EPILOBEE : UN PROGRAMME EUROPÉEN DE SURVEILLANCE DE LA MORTALITÉ DES COLONIES D'ABEILLES *

Emmanuel Garin[1], Pascal Hendrikx[1], Magali Ribière-Chabert[2] et Marie-Pierre Chauzat[1,2]

RÉSUMÉ

Pour la première fois, un réseau de surveillance épidémiologique européen de la mortalité des colonies d'abeilles domestiques (*Apis mellifera* L.) a été mis en place (EPILOBEE) dans dix-sept pays européens. Chaque pays a défini un protocole de surveillance d'après les lignes directrices éditées pour harmoniser cette surveillance. Un modèle d'exploitation statistique a été développé pour pouvoir analyser et interpréter de façon standardisée l'ensemble des informations recueillies dans chaque pays par le réseau EPILOBEE.

La fourniture et l'application des mêmes requêtes à tous les participants au dispositif de surveillance facilitent le calcul des indicateurs et permettent une utilisation standardisée des modalités de calcul dans l'ensemble des pays. Cependant, la rigueur statistique et la facilité d'accès à ces indicateurs par la programmation de leur calcul ne doivent pas être confondues avec une simplicité d'analyse et d'interprétation. Chaque pays doit bien recenser l'ensemble des biais éventuels pour que l'analyse et l'interprétation de ses indicateurs soient justes et pertinentes.

Bien qu'il ne soit pas possible d'obtenir des indicateurs épidémiologiques au niveau européen en raison de la diversité des protocoles, les indicateurs nationaux développés grâce au modèle statistique permettent de comprendre la mortalité des colonies d'abeilles à l'échelle européenne.

Mots-clés : abeille, mortalité, surveillance, EPILOBEE, santé, épidémiologie, apiculteur.

SUMMARY

For the first time, an epidemiological surveillance program on honeybee colony mortality (*Apis mellifera* L.) has been implemented (EPILOBEE) in 17 European countries. Each country has developed a surveillance protocol based on guidelines published to harmonize the procedures. A statistical model has been developed to analyze and interpret in a standardized way all the information gathered by the EPILOBEE network at national levels.

The supply and application of the same queries by all participants in the surveillance facilitates the calculation of indicators and allows the use of a standardized calculation method in all countries. However, the ease of access to these indicators by programming the calculation should not be confused with the simplicity of statistical analysis and interpretation. Therefore each country should identify all potential biases for an accurate and relevant analysis and interpretation.

.../..

* Texte de la communication orale présentée au cours de la Journée scientifique AEEMA, 19 mars 2014

[1] Anses, UCAS (ex-SURVEPI), Direction des laboratoires, Maisons-Alfort, France

[2] Laboratoire de Sophia-Antipolis, Unité de pathologie de l'Abeille, Sophia-Antipolis, France
eurl.bee@anses.fr

…/..

Although it is not possible to obtain epidemiological indicators at European level because of the diversity of protocols, the national indicators developed by this statistical operating model makes possible to better understand honeybee colony mortality at European level.

Keywords: Bee, Mortality, Surveillance, EPILOBEE, Health, Epidemiology, Beekeepers.

I - INTRODUCTION

Depuis plusieurs années, un phénomène d'affaiblissement et de mortalité des colonies d'abeilles est constaté dans de nombreux pays [Steinhauer *et al.*, 2014 ; Spleen *et al.*, 2013]. La santé des abeilles est une priorité au regard de l'importance du rôle de ces insectes pollinisateurs dans la production de miel, dans le maintien de la biodiversité et en tant qu'indicateur de la santé de l'environnement.

Après l'apparition, dans le milieu des années 2000, d'un nouveau syndrome appelé le «dépeuplement des ruches » (colony collapse disorder - CCD) aux Etats-Unis, la santé des abeilles est devenue un sujet de préoccupation pour les institutions scientifiques et gouvernementales [Williams *et al.*, 2010]. Ainsi, plusieurs études ont essayé d'estimer cette mortalité et de l'expliquer. Cependant, les résultats obtenus n'étaient pas satisfaisants en Europe en raison de la disparité des méthodes utilisées qui ne permettait pas de standardiser les données à l'échelon européen [Hendrikx *et al.*, 2010b].

Faisant suite à un appel à projet lancé par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et qu'elle a remporté, l'ANSES (alors appelée AFSSA) a mené une enquête pour évaluer la qualité des dispositifs de surveillance nationaux de la mortalité des colonies en Europe, pour analyser les données existantes sur cette mortalité et pour effectuer une recherche bibliographique sur ses causes potentielles. Cette étude a impliqué 27 pays européens en 2009. Ainsi, 25 dispositifs issus de 24 pays ont pu être évalués. Les résultats ont montré que seulement six pays avaient une réelle surveillance programmée (active) qui permettait d'estimer la mortalité des colonies. En effet, la surveillance événementielle (passive) utilisée dans 15 dispositifs ne permettait pas d'avoir des données représentatives de la population étudiée [Hendrikx *et al.*, 2010a].

Près de 75 % des protocoles de surveillance nationaux montraient des faiblesses importantes : une définition du cas de mortalité peu précise, une collecte des données non standardisée et une absence de supervision et de formation des acteurs de terrain. De plus, la gestion, l'analyse et l'interprétation des données étaient très souvent inadéquates. Enfin, la comparaison des résultats entre les pays était très difficile à cause du manque d'harmonisation et de standardisation des dispositifs et des indicateurs épidémiologiques utilisés.

Après cette étude, le laboratoire de l'ANSES de Sophia-Antipolis a été nommé, en février 2011, Laboratoire de référence de l'Union Européenne pour la santé des abeilles par la Commission européenne (LR UE santé des abeilles). L'une des missions prioritaires du LR UE était de fournir un appui scientifique et technique à la Commission européenne pour la mise en œuvre d'un programme européen de surveillance des mortalités de colonies d'abeilles (EPILOBEE) qui représentait la mise en application des recommandations de l'étude des systèmes de surveillance réalisée pour l'EFSA. L'objectif prioritaire de ce projet était d'estimer le taux de mortalité des colonies d'abeilles en hiver et en saison apicole.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODE

Le LR UE a rédigé les lignes directrices du projet de surveillance EPILOBEE en fin d'année 2011. Les propositions de projets de 17 pays ont été retenues : l'Angleterre-Pays de Galle, l'Allemagne, la Belgique, le Danemark, l'Espagne, l'Estonie, la Finlande, la France, la Grèce, la Hongrie, l'Italie, la Lettonie, la Lituanie, la Pologne, le Portugal, la Slovaquie et la Suède. La Commission a voté le co-financement des projets retenus à hauteur de 3 750 000 € pour la première année (2012-2013) et à hauteur de 1 847 000 € pour l'année suivante (2013-2014). Les résultats présentés ici concernent uniquement la première année de surveillance (2012- 2013).

La surveillance se fonde sur un protocole commun d'observations, de prélèvements et d'analyses appliqués dans tous les pays participants.

Au cours d'EPILOBEE, la présence de certains facteurs de risque pouvant être en lien avec la mortalité des colonies a été estimée : la pression parasitaire de *Varroa destructor*, la prévalence clinique de *Nosema spp*., de la loque américaine, de la loque européenne et de la maladie virale de la paralysie chronique.

Un échantillon représentatif des ruchers de chaque pays a été tiré au sort sur la base d'une prévalence attendue fixée pour chaque pays (entre 5 et 50). Un échantillon représentatif de colonies à inspecter a été tiré au sort dans chaque rucher échantillonné sur la base d'un taux de prévalence limite (de 0 à 100 % selon les pays).

Une méthode statistique a été développée pour prendre en compte la dépendance statistique des unités secondaires (les colonies) entre elles dans le calcul des taux de mortalité des prévalences et incidences des maladies.

Le plan d'échantillonnage se fondait sur un sondage aléatoire à deux degrés dans la plupart des pays et à trois degrés dans les pays qui avaient réalisé la sélection de certaines régions uniquement dans lesquelles les ruchers ont été tirés au sort. Pour le sondage à deux degrés, les ruchers composaient les unités primaires (UP) de l'échantillon et ont été tirés au sort à partir d'une liste nationale ou régionale. Au sein de ces ruchers sélectionnés, les colonies d'abeilles ont été, elles aussi, choisies de façon aléatoire et constituaient les unités secondaires (US). Soit n le nombre total de ruchers sélectionnés (UP) et m le nombre total de colonies sélectionnées. Dans chaque pays, l'échantillon était donc constitué de n ruchers et m colonies visitées.

Soit Mi le nombre total de colonies présentes dans le rucher i et mi le nombre de colonies sélectionnées au sein de ce rucher i. Mi représentait donc la taille du rucher i.

Le nombre d'unités primaires n était défini par sondage aléatoire simple d'après une prévalence attendue et une précision absolue souhaitée. Cette approche était dite quantitative car la taille du sous-échantillon d'UP était calculée pour pouvoir estimer la valeur de paramètres épidémiologiques.

Au sein de l'unité primaire, le nombre d'unités secondaires mi était défini par sondage aléatoire simple d'après une prévalence limite et d'après la taille de l'UP (Mi). Cette approche était dite qualitative car la taille du sous-échantillon d'US permettait de définir l'absence ou la présence d'une maladie. Cependant, ces termes ne doivent pas être considérés comme absolus. En effet, la détection de cette maladie au sein du rucher n'est possible que lorsque sa fréquence est égale ou supérieure à la prévalence limite fixée au départ (ayant permis de calculer le nombre d'US) et cela dans 95 % des cas. L'absence de la maladie ne prouve pas son absence vraie au sein du rucher mais une absence possible ou une fréquence inférieure à la prévalence limite fixée au départ.

La taille des sous-échantillons (les colonies) variait et les probabilités d'inclusion totale des unités secondaires (les colonies) étaient inégales.

La formule 1 s'applique donc au calcul de prévalence pondérée par la taille du rucher. Elle est applicable au calcul de la mortalité de colonies d'abeilles et au calcul de la prévalence des maladies au niveau des colonies. Ce calcul de taux est assorti d'un intervalle de confiance à 95 %.

Formule 1

Calcul du taux de mortalité et des prévalences et incidences des maladies des colonies

$$\hat{\theta} = \frac{\sum_{i=1}^{n}(Mi.Pi)}{\sum_{i=1}^{n} Mi} \quad \text{avec} \quad Pi = \frac{ai}{mi}$$

$$\widehat{V}(\widehat{z}) = N^2\left(1 - \frac{n}{N}\right)\frac{Sa^2}{n} + \frac{N}{n}\sum_{i=1}^{n}\left(Mi^2\left(1 - \frac{mi}{Mi}\right)\frac{Sbi^2}{mi}\right)$$

i = unité primaire = rucher sélectionné ;

j = unité secondaire = colonie d'abeilles sélectionnées ;

$\hat{\theta}$ = estimateur de Θ, le taux d'atteinte des colonies au sein de la populationai = nombre de colonies sélectionnées ET atteintes au sein du rucher i ;

mi = nombre de colonies sélectionnées au sein du rucher i ;

Pi = La proportion de colonies atteintes au sein du rucher i ;

Mi = nombre de colonies dans le rucher i = taille du rucher ;

N = nombre total de ruchers dans la population ;

n = nombre de ruchers sélectionnés ;

$\widehat{V}(\widehat{z})$ estime la variance du total des Zi,j (variable linéarisée de Xi,j) dans un sondage à deux degrés avec sondage aléatoire simple à chaque degré ;

Xi,j = unitié (i,j) = colonie j sélectionnée dans le rucher i avec Xi,j = 1 si la colonie i,j est atteinte et Xi,j = 0 si elle ne l'est pas ;

Sa = formule statistique non développée prenant en compte la variance du total des Zi,j au niveau des ruchers ;

Sbi = formule statistique non développée prenant en compte la variance du total des Zi,j au niveau des colonies d'un rucher i.

Les colonies sélectionnées aléatoirement ont été visitées 3 fois : juste avant l'hiver (2012 pour la première année), après l'hiver (mars-avril 2013) et pendant la saison apicole 2013. Les observations cliniques des colonies ont été effectuées par des agents missionnés dument formés. Les relevés suivent le protocole préétabli commun (feuille de visite, prélèvements obligatoires) afin d'assurer des résultats comparables entre les pays. La première visite s'est déroulée de mi-juillet 2012 (en Suède) à mi-décembre 2012 (en Espagne).

III - RÉSULTATS

1. LA SURVEILLANCE

Plus de 3 000 ruchers et 30 000 colonies ont été visités dans toute l'Europe. Une base de données accessible par Internet a été développée pour stocker, ordonner et analyser les données récoltées. Le calcul des indicateurs de la santé des colonies d'abeilles, dont la mortalité, a fait l'objet d'un développement statistique qui permet la comparaison au niveau européen des chiffres obtenus au niveau national.

Le LR UE pour la santé des abeilles, avec l'appui de l'Unité de surveillance épidémiologique (UCAS, ex-SURVEPI) de l'ANSES, était en charge de la collecte, de l'analyse et de l'interprétation des données. Le

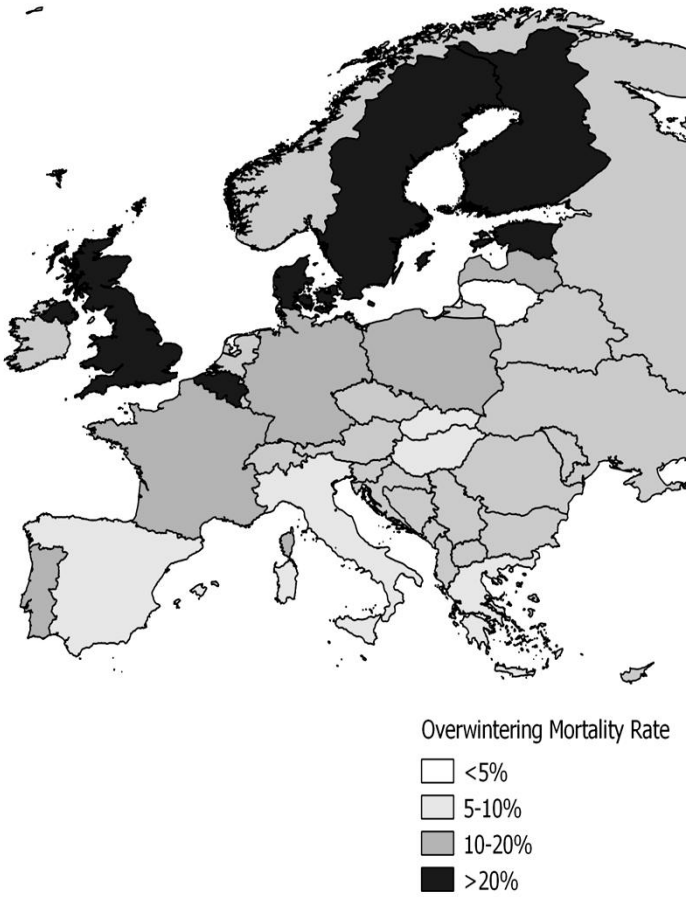
projet EPILOBEE a abouti au rassemblement d'une énorme quantité de données. Les données recueillies ont été stockées dans une base de données grâce à une interface web. Fin avril 2014, 103 930 analyses de laboratoire étaient enregistrées dans la base de données. Différentes étapes de nettoyage des données ont été nécessaires afin d'inclure autant d'information que possible dans les traitements statistiques.

2. LA MORTALITÉ DES COLONIES

Le taux de mortalité hivernale (figure 1) variait entre les pays de 3,5 % à 33,6 %, avec une répartition géographique sud-nord. En Grèce, Hongrie, Italie, Lituanie, Slovaquie et Espagne les mortalités de colonies étaient en dessous de 10 %. En Allemagne, France, Lettonie, Pologne et Portugal les taux de mortalité étaient situés entre 10 et 15 %. En Belgique, Danemark, Estonie, Finlande, Suède et Royaume-Uni, le taux de mortalité hivernale ont été supérieurs à 20 %.

Figure 1

Taux de mortalité hivernale de colonies d'abeilles enregistrés lors du programme EPILOBEE pendant l'année 2012-2013



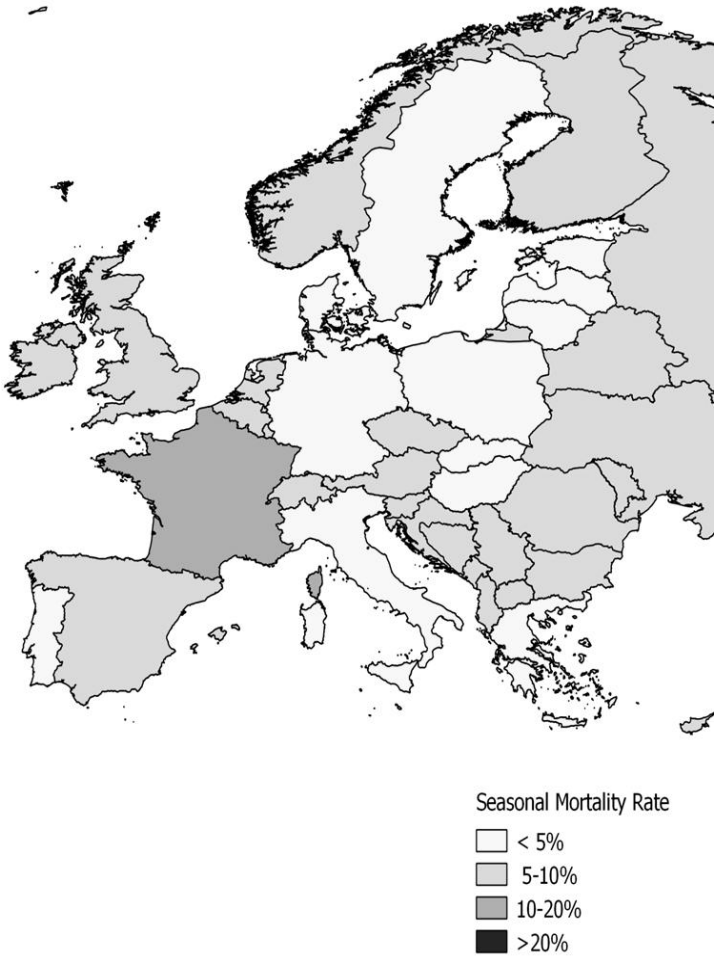
Les taux de mortalité des colonies en saison, plus faibles que la mortalité hivernale (pendant la saison apicole) (figure 2) étaient compris entre 0,3 % et 13,6 %.

3. LA PRÉVALENCE DES MALADIES

Les prévalences des maladies se fondent sur l'observation des signes cliniques. La prévalence de la loque américaine était faible dans tous les États membres (de 0 à 11,6 %). La prévalence de la loque européenne était également très basse dans les 15 États membres. Seuls cinq États membres ont observé des cas positifs de loque européenne et la prévalence clinique a dépassé 2 % dans un seul État membre. La varroase a été observée dans presque tous les États membres (13 sur 14 des États membres). En Finlande seulement, la varroase n'a jamais été observée. L'impact de *V. destructor* sur les colonies d'abeilles a également été étudié par l'évaluation de la pression parasitaire grâce à l'échantillonnage de toutes les colonies avant l'hiver. La prévalence clinique de la nosémose a dépassé 10 % dans quatre États membres sur 16. Aucun cas clinique de nosémose n'a été observé au Danemark, en Allemagne, en Finlande, en Italie et en Lettonie. Seulement quelques cas cliniques de paralysie due au virus de la paralysie chronique ont été observés dans cinq des 17 Etats membres. Bien que 15 arthropodes suspects ont été récoltés dans sept États membres au cours de la première année de EPILOBEE, aucun des cas suspects n'a confirmé la présence de *A. tumida* (petit coléoptère de la ruche) ni des acariens Tropilaelaps.

Figure 2

Taux de mortalité en saison de colonies d'abeilles enregistrés lors du programme EPILOBEE pendant l'année 2012-2013



IV - DISCUSSION

Une colonie est considérée comme atteinte d'une maladie si elle présente des signes cliniques ET si le laboratoire confirme cette suspicion. Les inspecteurs sanitaires de tous les pays devaient donc être correctement formés et expérimentés pour pouvoir être en mesure de reconnaître les signes cliniques et de les associer correctement à la bonne maladie. En effet, le laboratoire analysait les prélèvements sur la base de la maladie suspectée. Dans certains pays, les inspecteurs sanitaires étaient formés et expérimentés bénéficiant d'un réseau apicole fonctionnant depuis plusieurs années. Dans d'autres pays en revanche, les inspecteurs étaient beaucoup moins expérimentés car ils ne possédaient pas de réseau apicole développé.

Chaque pays a désigné un laboratoire de référence national qui a effectué les analyses et a assuré éventuellement le suivi d'un réseau de laboratoires agréés. Certains laboratoires effectuaient les analyses depuis peu de temps (le début du programme EPILOBEE) alors que d'autres les pratiquaient depuis plus longtemps. Il est donc possible que les diagnostics de laboratoire aient pu générer une certaine hétérogénéité au sein du consortium EPILOBEE. Ainsi, la spécificité du réseau EPILOBEE peut être considérée comme élevée alors que la sensibilité l'est moins et dépend directement des capacités des inspecteurs [Dufour et Hendrikx, 2009].

Le but principal du programme de surveillance EPILOBEE est d'estimer la mortalité des colonies d'abeilles en Europe.

Grâce à l'approche statistique utilisée, il a été possible de définir les prévalences et les incidences des maladies des colonies en prenant en compte la dépendance des unités secondaires au sein des unités primaires. Cette dépendance statistique des colonies issues d'un même rucher est très rarement prise en compte dans le calcul des taux de prévalence ou d'incidence des colonies dans les études sur les abeilles [Genersch *et al.,* 2010 ; Vanengelsdorp *et al.,* 2011 ; Vanengelsdorp *et al.,* 2010 ; Holzmann *et al.,* 2012]. De plus, ce calcul s'affranchit de la prévalence limite et permet d'obtenir des résultats plus facilement comparables entre certains pays. Ces calculs doivent cependant être adaptés pour les pays ayant un taux de sondage des ruchers variant d'une zone à une autre (la France, l'Italie et la Lettonie).

Le projet EPILOBEE a abouti au rassemblement d'une quantité extraordinaire de données extraordinaire qui seront analysées prochainement. Les données recueillies ont été stockées dans une base de données grâce à une interface web. Différentes étapes de nettoyage des données ont été nécessaires afin d'inclure autant d'information que possible dans les traitements statistiques. L'ensemble de ces résultats montre que EPILOBEE était un système robuste rendant possible la collecte d'informations cruciales sur la santé des colonies d'abeilles.

V - CONCLUSION

Les futures analyses permettront d'explorer les liens statistiques entre la mortalité des colonies et certains facteurs de risque, dont la prévalence de maladies, l'utilisation de traitements vétérinaires, le contexte apicole et d'autres paramètres. Il convient de rappeler que l'hiver 2012-2013 a été particulièrement long et froid en Europe. Les facteurs biologiques et environnementaux agissant seuls ou en combinaison peuvent causer des mortalités prématurées de colonies. Cette première année d'étude (2012-2013) montre qu'EPILOBEE a mis en place une méthodologie harmonisée pour la surveillance des colonies d'abeilles qui pourra être appliquée en routine dans le futur.

BIBLIOGRAPHIE

Dufour B., Hendrikx P. - La surveillance épidémiologique en santé animale. AEEMA. CIRAD, Paris (France), 2005.

Genersch E., Von der ohe W., Kaatz H.H., Schroeder A., Otten C., Buchleir R., Berg S., Ritter W., Muhlen W., Isder S., Eixner M.D., Iebig G., Rosenkranz P. - The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie*, 2010, **41,** 332-352.

Hendrikx P., Debin M., Chauzat M.P. - Bee mortality and bee surveillance in Europe. EFSA Report 1-278.-doi:10.2903/j.efsa.2008.154r, 2010a.

Hendrikx P., Debin M., Chauzat M. P. - Surveillance et facteurs de risques de la mortalité des abeilles en Europe. *Bulletin Epidémiologique santé animale - alimentation*, 2010b, **39**, 5-9.

Holzmann C., Allier F., Vallon J., Jourdan P. - Résultats de l'enquête Coloss 2011 à destination de l'ensemble des apiculteurs, 2012, 1-4. Rapport public disponible à http://www.itsap.asso.fr/.

Spleen A., Lengerich E., Rennich K., Caron D., Rose R., Pettis J.S., Henson M., Wilkes J.T., Wilson M., Stitzinger J., Lee K., Andree M., Snyder R., Vanengelsdorp D. - A national survey of managed honey bee 2011-2012 winter colony losses in the United States: results from the Bee Informed Partnership. *Journal of Apicultural Research*, 2013, **52,** 44-53.

Steinhauer N.A., Rennich K., Wilson M.E., Caron D.M., Lengerich E.J., Pettis J.S., Rose R., Skinner J.A., Tarpy D.R., Wilkes J.T., Vanengelsdorp D. - A national survey of managed honey bee 2012-2013 annual colony losses in the USA: results from the Bee Informed Partnership. *Journal of Apicultural Research*, 2014, **53,** 1-18.

Vanengelsdorp D., Brodschneider R., Brostaux Y., vanderZee R., Pisa L., Underwood R., Lengerich E., Spleen A., Neumann P., Wilkins S., Budge G., Pietravalle S., Allier F., Vallon J., Human H., Muz M., LeConte Y., Caron D., Baylis K., Haubruge E., Pernal S.F., Melathopoulos A.P., Saegerman C., Pettis J., Nguyen B. K. - Calculating and reporting managed honey bee colony losses. In: Honey bee colony health: challenges and sustainable solutions (Sammataro, D. & Yoder, J., eds). CRC Press, USA, 2011, pp. 237-244.

Vanengelsdorp D., Hayes J. Jr., Underwood R.M., Pettis J.S. - A survey of honey bee colony losses in the United States, fall 2008 to spring 2009. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 2010, **49,** 7-14.

Williams G.R., Tarpy D.R., Vanengelsdorp D., Chauzat M.P., Cox-Foster D.L., Delaplane K.S., Neumann P., Pettis J.S., Rogers R.E., Shutler D. - Colony Collapse Disorder in context. *Bioessays*, 2010, **32,** 845-846.