.

#### **5.1.3. - Prélèvement des échantillons**

Les échantillons d'abeilles adultes sont prélevés au hasard à l'intérieur des colonies. Ils sont transportés dans des sachets en matière plastique sur de la glace et stockés à -25 ° C. jusqu'à leur utilisation.

#### **5.1.4. - Méthode expérimentale d'estimation du taux d'infestation du couvain par *Varroa***

Un échantillon de 100 cellules du couvain naissant sont ouvertes, ceci afin de déterminer le taux d'infestation du couvain. C'est une méthode qui exige une bonne connaissance du *Varroa* et de ses formes immatures..

Le taux d'infestation du couvain (T.i.c.) est déterminé par l'équation suivante :

$$\text{T.i.c. (\%)} = \frac{\text{Nombre de cellules infestées par Varroa}}{\text{Nombre de cellules ouvertes}} \times 100$$

#### **5.1.5. - Méthode expérimentale d'estimation du taux d'infestation des abeilles par *Varroa***

Il est nécessaire de secouer deux cadres du couvain au dessus d'un film en matière plastique avant de récupérer les abeilles dans un pot en verre. Il suffit d'ajouter de l'alcool puis d'agiter vigoureusement le contenu du pot pendant une minute. Ensuite, le contenu du pot est versé sur un double tamis. Le 1<sup>er</sup> tamis laisse passer les varroas seulement sans les abeilles. Quant au 2<sup>ème</sup>, il empêche les varroas de passer). Un rinçage abondant à l'eau des abeilles est effectué. Le comptage des varroas présents dans le second tamis suit l'opération précédente. Une fois le comptage des acariens fait, le pourcentage d'infection par échantillon est déterminé (OIE, 2005). C'est une règle de trois qui permet de connaître le taux d'infestation des abeilles (T.i. a.)

$$\text{T.i.a. (\%)} = \frac{\text{Nombre de Varroas phorétiques trouvés}}{\text{Nombre d'abeilles prélevées}} \times 100$$

### 5.1.6.- Méthodologie de détection du virus DWV

Pour l'analyse des virus, 10 à 12 abeilles sont prises au hasard au sein de chaque échantillon et placées dans des sacs stériles en matière plastique à l'aide de pinces également stériles avec 10 ml de phosphate buffer salin (PBS). Les abeilles sont écrasées durant 2 minutes à grande vitesse dans un mélangeur. L'homogénat qui en résulte est centrifugé à 1500g ou tours par minute pendant 10 minutes. Le surnageant est récupéré et centrifugé à nouveau à 12.000 g durant 15 minutes. Une quantité de 140 µl du surnageant est prélevée en vue de l'extraction de l'ARN viral. L'ARN est extrait en utilisant un Kit commercial produit en Allemagne : NucleoSpin® RNA II (ACHEREY-NAGEL) selon les indications du fabricant (Annexe 2). La transcription inverse de l'ARN et l'amplification de l'ADN sont effectuées en utilisant un processus continu par la Méthode RT-PCR avec le kit RT-PCR kit (Qiagen) conformément aux recommandations du fabricant. Les amorces utilisées pour amplifier le virus recherché sont présentées dans le tableau 9. Le programme de RT-PCR comprend une étape de transcription inverse à 50 ° C pendant 30 minutes, suivie par une phase d'activation initiale PCR à 95 ° C pendant 15 minutes. Elle est suivie par 40 cycles à 94 ° C pendant 1 minute, à 55 ° C durant 1 min, et à 72 ° C pendant 1 minute. Une étape d'extension à 72 ° C pendant 10 minutes intervient. Les produits sont visualisés par électrophorèse dans 0,6 % (poids / volume) des gels d'agarose colorés avec le bromure d'éthidium (GUATHIER *et al.*, 2007).

**Tableau 9** - Primers utilisés dans la détection du DWV

| Primers | Séquences            | Longueur (pb) | Référence                         |
|---------|----------------------|---------------|-----------------------------------|
| DWV 1   | TTTGCAAGATGCTGTATGTG | 395           | TENTCHEVA<br><i>et al.</i> (2004) |
| DWV2    | GTCGTGCAGCTCGATAGGAT |               |                                   |

DWV 1 et 2 : les amorces (primers) utilisés au cours de la présente étude, chaque amorce est une courte séquence d'ADN simple brin de 20 bases.

pb : paires de bases ou base pair en anglais



## 5.2.- Résultats et discussion

Les taux d'infestation des colonies étudiées par le virus de DWV sont portés dans la figure 31 et le tableau 10. Sur l'ensemble des 19 ruches, 8 sont caractérisées par la présence du virus DWV, soit 42,1 % des échantillons contaminés par le virus (Tab. 8). À ce jour, environ 18 virus d'abeilles sont identifiés à travers le monde (BAILEY et BALL, 1991; CHEN *et al.*, 2004; FIEVET *et al.*, 2006). Ces virus provoquent généralement des infections inapparentes et peuvent ne pas être détectés par les apiculteurs durant de nombreuses années. Parmi les virus les plus dangereux, le virus des ailes déformées (DWV) est un virus ARN à brin positif qui a été initialement isolé pour la première fois à partir d'abeilles adultes (*Apis mellifera*) et des acariens *Varroa destructor* au Japon (BAILEY et BALL, 1991). L'hôte principal du DWV est l'abeille *Apis mellifera*, où il est présent dans le monde entier (ALLEN et BALL, 1996; NORDSTROM *et al.*, 1999; CALDERON *et al.*, 2003; TENTCHEVA *et al.*, 2004; BERENYI *et al.*, 2006; ; CHANTAWANNAKUL *et al.*, 2006; FORGACH *et al.*, 2008; SANPA *et al.*, 2009). C'est le virus est largement étudié déjà au cours des dernières années (GRABENSTEINER *et al.*, 2000; HUANG, 2000; BENJEDDOU *et al.*, 2001; BAKONYI *et al.*, 2002; TENTCHEVA *et al.*, 2004; CHEN *et al.*, 2005; YUE et GENERSCH, 2005; CHANTAWANNUKUL *et al.*, 2006; WILLIAMS et al., 2009; MARTIN et al., 2010; ZIONI et al., 2011; YANEZ et al., 2012). C'est le virus le plus fréquemment retrouvé dans les échantillons analysés. Sa fréquence augmente dans les ruches, du printemps jusqu'en automne. Il est très lié à *Varroa*, qui joue à la fois le rôle de vecteur et celui d'activateur viral. Près de 98 % des *Varroa* analysés en contiennent (TENTCHEVA *et al.*, 2004). Ce virus doit son nom à la déformation qu'il entraîne. Il persiste dans les colonies sous une forme latente sans signes cliniques, attendant le moment propice pour se développer, telle que l'infection par *Varroa*. Cette contamination combinée provoque une mortalité du couvain, des abeilles naissantes mais aussi des vieilles abeilles. Cette maladie est responsable de malformations morphologiques et de la dégénérescence des ailes des abeilles. Celles-ci deviennent non viables et sont exclues de la ruche par les anciennes abeilles encore saines. Au niveau de la colonie, une forte infestation par le DWV peut induire des mortalités importantes et un effondrement des colonies. Ce virus peut être détecté dans les œufs, dans les larves, les nymphes et les abeilles adultes. Ces dernières présentent des malformations des ailes bien qu'elles soient en bonne santé (CHEN *et al.*, 2005).



**Figure 31-** par électrophorèse sur gel, recherche de virus DWV dans les échantillons d'abeilles

bp : paires de bases

M : marqueur moléculaire

T1 : témoin négatif

T2 témoin positif

1,2.....19 : Echantillons d'abeilles

**Tableau 10** - Détection du virus DWV dans les échantillons d'abeilles adultes, et évaluation du taux d'infestation des abeilles adultes et du couvain

| N° des Colonies | Présence de DWV | Taux d'infestation par le <i>Varroa</i> Phorétique | Taux d'infestation par le <i>Varroa</i> dans le couvain |
|-----------------|-----------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| 1               | +               | 3,58                                               | 7                                                       |
| 2               | -               | 4,65                                               | 12                                                      |
| 3               | +               | 2,80                                               | 15                                                      |
| 4               | +               | 3,67                                               | 9                                                       |
| 5               | +               | 5,35                                               | 11                                                      |
| 6               | -               | 3,35                                               | 9                                                       |
| 7               | +               | 4,66                                               | 12                                                      |
| 8               | +               | 3,25                                               | 10                                                      |
| 9               | -               | 4,90                                               | 13                                                      |
| 10              | +               | 7,55                                               | 7                                                       |
| 11              | -               | 5,60                                               | 3                                                       |
| 12              | +               | 6,45                                               | 12                                                      |
| 13              | -               | 7,85                                               | 14                                                      |
| 14              | +               | 8,1                                                | 16                                                      |
| 15              | -               | 3,26                                               | 13                                                      |
| 16              | -               | 2,85                                               | 13                                                      |
| 17              | -               | 5,10                                               | 9                                                       |
| 18              | -               | 2,05                                               | 8                                                       |
| 19              | -               | 6,85                                               | 7                                                       |

L'infection avec le DWV est détectée aussi sur l'abeille asiatique *Apis cerana* et l'abeille naine *Apis Florea* (ELLIS et MUNN, 2005). Récemment, elle est notée sur les bourdons (*Bombus terrestris*, *Bombus pascuorum*) présentant des déformations des ailes (GENERSCH *et al.*, 2006).

La présente étude explique que probablement c'est là l'une des causes de l'effondrement des colonies d'abeilles au niveau du rucher étudié. L'apiculteur gestionnaire de ce rucher a perdu environ 58 % de son cheptel apicole, ce qui met en évidence le rôle négatif joué par les virus. HADDAD *et al* (2008) indiquent à travers une étude que le DWV est le virus le plus commun responsable des pertes de colonies en Jordanie. Le même constat est fait dans d'autres pays par plusieurs études (TOPLEY *et al.*, 2005; AUTUNEZ *et al.*, 2006; BERENYI *et al.*, 2006; 2007). En suisse, le DWV semble être le virus le plus prévalent. Il est présent dans tous les ruchers (13/13 soit 100%) selon DAINAT *et al.* (2008) et 65 % des colonies analysés en 2004 d'après BERTHOUD *et al.* (2005). Une étude réalisée en 2006 par GRABENSTEINER *et al.* (2007) fait remarquer que parmi les ruchers ayant subi des pertes importantes, le virus ABPV (Acute Bee Paralysis Virus, responsable de la paralysie aiguë des abeilles) est détecté dans 60 % des colonies fortement atteintes, alors que le DWV est présent dans presque toutes les colonies. Par contre sur 60 échantillons provenant de colonies ayant bien hiverné, aucune ne comporte de virus ABVP et 13 présentent une légère infestation par le DWV. Le même constat est signalé en France par le rapport de TENTCHEVA *et al.* (2004) qui ont montré que 97 des ruchers étudiés sont contaminées par le DWV. Toutes ces études sont confirmées récemment par MARTIN *et al.* (2012). Ces auteurs signalent que l'association entre le virus et *Varroa destructor* est responsable de la mort de milliers de colonies à au niveau de la région de Hawaï. *Varroa destructor* est un acarien parasite qui se nourrit sur les abeilles autant à l'état de nymphes qu'à celui d'adultes. Il peut servir de vecteur pour transmettre le virus (BAILEY et BALL, 1991; BOWEN-WALKER *et al.*, 1999 ; DI PRISCO *et al.*, 2011). Le virus peut être transmis horizontalement lorsque l'acarien se nourrit sur une abeille non infectée (BOWEN-WALKER *et al.*, 1999). Le second mode de transmission virale est vertical. En effet quand une reine est contaminée par le DWV, celui-ci est localisé dans ses ovaires et sa spermathèque. Dans ce cas la reine peut pondre des œufs infestés. Le virus peut également se transmettre verticalement depuis la reine infectée vers les larves par contact direct (CHEN *et al.*, 2006; DE MIRANDA et FRIES, 2008).

L'analyse du taux d'infestation des colonies par le *Varroa* expliquent clairement son association avec le virus DWV et les mortalités enregistrées au niveau du même rucher. En ce qui concerne l'infestation des colonies par la varroase, toutes les colonies sont infestées par *Varroa* à des taux différents. Le taux d'infestation par le *Varroa* phorétique varie entre 2,5 et 7,9 % avec une moyenne pour l'ensemble des colonies de 4,5 %. Lors de la phase de phorésie, pour se nourrir la femelle adulte de *V. destructor* réalise régulièrement des ponctions d'hémolymphe sur l'hôte qu'elle parasite. Lors du premier cycle de reproduction, la phase de phorésie est obligatoire pour permettre la maturation de l'appareil reproducteur de la jeune femelle *Varroa* (EL GHAZAWI et ZEITOUN, 1993). AKIMOV *et al.* (1988) indiquent que suite à la période de phorésie, la première ponte chez *Varroa* débute 5 à 14 jours après la sortie de la jeune femelle de l'alvéole du couvain où elle est née. À partir du second cycle de reproduction, la phase de phorésie ne semble plus obligatoire (DE RUIJTER, 1987).

À propos de l'infestation des acariens dans le couvain, le taux varie entre 3 et 16 % avec une moyenne d'infestation de 10,9 %. RITTER *et al.* (1984) soulignent que, dans les colonies fortement infestées par *Varroa*, les ouvrières abandonnent le couvain âgé et fortement infesté et par conséquent le couvain périt en raison d'un refroidissement provoqué par une réduction de la force de la colonie. Selon deux études indépendantes, la production du couvain et la population d'abeilles ont été comparées entre colonies infestées ou non par *Varroa* (DOWNEY et WINSTON, 2001; MAURILHAS, 2002). Les résultats obtenus mentionnent que les colonies fortement infestées par *Varroa* avaient moins de couvain et d'abeilles, ce qui correspond à un affaiblissement général. Ces taux élevés d'infestation enregistrés au cours de la présente étude peuvent être expliqués par le mauvais choix du traitement utilisé par l'apiculteur. L'amitraz en goutte est un produit non homologué, il est caractérisé par son efficacité très faible (ADJLANE, 2009).

La comparaison des taux d'infestation par les acariens sur les abeilles entre les colonies avec ou sans DWV montre que les ruches contaminées par le virus présentent un taux plus élevé soit 5,04 % contre 4,46 %. L'analyse de la variance entre les deux groupes ne montre aucune différence significative ( $P = 0,21$ , Tab.11). Pour ce qui est du taux d'infestation du couvain, le groupe des colonies infestées par le DWV enregistre le pourcentage le plus élevé soit 11 % contre 10,1 % pour les colonies non infestées. L'ANOVA ne montre aucune différence significative entre les deux groupes ( $p = 0,56$  ; Tab. 12).

**Tableau 11** - Recherche de différence significative par une ANOVA entre les taux d'infestation par des *Varroa* phorétiques sur deux groupes d'abeilles infestées et non infestées

| Source des variations              | Somme des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F          | Probabilité | Valeur critique pour F |
|------------------------------------|------------------|------------------|--------------------|------------|-------------|------------------------|
| Entre Groupes<br>A l'intérieur des | 0,75621146       | 1                | 0,75621146         | 0,21428969 | 0,64929641  | 4,45132169             |
| Groupes                            | 59,9916622       | 17               | 3,52892131         |            |             |                        |
| Total                              | 60,7478737       | 18               |                    |            |             |                        |

**Tableau 12** - Recherche de différence significative par une ANOVA entre les taux d'infestation par des *Varroa* du couvain sur deux groupes d'abeilles infestées et non infestées

| Source des variations              | Somme des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F          | Probabilité | Valeur critique pour F |
|------------------------------------|------------------|------------------|--------------------|------------|-------------|------------------------|
| Entre Groupes<br>A l'intérieur des | 3,83684211       | 1                | 3,83684211         | 0,34167792 | 0,56653965  | 4,45132169             |
| groupes                            | 190,9            | 17               | 11,2294118         |            |             |                        |
| Total                              | 194,736842       | 18               |                    |            |             |                        |

Selon CHEN *et al.* (2005) l'observation d'une corrélation positive entre le niveau d'infestation par *Varroa destructor* et le niveau de concentration virale chez les abeilles infestées suggèrerait que *Varroa destructor* joue, outre son rôle de vecteur, celui d'activateur de la réplication virale chez l'abeille. Le parasitisme engendrerait une baisse de l'immunité de l'abeille, ce qui favoriserait la réplication virale.

Dans les colonies d'abeilles, l'association entre le DWV avec l'infestation des acariens est largement signalée (BAILEY *et al.*, 1981; BALL et ALLEN., 1988; CHEN *et al.*, 2004). La mortalité causée par le DWV est souvent rapportée comme étant associée à des taux d'infestation élevés par *Varroa destructor* (MARTIN *et al.*, 1998; NORDSTROM, 2000; MARTIN, 2001; SANTILLAN-GALICIA *et al.*, 2008; MARTIN *et al.*, 2010). En présence de *Varroa*, DWV provoque des symptômes distinctifs, tels que des malformations des ailes, le gonflement de l'abdomen, la réduction de la taille de l'abeille émergente, la paralysie, et éventuellement la mortalité des abeilles (BAILEY et Ball, 1991; BOWEN -WALKER *et al.*, 1999; FIEVET *et al.*, 2006; LANZIL *et al.*, 2006). Des particules virales sont notamment présentes dans les glandes salivaires de l'acarien (CICERO et SAMMATARO, 2010). Ce phénomène est mis en évidence pour le DWV (BOWEN-WALKER *et al.*, 1999). BOWEN-WALKER *et al.* (1999) concluent à partir de données de terrain que l'acarien est un vecteur très efficace de ce virus. Une autre étude dans la nature démontre que les infections par le DWV dans les abeilles nouvellement émergentes sont fortement corrélées au parasitisme nymphal (NORDSTROM, 2003).

Les colonies contaminées par le DWV ne présentent en général aucun dommage apparent pendant une longue période. Mais le plus souvent, en relation avec d'autres infections, les colonies se développent très lentement ou périssent. C'est la combinaison avec *Varroa destructor* qui est la plus dangereuse pour les abeilles. DAINAT et al (2008) rapportent que le DWV, qui effectue un changement d'hôte, c'est-à-dire qui passe du *Varroa* à l'abeille, devient plus virulent. HIGHFIELD *et al.* (2009), par contre rapportent qu'il n'y a aucune corrélation systématique entre le taux d'infestation parasitaire par le *Varroa* et la présence du virus DWV. Ces mêmes auteurs suggèrent qu'il ya un autre facteur non identifié qui pourrait agir en association avec le DWV pour réactiver ce virus en période hivernale ce qui entraînerait des mortalités de colonies. Les causes du déclin d'une colonie sont souvent multiples et ne peuvent être ramenées à un seul agent pathogène (FLURI *et al.*, 1998). Elles peuvent être liées selon FAUCON (1992) à des conditions climatiques défavorables, à des maladies et dans certains cas à des intoxications et de faibles miellées.

Le déclenchement d'une maladie dépend du nombre d'agents contagieux et de l'intensité avec laquelle ils se manifestent (FLURI *et al.*, 1998). Selon ces derniers auteurs, l'état pathologique d'une colonie résulte d'un déséquilibre entre d'une part la vitalité et la résistance aux infections de la colonie, et d'autre part, l'activité et la pression de l'infection exercée par l'agent pathogène. Les dommages causés par *Varroa* à l'abeille sont directement liés au niveau d'infestation du *Varroa* dans les colonies (MORETTO et MELLO, 2000). Une forte infestation provoque un affaiblissement de la colonie, ce qui constitue une porte d'entrée pour d'autres agents pathogènes.

# **CONCLUSION GENERALE**



## Conclusion générale

Les résultats de la première partie de ce travail présentent les principaux obstacles de développement de l'apiculture en Algérie, ainsi que les principaux problèmes liés à la santé des abeilles. L'analyse de l'enquête a mis en évidence l'influence négative sur les abeilles des principales pathologies apicoles telles que la varroase, la loque et la nosérose), les intoxications des abeilles par les traitements insecticides, ainsi que la dégradation de l'écosystème avec la diminution de la flore mellifère. L'utilisation des produits non homologués ou peu efficaces dans certains cas peut être l'un des facteurs expliquant en partie les mortalités observées. Dans le contexte actuel, il est très difficile d'incriminer une seule cause. Les facteurs à risques sont multiples et, souvent, interagissent entre eux. Ils sont susceptibles d'influer sur la surmortalité des abeilles domestiques en Algérie.

La loque américaine est une maladie très dangereuse qui touche le couvain. La deuxième partie de ce travail vise à étudier la prévalence de cette pathologie dans les colonies d'abeilles. En utilisant des tests microbiologiques, biochimiques et microscopiques, l'analyse des résultats obtenus montre que la bactérie *Paenibacillus larvae* est présente dans les cinq zones étudiées. Mais les populations d'abeilles sont infestées à divers niveaux. Plusieurs facteurs peuvent éventuellement expliquer cette grande variation dans la distribution de la maladie tels que le facteur climatique, et surtout le rôle de l'apiculteur dans la dissémination de la pathologie. Le caractère hautement pathogène de cette maladie et l'incapacité de la dépister précocement sont en partie responsable de sa large diffusion. Selon la gravité de la situation, les colonies d'abeilles affectées par la loque américaine seront détruites ou traitées au moyen d'interventions apicoles particulières. L'apiculteur ou le vétérinaire doit vérifier au moins deux fois par an l'absence de symptômes de la maladie sur tous les cadres du couvain au début et à la fin de la période apicole. Lorsqu'il y a un transfert d'un cadre du couvain d'une colonie à une autre, il faut vérifier le bon état sanitaire des deux ruches. Il faut appliquer la mise en quarantaine dans le rucher atteint par la maladie.

Pour ce qui concerne la nosérose, cette pathologie est présente dans toutes les zones étudiées, avec une différence dans le taux d'infestation. Le fait que la zone de Boumerdès soit caractérisée par des infestations par *Nosema sp.* significativement plus élevées que dans les alentours d'Alger, Blida, Tipaza et Bouira montre l'importante influence des facteurs du climat en particulier de l'humidité élevée suite aux abondantes chutes de pluies et de

l'allongement de la durée de l'hiver. Ainsi, l'humidité et les basses températures favorisent le développement de la nosérose. Le dépistage précoce de la maladie est un élément essentiel pour éviter les pertes de colonies. Il peut aider à empêcher la propagation de l'infection vers des colonies d'abeilles encore saines. Lorsque les colonies sont atteintes par cette maladie, la production devient un problème secondaire devant la nécessité de traiter en urgence la colonie infectée pour la sauver. Il serait utile de procéder à 4 prélèvements par an, soit 1 par saison. Cette précaution pourrait aider les apiculteurs à déterminer la tendance de l'infection par *Nosema* sp. et à évaluer l'efficacité des stratégies de contrôle de cette maladie. Il est nécessaire aussi de déterminer l'occurrence des deux espèces, *Nosema apis* et *Nosema ceranae* en utilisant les outils de la biologie moléculaire.

Les colonies d'abeilles mellifères peuvent être touchées par des virus. La PCR (Polymerase Chain Reaction) utilisée au cours de la présente étude a mis en évidence la présence du virus DWV (Deformed Wing Virus) dans les colonies étudiées. C'est la première détection en Algérie d'un virus sur les abeilles. Le rucher étudié a subi des pertes avoisinant 60 %, mortalités pouvant être expliquées par l'influence probable de ce virus. Les résultats obtenus confirment également l'influence négative de l'association DWV-Varroa sur l'affaiblissement des abeilles. En conséquence une enquête épidémiologique sur le DWV et sur d'autres virus en relation avec le *Varroa* couvrant la majeure partie du pays apparaît nécessaire pour montrer la dynamique spatiale ou temporelle de la distribution du virus.

Le seul moyen de prévenir les infections virales est d'en limiter la propagation, par une gestion sanitaire efficace des ruchers. Il est impératif de ne pas réutiliser du matériel provenant de ruches malades ou effondrées, de ne pas laisser de cadres ou de ruches à l'abandon, de ne garder que des colonies fortes pour l'hivernage et évidemment de lutter efficacement, chaque année, contre *Varroa*.

La maîtrise de ces pathologies identifiées passe impérativement par une meilleure connaissance de celles-ci, mais également par une meilleure recherche des moyens de lutte et une sensibilisation des apiculteurs à leur emploi. Il serait nécessaire à l'avenir de procéder chaque année à une enquête beaucoup plus exhaustive. Il s'agit d'approfondir le recueil d'informations sur les pratiques apicoles et sur les pathologies et sur les traitements utilisés. Autant que possible, il serait instructif d'accompagner l'enquête par des analyses de laboratoire sur les agents microbiens présents dans les ruchers algériens, de réaliser des analyses toxicologiques et de rechercher les résidus de toutes natures dans les produits de la

ruche, tout au long de la saison apicole. Ces études épidémiologiques sont nécessaires pour clarifier la transmission, la propagation et la prévalence des agents pathogènes et leurs effets sur les colonies entières des deux races d'abeilles locales *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis* dans différentes étages bioclimatiques.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références Bibliographiques

- 1- ACHOU M., 2007 - *Caractérisation morphométrique, biochimique et moléculaire des populations d'abeilles domestiques de l'Est algérien - Effets physiopathologiques de son parasite majeur Varroa destructor*. Thèse Doctorat sci. natu., Univ. Annaba, 414 p.
- 2 - ADAM J., ROTHMAN E.D., KERR W.E. and PAULINO Z.L., 1977 – Estimation of the number of sex alleles and queen matings from diploid male frequencies in a population of *Apis mellifera*. *Genetics*, 86: 583 - 896.
- 3 - ADJLANE N., 2009 - Situation épidémiologique des colonies d'abeilles dans la région centre de l'Algérie : cas de la varroase. 1<sup>ères</sup> Journées Maghrébines épideém. Anim., 9 -10 mai 2009, Univ. Saad Dahleb, Blida, p. 33.
- 4 - ADJLANE N., 2010 - Association of oxalic and lactic acid for *Varroa* control in Algeria. *First World Conference on Organic beekeeping*, 27-29 août 2010, Sunny Beach , p. 52.
- 5 - ADJLANE N. et DOUMANDJI S., 2011 - La varroase : biologie, diagnostic et traitement; situation actuelle de la varroase en Algérie. *Pratique vétérinaire*, 9 : 8 - 11.
- 6 - ADJLANE N., CHABAR N. et MAIDI A., 2011 - Evaluation des effets secondaires de l'acide oxalique sur l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* : Aspect biochimique. XXI<sup>èmes</sup> Journées nationales Biologie "de la molécule à l'écosystème", S.S.N.T., 17-20 décembre 2011, Hammamet, p. 9.
- 7 - AKIMOV I.A., STAROVIR I.S., YASTREBTSOV A.V. and GORGOL V.T., 1988 - *The Varroa mite – the causative agent of varroaosis of bees. A morphological outline*. Nukova Dumka, Kiev, 118 p.
- 8 - ALIOUANE Y., EL HASSANI A.K., GARY V., ARMENGAUD C., LAMBIN M. and GAUTHIER M., 2009 - Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effects on behavior. *Environ. Toxicol .Chem.*, 28: 113 - 122.
- 9 - ALLEN M.F., and BALL B.V., 1996 - The incidence and world distribution of honey bee viruses. *Bee World*, 77: 141 - 162.
- 10 - ALLIPI A.M., 1991 - A comparison of laboratory techniques for the detection of significant bacteria of the honeybee, *Apis mellifera*, in Argentina. *J. Apic. Res.*, 30: 75 – 80.
- 11 - ALLIPI A.M., 1999 - Disinfecting with hot paraffin. *Am. Bee. J.*, 139 (9): 657.
- 12 - ALLIPI A.M., 2000 - Is Terramycin losing its effectiveness against AFB ?. *BeeBiz*, 11: 27 – 29.

- 13** - ALLIPI A.M., REYNALDI F.J., LOPEZ A.C., DE GIUSTI M.R. and AGUILAR O.M., 2004 - Molecular epidemiology of *Paenibacillus larvae larvae* and incidence of American foulbrood in Argentinean honeys from Buenos Aires province. *J. Apic. Res.*, 43: 135 - 143.
- 14** - ALPHANDERY R., 2002 - *La route du miel: le grand livre des abeilles et de l'apiculture*. Ed. Nathan, Paris, 260 p.
- 15** - ANCIAUX de FAVAUX M., 1984 - Les acariens et les insectes parasites et prédateurs des abeilles *Apis mellifera intermissa* en Algérie. *Bull. Zool. agri., Inst. nati. agro., El Harrach*, 8 : 13 - 21.
- 16** - ANDERSON D.L., 1988 - Pathologist report. *New Zealand Beekeeper*, 199: 12 – 15.
- 17** - ANTUNEZ K., DAESSANDRO B., PICCINI C., CORBELLA E. and ZUNINO P., 2004 - *Paenibacillus larvae larvae* spores in honey samples from Uruguay: a nationwide survey. *J. Invertebr. Pathol.*, 86: 56 – 58.
- 18** - ASHIRALIEVA A. and GENERSCH E., 2006 - Reclassification, genotypes, and virulence of *Paenibacillus larvae*, the etiological agent of American foulbrood in honeybees - a review. *Apidologie*, (37): 411 – 420.
- 19** - ATKINS E. and KELLUM D., 1986 - Comparative morphogenetic and toxicity studies on the effects of pesticides on honeybee brood. *J. Apic. Res.*, (25): 242 - 255.
- 20** - AURRIERE C., 2001- Nosérose, prudence en sortie d'hiver. *La Santé de l'Abeille*, 182 (2): 96 - 98.
- 21** - AYDIN L., GUELEGEN E., CAKMAKE E., GIRISGINO F. and WELL H., 2006 - Relation between *Nosema* and chalkbrood diseases, and its complications for an apiary management model. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, (50): 471 – 475.
- 22** - BAILEY L., 1954 - The control of *Nosema* disease. *Bee World*, (35): 111-113.
- 23** - BAILEY L., 1955 - The infection of the ventriculus of the adult honeybee by *Nosema apis* (Zander). *Parasitology*, (45): 86 - 94.
- 24** - BAILEY L., 1960 - The epizootiology of European foulbrood of the larval honey bee, *Apis mellifera* Linnaeus. *J. Insect Pathol.*, 2 : 67 - 83.
- 25** - BAILEY L., 1961 - The natural incidence of *Acarapis woodi* (Rennie) and the winter mortality of honeybee colonies. *Bee World*, 42: 96 - 100.
- 26** - BAILEY L., 1962 - *Bee diseases*. Report Rothamsted exper. stat. 1961, Harpenden, 193 p.
- 27** - BAILEY L., 1963 - The pathogenicity for honey-bee larvae of microorganisms associated with European foulbrood. *J. Insect Pathol.*, 5: 198 – 205.
- 28** - BAILEY L., 1965 - Paralysis of the honey bee, *Apis mellifera* Linnaeus. *J. Invertebr. Pathol.*, 7 : 132 – 140.

- 29 - BAILEY L., 1967 - *The effect of temperature on the pathogenicity of the fungus, Ascospaera apis, for larvae of the honeybee, Apis mellifera*, pp. 162 - 167, in *Insect Pathology and Microbial Control*. Ed. P.A. Van Der Laan, North Holland publish. comp., Amsterdam, 231 p.
- 30 - BAILEY L., 1968 - The measurement and interrelationships of infections with *Nosema apis* and *Malpighamoeba mellificae* of honey bee populations. *J. Invertebr. Pathol.*, 12 : 175 - 179.
- 31 - BAILEY L., 1969 - The multiplication and spread of sacbrood virus of bees. *Ann. Appl. Biol.*, (63): 482 - 491.
- 32 - BAILEY L., 1981 - *Honey bee pathology*. Academic Press, London - New York, 125 p.
- 33 - BAILEY L., 1985 - *Melissococcus pluton* and European foulbrood. *Bee World*, 66: 134 - 136.
- 34 - BAILEY L. and BALL B.V., 1991- *Honey Bee Pathology*. Academic Press, London - New York, 125 p.
- 35 - BAILEY L. and COLLINS M.D., 1982 - Reclassification of *Streptococcus pluton* (White) in a new genus *Melissococcus*, as *Melissococcus pluton* nom. rev.; Comb. nov. *J. Appl. Bacteriol.*, 53: 215 - 217.
- 36 - BAILEY L. and GIBBS A.J., 1964 - Acute infection of bees with paralysis virus. *J. Insect Pathol.* (6): 395 - 407.
- 37 - BAILEY L. and MILNER R.G., 1969 - The multiplication regions and interactions of acute and chronic bee paralysis viruses in adult honey bees. *J. Gen. Virol.*, 4: 9 - 14.
- 38 - BAILEY L. and WOODS R.D., 1977- Two more small RNA viruses from honey bees and further observations on sacbrood and acute bee-paralysis viruses. *J. Gen. Virol.*, 37: 175 - 182.
- 39 - BAILEY L., BALL B.V. and PERRY J.N., 1981- The prevalence of viruses of honey bees in Britain. *Ann. Appl. Biol.*, 97: 109 - 118.
- 40 - BAILEY L., BALL B.V. and PERRY J.N., 1983 - Honey bee paralysis: its natural spread and its diminished incidence in England and Wales. *J. Apicult. Res.*, 22: 191 - 195.
- 41 - BAILEY L., CARENTER J.M. and WOODS R.D., 1979 - Egypt bee virus and Australian isolates of Kashmir bee virus. *J. Gen. Virol.*, 43: 641 - 647.
- 42 - BAILEY L., GIBBS A.J. and WOODS R.D., 1963 - Two viruses from adult honey bees (*Apis mellifera* Linnaeus). *Virology*, 213: 390 - 395.
- 43 - BAILEY L., GIBBS A.J. and WOODS R.D., 1964 - Sacbrood virus of the larval honeybee (*Apis mellifera* Linnaeus). *Virology*, 23 : 425 - 429.

- 44** - BAKONYI T., FARKAS R., SZENDROI A., DOBOS-KOVAS M. and RUSVAI M. 2002 - Detection of acute bee paralysis virus by RT-PCR in honey bee and *Varroa destructor* field samples : rapid screening of representative Hungarian apiaries. *Apidologie*, 33 : 63 – 74.
- 45** - BALL B.V., 1985 - Acute paralysis virus isolates from honey bee colonies infested with *Varroa jacobsoni*. *J. Apicult. Res.*, 24: 115 – 119.
- 46** - BALL B.V., 1987- The incidence of acute paralysis virus in adult honey bee and mite populations. *Pcelar*, 3: 68 – 70.
- 47** - BALL B.V., 1993 - *The damaging effects of Varroa jacobsoni*, p.p. 9 – 16, in MATHESON A., *Living Varroa*, Ed. Internati. Bee res. Associate., Cardiff, 325 p.
- 48** - BALL B.V., 2004 - The trouble with viruses. *Bee World*, 85: 25.
- 49** - BALL B.V. and ALLEN M.F., 1988 - The prevalence of pathogens in honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Ann. Appl. Biol.*, 113: 237 – 244.
- 50** - BALL B.V., FRIES I., MORTIZ R.F.A., MILANI N. and BERNADINELLI I., 2008 - *Virology and the honey bee*. Ed. Office Offic. Public.European Commun., Luxembourg, 460p.
- 51** - BAMFORD S. and HEARTH L.A.F., 1989 - The infection of *Apis mellifera* larvae by *Ascospaera apis*. *J. Apicult. Res.*, 28: 30 - 35.
- 52** - BARBANCON J.M. et L'HOSTIS M., 2007 - Pathologie, *Nosema* qui es-tu ?. *La Santé de l'Abeille*, 3: 139 - 143.
- 53** - BASUALDO M., FIGINI E., TORRES J., TABERA A., LIBONATTI C. and BEDASCARRASBURE E., 2008 - Control of American foulbrood disease in Argentine commercial apiaries through the use of queens selected for hygienic behavior. *Span. J. Agric. Res.*, 6 (2) : 236 – 240.
- 54** - BELAID M. et DOUMANDJI S., 2010 - Effet du *Varroa destructor* sur la morphométrie alaire et sur les composants du système immunitaire de l'abeille ouvrière *Apis mellifera intermissa*. *Lebanese Science Journal*, 11: 45 – 53.
- 55** - BELLOY L., IMDORF A., FRIES I., FORSGREN E., BERTHROUD H., KUHN R. and CHARRIERE J.D., 2007- Spatial distribution of *Melissococcus plutonius* in adult honey bees collected from apiaries and colonies with and without symptoms of European foulbrood. *Apidologie*, 38 : 136 - 140.
- 56** - BENJEDDOU M., LEAT N., ALLSOPP M. and DAVISON S., 2001 - Detection of acute paralysis virus and black queen cell virus from honeybees by reverse transcriptase PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67: 2384 - 2387.



- 57** – BERENYI O., BAKONYI T., DERAKHSHIFAR I., KOGLBERGER H. and NOWOTNY N., 2006 - Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72: 2414 - 2420.
- 58** - BERTHROUD H., IMDORF A., CHARRIERE J.-D., HAUETER M. et FLURI P., 2005- Les virus des abeilles. *Rev. Suisse Apicult.*, 126 : 12 – 16.
- 59** - BIRI M., 2002- *Le grand livre des abeilles : cours d'apiculture moderne*. Ed. De Vecchi S. A., Paris , 302 p.
- 60** - BLANCHARD P., RIBIERE M., CELLE O., LALLEMAND P., SCHURR F., OLIVIER V., ISACHE A.L. and FAUCON J.P., 2007 - Evaluation of a real-time two step RT-PCR assay for quantitation of Chronic bee paralysis virus (CBPV) genome in experimentally-infected bee tissues and in life stages of a symptomatic colony. *J. Virol. Methods*, 141: 7 – 13.
- 61** - BOECKING O. and GENERSCH E., 2008 - Varroosis-the Ongoing Crisis in BeeKeeping. *J. Verbr. Lebensm.*, 2 : 221 – 228.
- 62** - BOHORECKA K. and BOBER A., 2008 - Occurrence of *Paenibacillus larvae* spores in Honey samples domestic apiaries. *J. Apic. Res.*, 52 : 105 – 111.
- 63** – BOUCHER C., 2009 - Bilan de la mortalité hivernale 2008-2009 au sein des colonies d'abeilles du Québec d'après le sondage postal effectué au printemps 2009. *Bull. zoosanitaire*, 65 : 1 - 8.
- 64** - BOUCHER C. et DESJARDINS F., 2005 - Santé de l'abeille : bilan 2004 et prévision 2005. *Bull. zoosanitaire*, 44 : 1 - 4.
- 65** - BOWEN-WALKER P.L. and GUNN A., 2001 - The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. *Entomol. Exp. Appl.*, 101 (3): 101 – 112.
- 66** - BOWEN-WALKER P.L., MARTIN S.J. and GUNN A., 1999 - The transmission of Deformed Wing Virus between honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *J. Invertebr. Pathol.*, 73: 101 – 106.
- 67** - BROODSGARD C.J., HANEN H. and RITTER W., 2000 - Progress of *Paenibacillus larvae larvae* infection in individually inoculated honey bee larvae reared single *in vitro*, in micro colonies, or in full-size colonies. *J. Apic. Res.*, 39 : 19 - 27.
- 68** - BROWN M., 2000 - Lutte contre les maladies apicoles en Grande-Bretagne. *Santé de l'abeille*, 178 : 213 - 224.
- 69** - BRUNEAU E., 2005- Dépérissement des ruchers en région wallonne: état des lieux. *Abeilles & Cie.*, 104 : 8 - 11.

- 70** - BRUNEAU E., BRABANÇON J.M., BONNAFFE P., CLEMENT H., DOMEREGO R., FERT G., LE CONTE Y., RATIA G., REEB C. et VAISSIERE B. 2002 - *Le traité Rustica de l'apiculture*. Ed. Rustica, Paris, 528 p.
- 71** - BULL J.J., 1983 – *Evolution of Sex Determining Mechanisms*. Benjamin Cummings Ed., Menlo Park. 67 p.
- 72** - BURGETT M., RANDAL R. and WALTER T., 2009 - Honey bee colony mortality in the Pacific Northwest (USA). *Am. Bee. J.*, 149: 573 - 575.
- 73** - CALDERON R.A., VAN HEEN J., ARCE G.A. and ESQUIVEL M.E. 2003 - Presence of deformed wing virus and Kashmir bee virus in Africanized honey bee colonies in Costa Rica infested with *Varroa destructor*. *Bee World*, 84: 112 - 116.
- 74** - CAMAZINE S., CRAILSHEIM K., HRASSNIGG N., ROBINSON G.E., LEONHARD B. and KROPIUNIG H., 1998 - Protein trophallaxis and the regulation of pollen foraging by honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 29 : 113 - 126.
- 75** - CANTWELL G.E., 1970 - Standard methods for counting *Nosema* spores. *Am. Bee. J.*, 110 : 222 - 223.
- 76** - CARPANA E., VECCHI M.A., LAVAZZA A., BASSI S. and DOTTORI M. 1990 - *Prevalence of acute paralysis virus (APV) and other viral infections in honeybees in Italy*, in RITTER, W. Ed. Proceedings Internati. symposium recent research bee pathology, Ghent, pp. 155 - 165.
- 78** - CHANTAWANNAKUL P., WARD L., BOOHAM N. and BROWN M., 2006 - A scientific note on the detection of honeybee viruses using real-time PCR (TaqMan) in *Varroa* mites collected from a Tai honeybee (*Apis mellifera*) apiary. *J. Invertebr. Pathol.*, 91: 69 – 73.
- 79** - CHARRIERE J.D., DIETEMANN V., SCHAFER M, DIANAT B., NEUMMANN P. et GALMANN P., 2011 - *Guide de la santé des abeilles* Ed. Centre de recherches apic., Stat. Rech. Agroscope Liebefeld-Posieux, Berne, 36 p.
- 80** - CHAUVIN R., 1960 - Progrès récents dans la biologie de l'abeille. *Ann. Abeille*, 31: 5-39.
- 81** - CHAUVIN R., 1968 - *Traité de biologie de l'abeille*. Ed. Masson et cie, Paris, 372 p.
- 82** - CHAUZAT M.P., HIGES M., MARTIN-HERNANDEZ R., MEANNA A., COUGOULE N. and FAUCON J.P., 2007 - Presence of *Nosema ceranae* in French honey bee colonies. *J. Apic. Res.*, 46 : 127 - 128.
- 83** - CHEN Y.P. and SIEDE R., 2007 - Honey bee viruses. *Adv. Virus. Res.*, 70: 33 - 80.

- 84** - CHEN Y.P., EVANS J. and FELDLAUFER M., 2006 - Horizontal and vertical transmission of viruses in the honeybee (*Apis mellifera*). *J. Invert. Pathol.*, 92 : 152 – 159.
- 85** - CHEN Y.-P., HIGGINS J.A. and FEDLAUFER M.F., 2005 - Quantitative real-time reverse transcription-PCR analysis of deformed wing virus infection in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 436 - 441.
- 86** - CHEN M., YANG X., COX-FOSTER D. and CUI L., 2005 - The role of *varroa* mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees. *Virology*, 342: 141 - 149.
- 87** - CHEN Y.P., PETTIS J.-S., EVANS J.-D., KRAMER M. and FELDLAUFER M.-F., 2004 - Transmission of Kashmir bee virus by the ectoparasitic mite *V. destructor*. *Apidologie*, 35 : 441 - 448.
- 88** - CHEN Y., ZHAO Y., HAMMOND J., HUS H., EVANS J. and FELDLAUFER M., 2004 - Multiple infections in the honey bee and genome divergence of honey bee viruses. *J. Invertebr. Pathol.*, 87 : 84 - 93.
- 89** - CICERO J.-M. and SAMMATARO D., 2010 - The salivary glands of adult female *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), an ectoparasite of the honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Int. J. Acarol.*, 36 : 377 - 386.
- 90** - COLIN M.-E., 1999 - Intoxications, Bee Disease Diagnosis. *Options Méditerranéennes*, 25 : 167 - 175.
- 91** - COLIN M.E., GAUTHIER L. et TOURNAIRE M., 2007 - L'opportunisme chez *Nosema ceranae*. *Abeilles et Cie*, 122: 24 – 26.
- 92** - COLIN M.-E., BONMATIN J.-M., MOINEAU I., GAIMON C., BRUN S. and VERMANDER J.-P., 2004 - A method to quantify and analyze the foraging activity of honey bees: relevance to the sublethal effects induced by systemic insecticides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47: 387 - 395.
- 93** - 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 (1): 1 - 7.
- 94** - COX-FOSTER D.L., CONLAN S., HOLMES E.C., PALACIOS G., EVANS J.D., and MORAN N.A., 2007 - A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*, 318 : 283 - 287.
- 95** - CRAILSHEIM K., HRASSNIGG N. and STABENTHEINER A., 1996 - Diurnal behavioural differences in forage and nurse honey bees (*Apis mellifera carnica*). *Apidologie*, 27: 235 - 244.

- 96** - CURRIE R.W., PERNAL S.F., and GUSMAN-NOVOA E., 2010 - Honey bee colony losses in Canada. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 104 - 106.
- 97** - DAINAT B., IMDORF A., CHARRIERE J.-D. et NEUMANN P., 2008- Virus des abeilles : revue des connaissances actuelles. *Rev. Suisse Apicult.*, 1 (2) : 8 – 13.
- 98** - DANDEU J.P., LUX M., COLIN ME., RABILLON J. et DAVID B., 1991 - Étude immuno-chimique de l'hémolymphe d'abeille ouvrière adulte (*Apis mellifera* L) saine ou infestée par *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 22: 37 - 42.
- 99** - DA SILVA-CRUZ A., DA SILVA-ZACARIN E.M.C., BUENO O.C. and MALASPINA O., 2010 - Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the midgut of worker honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae: morphological alterations in the midgut of *A. mellifera*. *Cell. Biol. Toxicol.*, 26: 165 – 176.
- 100** - DAWICKE B.L., OTTIS G.W., SCOTT-DUPREEC. and NASR M. 1992 - Host preference of the honey bee tracheal mite (*Acarapis woodi* (Rennie). *Exp. Appl. Acarol.*, 15: 83 – 98.
- 101** – DE GRAAF D.C., VANDEKERCHOVE D., DOBBELARE W., PEETERS J.E. and JACOBS F.J., 2001 - Influence of the proximity of American foulbrood cases and apicultural management on the prevalence of *Paenibacillus larvae* spores in Belgian honey. *Apidologie*, 32: 587 - 599.
- 102** - DE JONG D., DE ANDREA D.R. and CONCALVES L.S., 1982 - A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honey bee. *Apidologie*, 13: 297 - 306.
- 103** - DELAPLANE K., 1998 - Strictly for the hobbyist: European foulbrood and its control. *Am. Bee. J.*, 138 (10): 736 - 737.
- 104** - DELBAC F., 2009 - Nosémose des abeilles : recherche de nouveaux moyens de lutte et comparaison de la pathogénie des espèces *Nosema apis* et *Nosema ceranae* in J.-M. BARBANCON et M. L'HOSTIS. *Journée Scientifique apic.*, 26 février 2009, Saint Avold : 96 – 100.
- 105**- DELFINADO-BAKER M. and BAKER E.W., 1982 - Notes on honey bee mites of the genus *Acarapis Hirst* (Acari: Tarsonemidae). *Int. J. Acarol.*, 8 : 211-226.
- 106** - DELFINADO-BAKER M. and BAKER E.W., 1984 - Notes on honey bee mites of the genus *Acarapis Hirst* (Acari: Tarsonemidae). *Internat. J. Acarol.*, 8: 211- 266.
- 107** - DE MIRINDA J.R., and FRIES I., 2008 - Venereal and vertical transmission of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera* L.). *J. Invertebr. Pathol.*, 98: 184 – 189.

- 108** - DE RUIJTER A., 1987 - Reproduction of *Varroa jacobsoni* during successive brood cycles of the honey bee. *Apidologie*, 18: 321 – 326.
- 109** - DE VAUBLANC M.G., 2004 - *Evolution abeille-Varroa : étude de la survie de l'abeille domestique Apis mellifera à l'acarien parasite Varroa destructor*. Mémoire, Ecole pratique hautes études, Sci. vie terre, Paris, 103 p.
- 110** - DINGMANN D.W. and STAHLY D.P., 1983 - Medium promoting sporulation of *Bacillus larvae* and metabolism of medium components. *Appl. Environ. Microbiol.*, 46 (4): 860 – 869.
- 111** - DI PRISCO G., PENNACCHIO F., CAPRIO E., BONCRISTIANI HF JR., EVANS JD., and CHEN Y., 2011 - *Varroa destructor* is an effective vector of Israeli acute paralysis virus in the honeybee, *Apis mellifera*. *J. Gen. Virol.*, 92: 151 – 155.
- 112** - DOTTIN B., 1986 - *La nosérose, contribution à l'étude de l'influence de nourrissage printanier sur la réceptivité de colonies d'abeilles*. Thèse Doctorat Vét., Fac. Médecine, Créteil, 289 p.
- 113** - DOWNEY D.L. and WINSTON M.L., 2001 - Honey bee colony mortality and productivity with single and dual infestations of parasitic mite species. *Apidologie*, 32: 567 - 575.
- 114** - DUSSAUBAT C., MAISONNASSE A., ALAUX C., TCHAMITCHAN S., BRUNET J.L., DUSTMANN J.H. et VON DER SHE W, 1988 - Influence des coups de froid sur le développement printanier des colonies d'abeilles. *Apidologie*, 19 : 245 - 254.
- 115** - EISCHEN F.A., 1987 - Overwintering performance of honey bee colonies heavily infested with *Acarapis woodi* (Rennie). *Apidologie*, 18: 293-304.
- 116** - EISCHEN F.A., CARDOSO-TAMEZ D.W., WILSON T. and DIETZ A., 1989 - Honey production of honey bee colonies infested with *Acarapis woodi* (Rennie). *Apidologie*, 20: 1 – 8.
- 117** - EL GHAZAWI A.M., and ZEITOUN C., 1996 - Factors affecting maturity of female *Varroa*. *First Arab apicult. Congress, Beirut, p. 9*.
- 118** - ELLIS J.D. and MUNN P.A., 2005 - The worldwide health status of honey bees. *Bee World*, 86 : 88 - 101.
- 119** - ELZEN P.J., and WESTERVELT D., 2002 - Detection of coumaphos resistance in *Varroa destructor* in Florida. *Am. Bee. J.*, 142: 291 - 292.
- 120** - ELZEN P.J., EISCHEN F.A., BAXTER J.R., PETTIS J., ELZEN G.W. and WISON W.T. 1988 - Fluvalinate resistance in *Varroa jacobsoni* from several geographic locations. *Am. Bee J.*, 138: 674 - 676.

- 121** - EVANS J.D., 2003 - Diverse origins of tetracycline resistance in the honey bee bacterial pathogen *Paenibacillus larvae*. *J. Invertebr. Pathol.*, 83: 46 – 50.
- 122** - EVANS J.D., 2004 - Transcriptional immune response by honey bee larvae during invasion by the bacterial pathogen, *Paenibacillus larvae*. *J. Invertebr. Pathol.*, 85 : 105 – 111.
- 123** - FAUCON J.P., 1992 - *Précis de pathologie, connaître et traiter les maladies des abeilles*. Ed. Fnosad, Riez, 512 p.
- 124** - FAUCON J.P., 2002 - Reconnaissance de la loque américaine. *La santé de l'abeille*, 190 : 265 – 270.
- 125** - FAUCON J.P., 2003 - La varroatose. *La santé de l'abeille*, 194 : 15 – 19.
- 126** - FAUCON J.P., 2005 - La nosérose. *La Santé de l'Abeille*, 209 : 343 – 367.
- 127** - FAUCON J.P., DRAJNUDEL P. et FLECHE C., 1995 - Mise en évidence d'une diminution de l'efficacité de l'apistan utilisé contre la varroase de l'abeille. *Apidologie*, 26: 291 - 296.
- 128** - FAUCON J.P., VITU C., RUSSO P. et VIGNONI M., 1992 - Diagnostic de la paralysie aigue : application à l'épidémiologie des maladies virales en France en 1990. *Apidologie*, 23 : 139 - 146.
- 129** - FAUCON J.P., MATHIEU L., RIBIERE M., MARTEL A.C., DRAJNUDEL P. and ZEGGANE S., 2002 - Honey bee winter mortality in France in 1999 and 2000. *Bee World*, 83: 14 - 23.
- 130** - FERNANDEZ N., et COINEAU Y., 2007 - *Maladies, parasites et autres ennemis de l'abeille mellifère*. Ed. Atlantica, Paris, 427 p.
- 131** - FIEVET J., TENTCHEVA D., GAUTHIER L., DE MIRINDA J., COUSSERANS F., COLIN M.E. and BERGOIN M., 2006 - Localization of deformed wing virus infection in queen and drone *Apis mellifera* L. *Virology*, 3:16 – 28.
- 132** - FLURI P., HERMANN M., IMDORF A., BUHLMANN G. et CHARRIERE J.D., 1998 - *Santé et maladies des abeilles, connaissances de base*. Rapport du centre suisse de recherche apicole, Liebefeld, Berne , 29 p.
- 133** - FLUTTOM K., 2007- *Nosema cerana*. *Bee Culture*, 2: 12 - 13.
- 134** - FORGACH P., BAKONYI T., TAPASZTI S., NOWONTNY N. and RUSVAI M., 2008 - Prevalence of pathogenic bee viruses in Hungarian apiaries: Situation before joining the European Union. *J. Invertebr. Pathol.*, 98 :235 – 238.

- 135 - FORSGREN E., LUNDHAGEN A.C., IMDORF A. and FRIES I., 2005 - Distribution of *Melissococcus plutonius* in honeybee colonies with and without symptoms of European foulbrood. *Apidologie*, 3: 369 - 374.
- 136 - FREE J.B., 1977 - *The social organization of honey bees*. Edward Arnold Ed. London, 124 p.
- 137 - FRIEDLER L., 1987 - Assessment of chronic toxicity of selected insecticides to honeybee. *J. Apic. Res.*, 26: 115 - 122.
- 138 - FRIES I., 1988 - Infectivity and multiplication of *Nosema apis* Z. in the ventriculus of the honey bee. *Apidologie*, 19: 319 – 328.
- 139 - FRIES I., 1993 - *Nosema apis* : A parasite in the honey bee colony. *Bee Word*, 74: 5 - 19.
- 140 - FRIES I., 2005 - Economic threshold for *Varroa jacobsoni* Oud. in the southeastern USA. *Microbial. Ecology.*, 50: 369 – 374.
- 141 - FRIES I., 2010 - *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *J. Invertebr. Pathol.*, 103: 73 – 79.
- 142 - FRIES I. and RAINA S., 2003 - American Foulbrood and African Honey Bees (Hymenoptera : Apidae). *J. Econom. Entomol.*, 96: 1641 – 1646.
- 143 - FURGALE B. and HYSER B.A., 1969 - Minnesota *Nosema* survey. Distribution and levels of infection in wintering apiaries. *Am. Bee. J.*, 109: 460 – 461.
- 144 - GARCIA-SALINAS M., FERRE M., LATORRE E., MONERO C., CASTILLO J., LUCIENTES J. and PERIBANEZ M., 2006 - Detection of fluvalinate resistance in *Varroa destructor* in Spanish apiaries. *J. Apicult. Res.*, 45: 101 - 105.
- 145 - GAUTHIER L., TENTCHEVA D., TOUTNAIRE M., DAINAT B., COUSSERANS F., COLIN M.E. and BERGOIN M., 2007 - Viral load estimation in asymptomatic honey bee colonies using the quantitative RT-PCR technique. *Apidologie*, 38: 426 - 435.
- 146 - GENERSCH E. and AUBERT M., 2010 - Emerging and re-emerging viruses of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Vet. Res.*, 23: 41 - 54.
- 147 - GENERSCH E., ASHIRALIEVA A. and FRIES I., 2005 - Strain and genotype-specific differences in virulence of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, a bacterial pathogen causing American foulbrood disease in honey bees. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 54 – 61.
- 148 - GENERSCH E., EVANS J.D. and FRIES I., 2010 - Honey bee disease overview. *J. Invertebr. Pathol.*, 103: 2 – 4.

- 149** - GENERSCH E., YUE C., FRIES I. and DE MIRINDA J.R., 2006 - Detection of *Deformed wing virus*, a honey bee viral pathogen, in bumble bees (*Bombus terrestris* and *Bombus pascuorum*) with wing deformities. *J. Invertebr. Pathol.*, 91: 61 - 63.
- 150** - GIORDANI G., 1965 - Laboratory research work on *Acarapis woodi* Rennie, the causative agent of the acariose disease of the honeybee *Apis mellifera* L. *Bull. Tech. Apic.*, 6: 185 – 203.
- 151** - GISDER S., MOCKEL N., LINDE A. and GENERSCH E., 2010 - A cell culture model for *Nosema ceranae* and *Nosema apis* allows new insights into the life cycle of these important honey bee-pathogenic microsporidia. *Environmental Microbiology*, 46: 1 – 10.
- 152** - GRABENSTEINER E., BOKONYI T., RITTER W., PECHACKER H. and NOWOTNY N., 2007 - Development of a multiplex RT-PCR for the simultaneous detection of three viruses of the honeybee (*Apis mellifera* L.): acute bee paralysis virus, black queen cell virus and Sacbrood virus. *J. Invertebr. Pathol.*, 94 (3): 222 – 225.
- 153** - GRABENSTEINER E., RITTER W., CARTER M.J., DAVISON S., PECHACKER H., KOLODZIEJEK J., BOECKING O., DERAKHSHIFAR I., MOOSBECKHOFER R., LIECEK E. and NOWOTNY N., 2000 - Sacbrood virus of the honeybee (*Apis mellifera*): Rapid identification and phylogenetic analysis using reverse transcription PCR. *Clin. Diag. Lab. Immun.*, 8: 93 - 104.
- 154** - GRANT G., NELSON D., OLSEN P. and RICE W.A., 1993 - The ELISA detection of tracheal mites in whole honey bee samples. *Am. Bee. J.*, 133: 652 – 655.
- 155** - GREGORC A. and BOWEN I.D., 1998 - Histopathological and histochemical changes in honeybee larvae (*Apis mellifera* L.) after infection with *Bacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood disease. *Cell. Biol. Int.*, 22: 137 – 144.
- 156** - GREGORC A. and ELLIS J.D., 2011 - Cell death localization in situ in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99: 200 - 207.
- 157** - GUILLIFORD R.B., 1994 - Chalkbrood disease in Victoria. *The Australasian Beekeeper*, 96: 254 - 255.
- 158** - GUZMAN-NOVOA E., ECCLES L., CALVETE Y., MCGOWEN J., KELLY P.G., and CORRA-BENITEZ A., 2010 - *Varroa destructor* is the main culprit for the death and reduced populations of overwintered honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Ontario, Canada. *Apidologie*, 41: 443 - 450.
- 159** - HACCOUR A., 1961 - Recherches sur l'abeille saharienne au Maroc. Communication à la Société des Sciences naturelles et physiques du Maroc. *Belg. Apic.*, 25 (2): [13 - 18](#).



- 160** - HADDAD N., SHAMMOUT A. and AL-NSOUR A., 2007 - The economic value of honeybees for crop pollinisation in Jordan. 40<sup>th</sup> *Apimondia International Apicultural Congress, Melbourne*, p. 115.
- 161** - HADDAD N., BRAKE M., MEGRADE H. and DE MIRANDA J., 2008 - The First Detection of Honeybee Viral Diseases in Jordan using the PCR. *Jordan. J. Agr. Sci.*, 4: 57 – 61.
- 162** - HANSEN H. and BRODSGAARD C.J., 1999 - American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. *Bee World*, 80 : 5 – 23.
- 163** - HANSEN H. and BRODSGAARD C.J., 2003 - Control of American foulbrood by the shaking method. *Apiacta*, 38 : 140 - 145.
- 164** - HAUBRUGE É., NGUYEN B.K., WIDART J., THOME J-P., FICKERS P. et DEPAUW E., 2006 - Le dépérissement de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera : Apidae) : faits et causes probables. *Notes fauniques Gembloux*, 59 (1) : 3 -21.
- 165** - HAYDAK M.H., 1970 - Honeybee nutrition. *Anim. Rev. Entomol.*, 15:143 - 156.
- 166** - HAYNES W.C., 1972 - The catalase test, an aid in the identification of *Bacillus larvae*. *Am. Bee. J.*, 112: 130 - 131.
- 167** - HEATH L.A.F., 1982 - Chalkbrood pathogens: A review. *Bee World*, 63:130 - 135.
- 168** - HEATH L.A.F., 1985 - Occurrence and distribution of chalkbrood disease of honeybees. *Bee World*, 66: 9 - 15.
- 169** - HEYNDRICKX M., VENDEMEULEBROECKE K., HOSTE B., JANSSEN P., KERSTERS K., DE VOS P., LOGA N.A., ALI N. and BERKELEY R.C.W., 1996 - Reclassification of *Paenibacillus* (formerly *Bacillus*) *pulvifaciens* (Nakamura 1984) Ash *et al.* 1994, a later synonym of *Paenibacillus* (formerly *Bacillus*) *larvae* (White, 1906) Ash *et al.* 1994, as a subspecies of *P. larvae*, with emended descriptions of *P. larvae* as *P. larvae* subsp. *larvae* and *P. larvae* subsp. *pulvifaciens*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 46: 270 - 279.
- 170** - HIGES M., MARTIN-HERNANDEZ R. and MEANA A., 2006 - *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *J. Invertebr. Pathol.*, 92: 93 – 95.
- 171** - HIGES M., MARTIN-HERNANDEZ R. and MEANA A., 2010 - *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis; *Apidologie*, 41 (3): 375 - 392.
- 172** - HIGES M., MARTIN-HERNANDEZ R., BOTIAS C., GARRIDO-BAILON E., GONZALES-PORTO A.V. and BARRIOS L., 2008 - How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environ. Microbiol.*, 10: 2659 – 2669.

- 173** - HIGES M., MATIN-HERNANDEZ R., BOTIAS C., GARRIDO-BAILON E., GONZALES-PORTO A.V., BARRIOS L., MEANE A., BERNAL J.L. and DEL NOZAL M.J., 2009 - A preliminary study of the epidemiological factors related to honey bee colony loss in Spain. *Environ. Microbiol. Reports.*, 2 : 243 – 250.
- 173** - HIGHFIEL D.C., EL NAGAR A., MACKINDER L.C.M., NOEL L., HALL M.J., MARTIN S.J. and SCHROEDER D.C., 2009 - Deformed Wing Virus Implicated in Overwintering Honeybee Colony Losses. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75 : 7212 – 7220.
- 174** - HITCHCOK J.D., 1966 - Transmission of sacbrood disease to individual honey bee larvae. *J. Econ. Entomol.*, 59 : 1154 - 1156.
- 175** - HITCHCOK J.D., MOFFET J.O., LACKETT J.J. and ELLIOT J.R., 1970 - Tylosin for control of American foulbrood disease in honey bees. *J. Econ. Entomol.*, 63: 204 – 207.
- 176** - HONGXIA A., XUN Y. and RICHOU H., 2012 - Occurrence and prevalence of seven bee viruses in *Apis mellifera* and *Apis cerana* apiaries in China. *J. Invertebr. Pathol.*, 109: 160 – 164.
- 177** - HORNITZKY M.A.Z., 1987- Prevalence of virus infections of honeybees in Eastern Australia, *J. Apic. Res.*, 26: 181 – 185.
- 178** - HORNITZKY M.A.Z., 1988 - The detection of *Bacillus larvae* (American foulbrood) in adult honey bees. *Australas. Beekeep.*, 90: 11 –12.
- 179** - HUANG W.F., JIANG Y.W., CHEN C. and WANG H.A. 2007 - *Nosema ceranae* isolate from the honeybee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 38 : 30 - 37.
- 180** - HUCORNE P., 2002 - Mortalités d'abeilles en 2000 et 2001. *Abeilles et Cie*, 87: 12-14.
- 181** - HUNG A. C. F., 2000 - PCR detection of Kashmir bee virus in honey bee excreta. *J. Apic. Res.*, 39: 103 – 106.
- 182** - HUNG A.C.F., and SHIMANUKI H., 1999 - A scientific note on the detection of Kashmir bee virus in individual honeybees and *Varroa jacobsoni* mites. *Apidologie*, 30: 353 - 354.
- 183** - HUNG A.C.F., PENG C.Y.S. and SHIMANUKI H., 2000 - Nucleotide sequence variations in Kashmir bee virus isolated from *Apis mellifera* L. and *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 31: 17 – 23.
- 184** - IFANTIDIS M.D., 1988 - Some aspects of the process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells. *Apidologie*, 19 (4): 387 – 396.
- 185** - IMDORF A., CHARRIERE JD. et GALMANN P., 2007- Quelles sont les causes possibles des pertes de colonies de ces dernières années ?. *Rev. Suisse Apicul.*, 128: 19 - 32.

- 186** - IURLINA M.O., SAIZ A.I., FUSELLI S.R. and FRITZ R., 2006 - Prevalence of *Bacillus spp.* in different food products collected in Argentina. *Swiss Soc. Food Sci. Technol., L.W.T.*, 39: 105 - 110.
- 187** - JEFREE E.P. and ALLEN M.D., 1956 - The influence of the colony size and the *Nosema* disease on the rate of population loss in honey bee colonies in winter. *J. Econ. Entomol.*, 49: 831 - 841.
- 188** - KAJOBE R., MARRIS G., BUDGE G., LAURENSEN L., CORDONI G., JONES B., WILKINIS S., CUTHBERTSON A.G. and BROWN M.A., 2010 - First molecular detection of a viral pathogen in Ugandan honey bees. *J. Invertebr. Pathol.*, 104 (2): 153 - 156.
- 189** - KEINSCHMIDT G.J. and FURGUSON F., 1989 - Honey bee protein fluctuations in the Channel Country of South West Queensland. *Australian Beekeeper*, 91: 163 - 165.
- 190** - KEINSCHMIDT G. and KANDOS J., 1976 - The influence of crude protein levels on colony production. *Australasian Beekeeper*, 2: 36 - 39.
- 191** - KLEE J., BESANE E., GENERSCH S., GIESDER A., NENETTI D.O., TAM T.W., CHINH F., PEARTA J.M., RUZ P., KRYGER D., MESSAGE F., HATJINA S., KORPELA I., FRIES I. and PAXTON R.J., 2007 - Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee. *Apis mellifera. J. Invertebr. Pathol.*, 96: 1 - 10.
- 192** - KOENIG J., KOENIGER N. and ERICKSON E., 1986 - Effect of type of brood comb on chalk brood disease in honey bee colonies. *J. Apic. Res.*, 25: 58 - 62.
- 193** - KRALJ J. and FUCHS S., 2010 - *Nosema spp.* Influences flight behaviour of infected honey bee foragers. *Apidologie*, 41: 152 - 163.
- 194** - LANGDRIDGE D.F., 1961 - *Nosema* disease of the honeybee and some investigations into its control in Victoria, Australia. *Bee World*, 4: 36 - 40.
- 195** - [LANZIL G.](#) and [DE MIRINDA J.R.](#), [BONIOTTI M.B.](#), [Cameron C.E.](#), [LAVAZZA A.](#), [CAPUCCIL L.](#), [CAMAZINE S.M.](#) and [ROSSIL C.](#), 2006 - Molecular and Biological Characterization of Deformed Wing Virus of Honeybees (*Apis mellifera* L.). *J. Virol.*, 80: 4998 - 5009.
- 196** - LINDRSTROM A. and FRIES I., 2005 - Sampling of adult bees for detection of American foulbrood (*Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*) spores in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *J. Apicult. Res.*, 44 (2): 82- 86.
- 197** - LINDRSTROM A., KORPELA S. and FRIES I., 2008 - Horizontal transmission of *Paenibacillus larvae* spores between honey bee (*Apis mellifera*) colonies through robbing. *Apidologie*, 39: 1 - 8.

- 198** - LODESANI M. and COSTA M., 2005 - Limits of chemotherapy in beekeeping: development of resistance and the problem of residues. *Bee World*, 86:102 - 109.
- 199** - LODESANI M., COLOMBO M. and SPREAFICO M., 1995- Ineffectiveness of Apistan treatment against the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in several districts of Lombardy (Italy). *Apidologie*, 26: 67 - 72.
- 200** - LONDZIN W. and SLEDZINSKY B., 1996 - Resistance of honey bee parasitic mite *Varroa jacobsoni* to varroacide preparates containing tau-fluvalinate. *Medicina Weterynaryjna*, 52: 526 - 528.
- 201** - LOTFI A., JAMSHIDI R., SHAHRY A. and YOUSEFHANI M., 2009- The prevalence of nosemosis in honey bee colonies in Arasbaran region (Northwestern Iran). *American. Eurasian. J. Agric. and Environ. Sci.*, 5(2) : 255 - 257.
- 202** - LOUCIF-AYAD W., ARIBI N. SMAGGHE G. and SOLTANI N., 2010- Comparative effectiveness of some acaricides used to control *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in Algeria. *African Entomol.*, 18 (2): 259 – 266.
- 203** - MALONE L.A. and GATEHOUSE H.S., 1998 - Effects of *Nosema apis* infection on honey bee (*Apis mellifera*) digestive proteolytic enzyme activity. *J. Invertebr. Pathol.*, 71: 169 - 174.
- 204** - MALONE L.A. and STEVANOVIC D., 1999 - Comparison of the responses of 2 races of honey bee to infection with *N. apis* Zander. *Apidologie*, 30 (5): 375 - 382.
- 205** - MARCHENAY P. and BERNARD L., 2008 - *Des abeilles, l'histoire, l'anatomie, l'élevage et la diversité*. Ed. Gulf Stream, Paris, 98 p.
- 206** - MARTEL A.C., ZEGGANE S., DRAJNUDEL P., FAUCON J.P. and AUBERT M., 2006 - Tetracycline residues in honey after hive treatment. *Food. Addit. Contam.*, 23 : 265 – 273.
- 207** - MARTIN-HERNANDEZ R., MEANNA A., PRIERO L., SALVADOR M., GARRIDO-BAILON E. and HIGES H., 2007 - Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73: 6331 - 6338.
- 208** - MARTIN S. J., 2001 - The role of *Varroa* and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modeling approach. *J. Appl. Ecol.*, 38:1082 - 1093.
- 209** - MARTIN S.J., 2003 - Veterinary drug residues in honey. *Apiacta*, 38: 23 – 23.
- 210** - MARTIN S.J., BALL B.V. and CARRECK N.L., 2010 - Prevalence and persistence of deformed wing virus (DWV) in untreated or acaricide-treated *Varroa destructor* infested honey bees (*Apis mellifera*) colonies. *J. Apic. Res.*, 49: 72-79.

- 211** - MARTIN S., HOGARTH A., VAN BRENDA J. and PERETTE J., 1998 - A scientific note on *Varroa jacobsoni* Oudemans and the collapse of *Apis mellifera* L. colonies in the United Kingdom. *Apidologie*, 29: 369 – 370.
- 212** - MARTIN S.J., HIGHFIELD A.C., BRETTELL L., VILLALOBOS E.M., BUDGE G.E., POWELL M., NIKAIDO S. and SCHEROEDER D.C., 2012 - Global Honey Bee Viral Landscape Altered by a Parasitic Mite. *Science*, 336: 1304 - 1306.
- 213** - MAURILHAS A.M., 2002 - *Varroa destructor* infestation impact of *Apis mellifera carnica* capped worker brood production bee population and honey storage in a Mediterranean climate. *Apidologie*, 33: 271 – 281.
- 214** - MAURIZIO A., 1934 - Uber die Kalbrut (Pyricystis-Mycoese) der Bienen. *Arch. Bienen.*, 15 : 165 - 193.
- 215** - MAURIZIO A., 1946 - Beobachtungen uber die Lebensdauer und Futterverbrauch gefangen gehaltenen Bienen. Beihfte Schweiz. *Bienen. Zeitung.*, 2: 1 – 48.
- 216** - MAYACK C. and NUAG D., 2009 - Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection, *J. Invertebr. Pathol.*, 100: 185 – 188.
- 217** - MCKEE B.A., GOODMAN R.D. and HORNITZCKY M. A., 2004 - The transmission of European foulbrood (*Melissococcus plutonius*) to artificially reared honey bee larvae (*Apis mellifera*). *J. Apic. Res.*, 43: 93 - 100.
- 218** - MCKEE B.A., DJORDJEVIC S.P., GOODMAN R.D. and HORNITZKY M.A., 2003 - The detection of *Melissococcus pluton* in honey bees (*Apis mellifera*) and their products using a hemi-nested PCR. *Apidologie*, 34 : 19 - 27.
- 219** - MILANI N., 1999 - The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud to acaricides. *Apidologie*, 30: 229 - 234.
- 220** - MILANI N. and DELLA VEDOVA G., 2002 - Decline in the proportion of mites resistant to fluvalinate in a population of *Varroa destructor* not treated with pyrethroids, *Apidologie*, 33 : 417 – 422.
- 221** - MIYAGI T., PENG C.Y.S., CHUANG R.Y., MUSSEN E.C., SPIVAK M.S. and DOI R.H., 1999 - Verification of Oxytetracycline-resistant American Foulbrood Pathogen *Paenibacillus larvae* in the United States. *J. Invertebr. Pathol.*, 75: 95 - 96.
- 222** - MOCKEL N., GISDER S. and GENERESCH E., 2011 - Horizontal transmission of deformed wing virus: pathological consequences in adult bees (*Apis mellifera*) depend on the transmission route. *J. Gen. Virol.*, 2: 370 – 377.
- 223** - MOELLER F.E., 1978 - *Nosema* disease- its control in honey bee colonies. *U.S. Depart. Agricult. Techn. Bull.*, 1569: 22 - 32.

- 224** - MORETTO G. and MELLO L.J., 2000 - Resistance of Africanized bees (*Apis mellifera* L.) as a cause of mortality of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in Brazil. *Am. Bee J.*, 140: 895 - 897.
- 225** - MORSE R.A. and NOWOGRODZKI R., 1990 - *Honey bee pests, predators and diseases*. Ed. Corne Univ. Press, Ithaca, New York. 474 p.
- 226** - MOTTOUL J.P., 1996 - Etude de l'acidification des nourritures contre *Nosema apis* Zander. *Belg. Apic.*, (2): 39 - 43.
- 227** - MOZES KOCH R., SLABEZKI Y., EFRAT H., KALEV H., KAMER Y., YAKOBSON B.A. and DAG A., 2000 - First detection in Israel of fluvalinate resistance in the *Varroa* mite using bioassay and biochemical methods. *Exp. Appl. Acarol.*, 24: 35 - 43.
- 228** - MURRAY K.D. and ARONSTEIN K.A., 2008 - Transformation of the gram-positive honey bee pathogen, *Paenibacillus larvae*, by electroporation. *J. Microbiol. Meth.*, 75: 325 - 328.
- 229** - MUSSEN E.C., 2000 - Antibiotic-resistant American foulbrood. *Am. Bee J.*, 140: 300 - 301.
- 230** - MUSSEN E.C. and FURGALA B., 1977- Replication of sacbrood virus in larval and adult honeybees, *Apis mellifera*. *J. Invertebr. Pathol.*, 30: 20 - 34.
- 231** - MUSSEN E.C., FURGALA B. and HYSER R.A., 1975 - Enzootic levels of *Nosema* disease in the continental United States. *Am. Bee. J.*, 115: 48 - 50.
- 232** - NEUEDORF S., HEDETKE K., TANGEN G. and GENERSCH E .2004 - Biochemical characterization of different genotypes of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, a honey bee bacterial pathogen. *Microbiology*, 150: 2381 - 2390.
- 233** - NEUMANN P. and CARRECK N.L., 2010 - Honey bee colony losses. *J. Apic. Res.*, 49: 1 - 6.
- 234** - NORSDTROM S., 2000 - *Virus infections and Varroa mite infestations in honey bee colonies*. PhD. Thesis, Swedish Univ. Agricult. Sci., Uppsala, 187 p.
- 235** - [NORSTROM S.](#), 2003 - [Distribution of deformed wing virus within honey bee \( \*Apis mellifera\* brood cells infested with the ectoparasitic mite \*Varroa destructor\*](#). *Exp. Appl. Acarol.*, 29: 293 - 302.
- 236** - NORDSTROM S., FORSGREN E. and FRIES I., 2002 - Comparative diagnosis of American foulbrood using samples of adult honey bees and honey. *J. Apic. Sci.*, 46: 5 - 12.
- 237** - NORDSTROM S., FRIES I., AARHUS A., HANSEN H. and KORPELA S., 1999 - Virus infections in Nordic honey bee colonies with no, low or severe *Varroa jacobsoni* infections. *Apidologie* 30 :475 - 484.

- 238** - OLDROYD B.P., 2007 - What's Killing American Honey Bees?. *PLoS. Biol.*, 5 (6): 168 - 176.
- 239** - O.I.E., 2005 - *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres*. Ed. Organisation mond.santé anim., Paris, 1125 p.
- 240** - O.I.E., 2008- *Manual of Diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals*. Ed. World Organisation Animal Health, Paris, 1343 p.
- 241** - OLIVIER V. and RIBIERE M., 2006 - Taxonomy of *Apis mellifera* viruses. *Virologie*, 10: 267 – 278.
- 242** - ORANTES BERNEJO F.I. and GARCIA FERNANDEZ P., 1997 - *Nosema* disease on the honey bee (*Apis mellifera*.L ) infested with *Varroa destructor* mites in Southern Spain. *Apidologie*, 28: 105 - 112.
- 243** - OTIS G.W. and SCOTT-DUPREE C.D., 1992 - Effects of *Acarapis woodi* on overwintered colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in New York. *J. Econ. Entomol.*, 85:40 – 46.
- 244** - PANKIW F. and CORNER J., 1966 - The transmission of American foulbrood by package bees. *J. Apicult. Res.*, 5: 99 – 101.
- 245** - PEDERSON K., 1976 - Chalkbrood: Possible methods of control, and the effect of additional heat. *Birokteren*, 92 :18 – 22.
- 246** - PHARM-DELEGUE, M.H., 1999 - *Connaitre et découvrir les abeilles*. Ed. Minerva, Genève, 201 p.
- 247** - PLETTENR E., BELZUNCES B. and LE CONTE Y., 2010 - *Nosema* spp. infection alters pheromone production in honey bees (*Apis mellifera*). *J. Chemic. Ecol.*, 36 (5): 522 – 525.
- 248** - PROST J.P. et LE CONTE Y., 2005 - *Apiculture : connaître l'abeille, conduire le rucher*. Ed. Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 698 p.
- 249** - RACHEL H., GLOVER A., IAN P., ADAMS A., BUDGE G., WILKINS S. and BOONHAM N., 2011 - Detection of honey bee (*Apis mellifera*) viruses with an oligonucleotide microarray. *J. Invertebr. Pathol.*, 107: 216 – 219.
- 250** - RAMIREZ-ROMEO R., CHAUF AUX J. and PHARM-DELEGUE M.H., 2005 - Effects of Cry1Ab protoxin, deltamethrin and imidacloprid on the foraging activity and the learning performances of the honeybee *Apis mellifera*, a comparative approach. *Apidologie* (36) : 601-611.
- 251** - RAVAZZI. G., 2003 - *Abeilles et apiculteurs*. Ed. De Vecchi, Paris, 155 p.

- 252** - RENNIE J., 1921 - Isle of Wight disease in hive bees - Acarine disease: The organism associated with the disease *Tarsonemus woodi*, n. sp. *Transactions Royal Soc. Edinburgh*, 52: 768 - 779.
- 253** - RIBIÈRE M., FAUCON J.P. and PÉPIN M., 2000 - Detection of chronic honey bee (*Apis mellifera* L.) paralysis virus infection: application to a field survey. *Apidologie*, 31: 567 – 577.
- 254** - RIBIÈRE M., M., LALLEMAND P., ISCACHE A.L., SCHURR F., CELE O., BLACHARD P., OLIVIER V. and FAUCON J.P., 2006 - Infectious Chronic bee paralysis virus (CBPV) excretion in honey bee (*Apis mellifera* L.) faeces: a way of spread, in VESLEY V. and TITERA D.. *Proceeding second european conf. apidology, EurBee, Prague, pp. 21 - 22.*
- 255** - RINDERER T.E. and ROTHENBUHLER W.C., 1976 - Characteristic field symptoms comprising honeybee hairless-black syndrome induced in the laboratory by a virus. *J. Invertebr. Pathol.*, 27: 215 - 219.
- 256** - RITTER W., 2003 - Early detection of American foulbrood by honey and wax analysis. *Apiacta*, 38: 125 - 130.
- 257** - RITTER W., LECLERCQ E. et KOCH W., 1984- Observation des populations d'abeilles et de *Varroa* dans les colonies à différents niveaux d'infestation. *Apidologie*, 15 : 389 – 400.
- 258** - ROSENKRANZ P., 2004 - Pertes d'abeilles et de colonies en Allemagne. *C.R. 1<sup>er</sup> Colloque techn. apicole, 12 octobre 2004, Roissy, pp. 68 - 91.*
- 259** - ROSENKRANZ P., FREY E., ODEMER R., MOUGEL F., SOLIGNAC M. and LOCKE B., 2009 - Variance of the reproduction of the parasitic mite *Varroa destructor* and its significance for host resistance at the individual level. 41th. *Congress Apimondia, 15 - 20 september 2009, Montpellier, p. 97.*
- 260** - ROYCE L.A. and ROSSIGNOL P.A., 1991 - Sex bias in tracheal mite *Acarapis woodi* (Rennie) infestation of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Bee Science*, 1: 159 - 161.
- 261** - RUTH J.W., BROWN M.A., THOMPSON H.M. and BEW M.H. 2003 - Controlling European foulbrood with the shook swarm method and oxytetracycline in the UK. *Apidologie*, 34: 569 – 575.
- 262** - RYBA S., TITERA D., HAKLOVA M. and STOPKA P., 2009 - A PCR method of detecting American Foulbrood (*Paenibacillus larvae*) in winter beehive wax debris. *Vet. Microbiol.*, 139: 193 – 196.



- 263** - RYCKE P.H., JOUBERT J., HOSSEINIAN H. and JACOBS F., 2002- The possible role of *Varroa destructor* in the spreading of American foulbrood among apiaries. *Exp. Appl. Acarol.*, 27: 313 – 318.
- 264** - SAEGERMAN C., NGUGEN B.K. et HAUBRUGE E., 2009 - Etude sur la contamination des miels par *Paenibacillus larvae* en Région wallonne et relation avec l'expression clinique de la loque américaine dans les colonies d'abeilles domestiques. *Rev. Méd. Vét.*, 153: 219 – 227.
- 265** - SANPA S. and CHANTAWANNAKUL P., 2009 - Survey of six bee viruses using RT-PCR in Northern Thailand., *J. Invertebr. Pathol.*, 100: 116 - 119.
- 266** - SANTILLAN-GALICIA M.T., CARZANIGA R., BALL B.V. and ALDERSON P.G., 2008- Immunolocalization of deformed wing virus particles within the mite *Varroa destructor*. *J. Gen. Virol.*, 89: 1685 - 1689.
- 267** - SCHNEIDER P. und DRESCHER W., 1987 - Einfluss der Parasitierung durch die Milbe *Varroa jacobsoni* Oud. auf das Schlupfgewicht, die Gewichtsentwicklung, die Entwicklung der Hypopharynxdrüsen und die Lebensdauer von *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 18: 101 - 110.
- 268** - SEELEY T.D., 2002 - The effect of drone comb on a honey bee colony's production of honey. *Apidologie*, 33 : 75 – 86.
- 269** - SHIMANUKI H., and KNOX D.A., 1988 - Improved method for the detection of *Bacillus larvae* spores in honey. *Am. Bee. J.*, 128: 353 - 354.
- 270** - SMITH A.W., NEEDHAM G.R., PAGE R.E. and FONDRIK M.K., 1991 - Dispersal of the honeybee tracheal mite, *Acarapis woodi* (Acari : Tarsonemidae) to old bees. *Bee Sci.*, 1: 95 – 99.
- 271** - SOERESSEN P.E., 2009 - Breeding *Nosema* –free colonies in Denmark. *Proceedings Apimondia 41<sup>st</sup> Congress, Montpellier*, p. 132
- 272** - SPILTOIR C.F., 1955 - Life cycle of *Ascospaera apis* (*Pericystis apis*). *Am. J. Botany*, 42 (6): 501 - 508.
- 273** - SPIVAK M.S. and REUTER G.S., 2001 - Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior. *Apidologie*, 32: 555 – 565.
- 274** - SPURGIN A., 2008 - *Guide de l'abeille*. Edit Delachaux et Niestlé, Paris, 126 p.
- 275** - STACE P., 1994 - Chalkbrood – learning to live with it. *The Australasian Beekeeper*, 95: 319 - 322.

- 276** - STOLZ D., SHEN X.R., BOGGIS C. and SISSON G., 1995 - Molecular diagnosis of Kashmir bee virus infection. *J. Api. Res.*, 34: 153 – 160.
- 277** - SWART D.J., 2003 - *The occurrence of Nosema apis (Zander), Acarapis woodi (Rennie) and the cape problem bee in the summer rainfall region of South Africa*. Master Sci. Euden Gradum, Rhodes Univ., 50 p.
- 278** - TABER S., 1986 - Breeding bees with resistance to chalkbrood disease. *Am. Bee. J.*, 126: 823 - 825.
- 279** - TENTCHEVA D., GAUTHIER L., JOUVE S., CANABADY-ROCHELLE L., DAINAT B., COUSSERANS F., COLIN M.E., BALL B.V. and BERGOIN M., 2004 - Polymerase chain reaction detection of deformed wing virus (DWV) in *Apis mellifera* and *Varroa destructor*. *Apidologie*, 35: 431 – 440.
- 280** - THOMPSON H.M. and BROWN M.A. 2001- Is contact colony treatment with antibiotics an effective control for European foulbrood ?. *Bee World*, 82: 130 – 138.
- 281** - THOMPSON H.M., WILKINIS S., BATERSBY A.H., WAITE R.J. and WILKINSON D., 2005 - The effects of four insect growth-regulating (IGR) insecticides on honeybee (*Apis mellifera* L.) colony development, queen rearing and drone sperm production. *Ecotoxicology*, 14: 757 - 769.
- 282** - THORSTENSEN K., 1976 - Chalkbrood, a fungal disease of honeybees. *Birokteren*, 92: 14 - 17.
- 283** - THURBER P.F., 1979 - Chalkbrood. *Am. Bee. J.*, 119: 605 - 606.
- 284** - TOPLEY E., DAVISON S., LEAT N. and BENJEDDOU M., 2005 - Detection of three honeybee viruses simultaneously by a single Multiplex Reverse Transcriptase PCR. *African J. Biotechnol.*, 4 (7) : 763 – 767.
- 285** - VAILLANT J., 1989 - Nourrissement au sirop de sucre acidifié. *La santé de l'abeille*, 110: 55 – 60.
- 286** - VANDAME R., 1996 - *Importance de l'hybridation de l'hôte dans la tolérance à un parasite. Cas de l'acarien Varroa jacobsoni chez les races d'abeilles Apis mellifera européenne et africanisée, en climat tropical humide du Mexique*. Ph.D., Univ. Claude Bernard, Lyon 1, 111 p.
- 287** - VANDAME R., COLIN M.E., BELZUNCES L.P. et JOURDAN P., 1995 - Resistance de *Varroa* au fluvalinate. *Le Carnet Européen*, 3 : 5 - 11.

- 288** -VAN ENGELSDORP D., HAYES J., CARON D. and PETTIS J., 2010 - Preliminary results: honey bee colonies losses in the U.S., winter 2009-2010. *COLOSS Work Shop, Standars on monitoring & positive feed-back loops between scientists and beekeepers*, 14<sup>TH</sup> to 16<sup>TH</sup> June 2010, Ankerhus, Slagelsevej, p. 12.
- 289** - WAHL O. and ULM K., 1983 - Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honey bee *Apis mellifera carnica*. *Oecologia*, 59: 106 - 128.
- 290** - WAITE R., JACKSON S. and THOMPSON H., 2003 - Preliminary investigations into possible resistance to oxytetracycline in *Melissococcus plutonius*, a pathogen of honeybee larvae. *Letters Applied Microbiol.*, 36: 20 - 24.
- 291** - WALLNER K., 1999 - Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie*, 30: 235 - 248.
- 292** - [WEINSTEIN T.E.](#), [CHEN Y.](#), [MESSAGE D.](#), [PETTIS J.](#) and [EVANS J.D.](#), 2008 - Virus infections in Brazilian honey bees. *J. Invertebr. Pathol.*, 99: 117 - 119.
- 293** - WIEGERS F.P. 1986 - *Transmission of honeybee viruses by Varroa jacobsoni Oud. European research on varroatosis control, Udine, Italy*, p.p. 14 – 25, in: Cavalloro, R. (Ed), Commission of the European Communities, Luxembourg, 95 p.
- 294** - WILLIAMS G.R., ROGERS R.E.L., KALKSTEIN A.L., TAYLOR B.A., SHUTLER D. and OSTIGUY N., 2009 - Deformed wing virus in western honey bees (*Apis mellifera*) from Atlantic Canada and the first description of an overtly-infected emerging queen. *J. Invertebr. Pathol.*, 101: 77 - 79.
- 295** - WILSON W.T., 1971 - Resistance to American foulbrood in honey bees XI. Fate of *Bacillus larvae* spores ingested by adults. *J. Invertebr. Pathol.*, 17: 247 – 255.
- 296** - WINSTON M.L., 1993 - *La biologie de l'abeille*. Ed. Frison-Roche, Paris , 276 p.
- 297** - WINSTON M.L. and PUNNET E.N., 1982 - Factors determining temporal division of labor in honeybees. *Can. J. Zool.*, 60: 2947 - 2952.
- 298** - YANEZ O., JAFFE R., JAROSCH A., FRIES I., MORTIZ R.F.A., PAXTON R.J. and DE MIRINDA J.R., 2012 - [Deformed wing virus and drone mating flights in the honey bee \(\*Apis mellifera\*\): implications for sexual transmission of a major honey bee virus](#). *Apidologie*, **43** : 17 - 30.
- 299** - YANG E.C., CHUANG Y.C., CHEN Y.L. and CHANG L.H., 2008 - Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of imidacloprid in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.*, 101: 1743 - 1748.

- 300** - YANG X. and COX-FOSTER D.L., 2005 - Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 102: 7470 – 7475.
- 301** - YUE C. and GENERSCH E. 2005 - RT - PCR analysis of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*). *J. Gen. Virol.*, 86: 3419 - 3424.
- 302** - YUE D., NORDHOFF M., WIELER L.H. and GENERSCH E., 2008 - Fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis of the interactions between honeybee larvae and *Paenibacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood of honeybees (*Apis mellifera*). *Environ. Microbiol.*, 10: 1612 – 1620.
- 303** - YUESEFKHANI M. and LOTFI A. 2010 - Incidence of Foulbrood in Honey Bee of Eastern Azerbaijan Province, Northwest of Iran. *Acad. J. Entomol.*, 3 (1): 37 - 38.
- 304** - ZIONI N., SOROKER V. and CHEJANOSCKY N., 2011 - Replication of *Varroa destructor* virus 1 (VDV-1) and a *Varroa destructor* virus 1–deformed wing virus recombinant (VDV-1–DWV) in the head of the honey bee. [Virology](#), 417: 106 – 112.

# **ANNEXES**



.....  
- Protégez-vous vos colonies contre les intempéries ?  Oui  Non

Si oui, quels sont les moyens ? .....

.....  
- Renouvelez -vous régulièrement les cadres de vos ruches ?  Oui  Non

Qi oui, a quelle période et dans quel cas ? .....

.....  
- Comment estimez-vous la production du miel cette année comparativement aux années précédentes ?  Une bonne production  Moyenne  Faible

- Pratiquez-vous la transhumance :  Oui  Non

Indiquez le lieu et la période de transhumance .....

#### 4) Situation sanitaire des colonies d'abeilles

- Avez- vous observé des pertes anormales durant la période s'étendant de 2010 à 2011 ?  
 Oui  Non

- Nombre de colonies perdues :

2010 : Hiver ..... Printemps ..... Été ..... Automne .....

2011 :

#### - Symptômes observés :

##### Signes observés sur abeilles adultes :

- Mortalité devant les ruches
- Abeilles mortes en grappe
- Abeilles mortes au fond de la ruche
- Agressivité anormale au rucher
- Larves ou nymphes mortes au trou de vol
- Abeilles noires et/ou dépilées
- Abeilles aux ailes déformées
- Diarrhées et traces d'excréments
- Abeilles mortes dans le champ
- Abeilles tremblantes
- Autres signes :

##### Signes observés sur le couvain :

- Nymphes operculées
- Nymphes désoperculées
- Présence de la loque
- Présence du couvain plâtré
- Cannibalisme
- Autres signes

- Avez-vous demandé à faire des analyses pour les mortalités ?  Oui  Non

Date des prélèvements : .....

Qui a réalisé les prélèvements ?.....

- Prélèvements pour analyses :

Abeilles  Couvain  Pollens  Cires  Végétaux

- Résultats :.....

- Ruchers voisins aussi touchés :  Oui  Non même symptômes :  Oui  Non

- Distance entre les ruchers : .....

**- Traitement phytosanitaire suspect:**

Culture : .....surface: .....

Distance entre le rucher et la culture : .....

**La lutte contre les maladies :**

- Au niveau de votre (vos) rucher (s) avez – vous traité annuellement vos colonies contre *Varroa* depuis qu'il est apparu dans votre rucher ?  Oui  Non

- A quel moment ?

Au printemps  A l'automne  En hiver  En été

- Molécules (s) utilisée (s) et formulation :

- Fluvalinate :  Sous forme de lanière Apistan

Inserts artisanaux au Klartan

- Fluméthrine :  Sous forme de lanière Bayvarol

- Amitraze :  Sous forme de lanière Apivar

Inserts artisanaux au Tactic

- Thymol :  Sous forme d'Apiguard

- Autre (le préciser) : .....

- Avez – vous procédé à des alternances de médicaments :  Oui  Non

si oui, comment .....

Avez – vous constaté une baisse d'efficacité du traitement utilisé ?

- A base de fluvalinate  Oui  Non

- A base de fluméthrine  Oui  Non

- A base d'amitraze  Oui  Non

- Si oui depuis combien d'années ? .....

- Comment alors avez – vous procédé :

Alternance

Changement de molécule

Augmentation de dose

Augmentation de la fréquence des traitements

Sans changer de molécule, en augmentant la durée du traitement



Utilisez-vous d'autres moyens de lutte contre les maladies suivantes :





























- La loque américaine
- La loque européenne
- La nosémosse
- Le couvain plâtré
- L'acariose
- La fausse teigne

Si oui, précisez la méthode et la molécule utilisée ? .....

**Annexe 2:** Les étapes de l'extraction de l'ARN selon Le kit NucleoSpin® RNA II (ACHEREY-NAGEL)

## Total RNA isolation

### Protocol-at-a-glance (Rev. 13)

|                                 | Mini                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Midi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                 | NucleoSpin® RNA II                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | NucleoSpin® RNA L                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 1 Homogenize sample             |  30 mg                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  100 mg                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 2 Lyse cells                    |  350 µL RA1<br>3.5 µL β-mercaptoethanol<br>Mix                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |  1.8 mL RA1<br>18 µL β-mercaptoethanol<br>Mix                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 3 Filtrate lysate               |   11,000 x g<br>1 min                                                                                                                                                                                                                                                                                |   4,500 x g<br>10 min                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 4 Adjust RNA binding conditions | 350 µL 70 % ethanol<br>Mix                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 1.8 mL 70 % ethanol<br>Mix                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 5 Bind RNA                      |   Load sample<br>11,000 x g<br>30 s                                                                                                                                                                                                                                                              |   Load sample<br>4,500 x g<br>3 min                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 6 Desalt silica membrane        |   350 µL MDB<br>11,000 x g<br>1 min                                                                                                                                                                                                                                                              |   2.2 mL MDB<br>4,500 x g<br>3 min                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 7 Digest DNA                    |  95 µL DNase reaction mixture<br>RT, 15 min                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |  250 µL DNase reaction mixture<br>RT, 15 min                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 8 Wash and dry silica membrane  |  1 <sup>st</sup> wash 200 µL RA2<br>2 <sup>nd</sup> wash 600 µL RA3<br>3 <sup>rd</sup> wash 250 µL RA3<br><br>1 <sup>st</sup> and 2 <sup>nd</sup>  11,000 x g<br>30 s<br>3 <sup>rd</sup>  11,000 x g<br>2 min |  1 <sup>st</sup> wash 2.6 mL RA2<br>2 <sup>nd</sup> wash 2.6 mL RA3<br>3 <sup>rd</sup> wash 2.6 mL RA3<br><br>1 <sup>st</sup> and 2 <sup>nd</sup>  4,500 x g<br>3 min<br>3 <sup>rd</sup>  4,500 x g<br>5 min |
| 9 Elute highly pure RNA         |   60 µL RNase-free H <sub>2</sub> O<br>11,000 x g<br>1 min                                                                                                                                                                                                                                       |   500 µL RNase-free H <sub>2</sub> O<br>RT, 2 min<br>4,500 x g<br>3 min                                                                                                                                                                                                                           |

## **Etude des principales maladies bactériennes et virales de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* dans la région médio-septentrionale de l'Algérie**

### **Résumé**

La première partie de l'étude consiste à mettre en évidence les principaux problèmes liés à la santé des colonies d'abeilles. Les résultats de l'enquête effectuée ont révélé des anomalies dans la conduite apicole et une forte utilisation des produits non homologués contre la varroase. Cette dernière reste l'une des principales pathologies qui affecte les élevages. *Varroa destructor* est largement répandue dans toutes les régions étudiées et cette espèce est présente dans 100 % des ruches échantillonnées. Plus de la moitié des ruchers ont un niveau d'infestation en varroas dépassant le seuil tolérable par une colonie saine.

D'après toujours nos résultats, 11 % des apiculteurs déclarent qu'ils sont victimes des traitements effectués par les agriculteurs. Le dépeuplement et l'affaiblissement de la colonie, la présence des abeilles traînantes, noires et dépilées parfois avec des ailes atrophiées constitue les principaux symptômes rapportés par les apiculteurs. Le taux de mortalité globale donné par les apiculteurs est de 12 %.

La seconde partie de ce travail vise à étudier la prévalence des principales pathologies apicoles à savoir la nosérose, la loque américaine et la maladie virale des ailes déformées en relation avec la varroase. L'étude de la prévalence de la loque américaine montre qu'il existe une différence significative entre les taux de contamination de la bactérie dans les régions étudiées. La région de Boumerdès enregistre la fréquence la plus élevée avec un taux de 40 %. Nombreux sont les facteurs qui favorisent la dissémination de la pathologie tels que les mauvaises pratiques apicoles, la forte densité des colonies d'abeilles, la vente des essaims et la transhumance.

La nosérose est une pathologie très dangereuse qui touche uniquement les abeilles adultes. La présente étude montre un taux très élevé de cas de colonies d'abeilles malades dans les régions étudiées. La comparaison de la prévalence montre que les ruchers situés dans la zone de Boumerdès enregistre le taux d'infestation le plus élevé (56 %). Cette forte prévalence de la nosérose dans cette zone est liée à la présence d'une humidité élevée et d'une longue période froide.

Les colonies d'abeilles mellifères peuvent être touchées par des virus. La PCR utilisée a mis en évidence la présence du virus des ailes déformées en Algérie. C'est la première détection de ce virus en Algérie, 42 % des échantillons du rucher sont contaminés par ce virus. Cette étude confirme le rôle de *Varroa* et son association avec le virus DWV dans les mortalités enregistrées au niveau de ce même rucher situé à Blida.

L'ensemble de ces résultats présentés ont permis d'avoir une connaissance plus précise de la situation des maladies apicoles chez l'abeille locale en Algérie.

**Mots clés :** *Varroa destructor*, *Nosema* sp, DWV, *Peanibacillus larvea*, mortalité, *Apis mellifera intermissa*, prévalence.

## **Study of major bacterial and viral diseases of the local bee *Apis mellifera intermissa* in the Mid-North of Algeria**

### Abstract

The first part of the study is to highlight the main issues related to the health of bee colonies. The results of the survey revealed defects in the conduct beekeeping and strong use of products not approved against *varroa*. It remains one of the major diseases affecting livestock. *Varroa destructor* is widespread in all regions studied and the species is present in 100% of hives sampled. More than half of hives have a mite infestation levels in excess of the threshold tolerated by a healthy colony. According to our results still, 11% of beekeepers say they are victims of treatments carried out by farmers. Depopulation and weakening of the colony, the presence trailing bees, black and sometimes popped with atrophied wings is the main symptoms reported by beekeepers. The overall mortality rate given by beekeepers is 12%.

The second part of this work is to study the prevalence of major diseases namely bee *Nosema*, American foul brood (AFB) and deformed wing virus disease in relation to *varroa*. The study of the prevalence of AFB shows that there is a significant difference between infection rates of bacteria in the regions studied. The Boumerdes region recorded the highest frequency with a rate of 40%. There are many factors that contribute to the spread of the disease such as poor beekeeping practices, the high density of bee colonies, swarms sale and transhumance.

*Nosema* is a very dangerous condition that affects only adult bees. This study shows a very high incidence of bee colonies patients in the study areas. The comparison shows that the prevalence of apiaries located in the area of Boumerdes records the infection rate the highest (56%). This high prevalence of *Nosema* in this area is related to the presence of high humidity and a long cold period.

The honey bee colonies may be affected by viruses. Used PCR showed the presence of deformed wing virus in Algeria. This is the first detection of this virus in Algeria, 42% of the apiary samples are contaminated with the virus. This study confirms the role of *Varroa* and its association with the virus DWV in mortalities recorded at the same apiary located in Blida.

All these results have shown to have a more precise knowledge of the situation of bee diseases in the local bee in Algeria.

**Keywords:** *Varroa destructor*, *Nosema*, DWV *Peanibacillus larvea*, mortality, *Apis mellifera intermissa*, prevalence.

## دراسة أهم الأمراض البكتيرية و الفيروسية التي تصيب النحل التلي في المنطقة الوسطى الشمالية للجزائر

### ملخص

القسم الأول من هذا العمل يهدف إلى تسليط الضوء إلى أهم المشاكل الصحية التي تصيب النحل العسل، نتائج الإستبيان بينت لنا وجود عيوب في طريقة تربية النحل من طرف النحالين، إستعمال كبير للمواد غير المسجلة في معالجة الفاروا. هذا الأخير يعتبر من أهم الأمراض التي تصيب النحل. الفاروا وجد في كل مناحل المناطق المدروسة ، أكثر من نصف المناحل تتميز بنسبة إصابة تتجاوز النسبة المقاومة من طرف النحل. حسب نتائج الإستبيان كذلك، 11 من النحالين ذكروا أن خلايا النحل توفيت نتيجة المبيدات الحشرية التي تستعمل في الفلاحة. ضعف و نقص نمو خلايا النحل ، وجود نحل بدون أجنحة هي أهم الأعراض التي ذكرها النحالين ، نسبة الوفيات بالنسبة للنحل تقدر ب 12 %.

القسم الثاني من العمل يهدف إلى دراسة إنتشار أهم الأمراض النحل و هي النوزيما، تعفن الحضنة الأمريكي و مرض فيروس الأجنحة المشوهة و علاقتها مع الفاروا. نتائج الدراسة المتعلقة بمرض تعفن الحضنة الأمريكي بينت أن هناك إختلاف كبير في توزع المرض بين المناطق المدروسة، منطقة بومرداس سجلت النسبة الكبيرة و هي 40 % . عدة أسباب أثرت على توزع المرض : إستعمال طرق تربية غير ملائمة ، كثرة الخلايا في منطقة صغيرة وتبادل الطرود و الخلايا من منطقة لأخرى دون أي مراقبة

لنوزيما هو مرض خطير يصيب النحل البالغ، الدراسة المقدمة بينت أن عدد كبير من الخلايا مصابة بهذا المرض . المقارنة ما بين إنتشار المرض بين المناحل تبين أن منطقة بومرداس سجلت نسبة الإصابة الأكبر (56 %)، هذه النسبة الكبيرة تعود إلى وجود نسبة رطوبة كبيرة و فترة برد طويلة. خلايا النحل يمكن أن تصاب بالفيروسات، تقنية PCR المستعملة بينت وجود مرض الأجنحة المشوهة لأول مرة في الجزائر، 42 % من العينات تتميز بوجود المرض. هذه الدراسة أكدت كذلك العلاقة الموجودة بين الفاروا و الفيروس و تأثيرهما على الوفيات المسجلة في نفس المنحل الموجود في منطقة البلدية

كلمات المفتاح : وفيات ، إنتشار ، *Varroa destructor*, *Nosema sp* , *DWV*, *Peaenibacillus larvea* , *Apis mellifera intermissa*