

# Les effondrements de colonies d'abeilles : le cas du CCD (« *colony collapse disorder* ») et du virus IAPV (Israeli acute paralysis virus)

M. Ribière  
V. Olivier  
P. Blanchard  
F. Schurr  
O. Celle  
P. Drajnudel  
J.-P. Faucon  
R. Thiery  
M.-P. Chauzat

Afssa, Unité pathologie de l'abeille,  
Les Templiers,  
105, route des Chappes,  
BP 111, 06902 Sophia-Antipolis Cedex  
<m.riberie@afssa.fr>

## Le « *colony collapse disorder* » (CCD)

Le 26 mars 2007, Renée Johnson, analyste en économie agricole, signait un rapport intitulé « Recent honey bee colony declines ». Ce rapport délivré au Congrès américain, portait les problèmes de mortalités d'abeilles rencontrés par les apiculteurs américains à un niveau national. Dans ce rapport était décrit, ce que les scientifiques outre-atlantique ont dénommé, le syndrome d'effondrement des colonies (« *colony collapse disorder* » [CCD]). Ces troubles sont apparus en premier lieu en fin d'année 2006 sur la côte est des États-Unis, au sein d'exploitations apicoles professionnelles qui pratiquaient la transhumance à grande échelle. Ils se sont ensuite étendus pour couvrir presque tous les États américains.

Aux États-Unis, encore plus qu'en France, les abeilles sont employées pour la pollinisation des cultures et notamment celle des amandiers, qui est assurée par la location de nombreuses ruches par les apiculteurs. Ces colonies proviennent d'États souvent éloignés de la Californie où les amandiers sont cultivés. La valeur des abeilles comme pollinisateurs est estimée sur l'ensemble du territoire américain à 15 milliards de dollars.

## Historique du phénomène d'effondrement des colonies

La survenue de taux anormaux de mortalité d'abeilles n'est pas un phénomène nouveau. Dès l'Antiquité, Aristote reportait des troubles qui affectaient les colonies d'abeilles. Aux États-Unis, dès le début des années 1960, des mortalités excessives de colonies d'abeilles ont été décrites. Plusieurs noms ont été donnés à ce syndrome : la maladie de la disparition (*disappearing disease*), la maladie de l'affaiblissement automnal (*fall dwindle disease*) et plus récemment, donc, le syndrome d'effondrement des colonies [1]. Le CCD diffère apparemment des mortalités décrites en Europe sur plusieurs points. La perte des colonies apparaît parce que les individus ne rentrent pas à la ruche. La disparition des adultes est rapide et lourde sans que des abeilles mortes ne soient retrouvées ni dans la colonie ni à proximité. Dans la phase terminale, la reine ne serait plus entourée que de quelques abeilles nouvellement émergées et ceci bien que la ruche contienne encore des réserves de nourriture et du couvain operculé. Ces mortalités, dans les cas extrêmes, atteignent 90 % voire 100 % du cheptel [1]. Cette description rappelle celle de la disparition de nombreuses colonies sur l'île de Wight au Royaume-Uni, au début du XX<sup>e</sup> siècle, qui a été attribuée ultérieurement à un acarien alors nouvellement découvert *Acarapis woodi* Rennie (*Acari : Tarsonemidae*) qui se développe dans les trachées respiratoires de l'abeille.

### Le CCD et les agents pathogènes et parasites de l'abeille

Dès son apparition aux États-Unis, de nombreuses études ont été menées sur le CCD. Les analyses initiales ont révélé la présence de nombreux agents pathogènes mais sans déterminer de cause spécifique à ce phénomène [1]. En France, en Europe et aux États-Unis, comme le mentionne le rapport américain sus-cité, une part importante des mortalités de colonies est attribuable à l'action de l'acararien *Varroa destructor* (*Acari : Mesostigmata*) en synergie avec des attaques virales. Dans les années 1980 en effet, le nouveau parasite *V. destructor* est apparu dans les colonies européennes, puis s'est répandu au niveau mondial. Cet ectoparasite se développe dans le couvain des colonies d'abeilles. Son action délétère, par ponction de l'hémolymphe des individus, affecte à la fois les larves, les nymphes et les abeilles adultes. Il a été démontré une action immunosuppressive de l'infestation par le parasite sur les abeilles adultes. De plus, des virus sont transmis par cet acararien, se multipliant ou non dans ce vecteur. La dissémination de *V. destructor* a eu pour résultat, entre autres, de modifier la prévalence de certains virus et leur impact sur la santé des colonies. Le meilleur exemple est le virus de la paralysie aiguë (*acute bee paralysis virus*, ABPV). Avant la dissémination de *V. destructor*, ce virus n'avait jamais été détecté en association avec une maladie ou des mortalités en conditions naturelles. Après l'arrivée de l'acararien en Europe, il a été démontré que l'ABPV était transmis par l'acararien et que cette infection virale était l'une des principales causes de mortalités d'abeilles adultes et de couvain, entraînant des affaiblissements et des mortalités de colonies. Cependant, ces dernières années l'implication de l'ABPV dans les pertes de colonies n'est plus aussi clairement démontrée. Il reste quand même supposé que ce virus participerait aux affaiblissements et aux pertes hivernales. Les auteurs travaillant sur le CCD indiquent que des résultats préliminaires tendraient à montrer que ce phénomène serait transmissible, et donc potentiellement dû à un ou des agents pathogènes. En effet, le transvasement d'essaims « indemnes » dans du matériel ayant contenu des colonies atteintes de CCD a conduit à l'obtention de colonies apparemment plus faibles car moins populeuses, que des colonies transvasées dans du matériel préalablement irradié [1].

### Mise en évidence d'un lien entre le CCD et l'IAPV

Une approche métagénomique (étude du matériel génétique de l'ensemble de la flore microbienne contenue dans un échantillon) a été menée sur des prélèvements d'abeilles issus de cas de CCD, en regard de prélèvements

issus de colonies non atteintes par ce syndrome [2]. Cette étude menée sur un nombre restreint d'échantillons a mis en évidence de nombreux pathogènes dans les colonies atteintes de CCD, comme dans les colonies contrôles. Cependant, deux virus, l'*Israeli acute paralysis virus* (IAPV) et le *Kashmir bee virus* (KBV), sont apparus systématiquement corrélés avec le phénomène, et deux champignons *Nosema apis* et *Nosema ceranae* étaient présents dans les cas de CCD comme de non CCD. L'association de ces 4 pathogènes majeurs (IAPV, KBV, *N. apis* et *N. ceranae*), identifiés par l'approche métagénomique, avec le phénomène de CCD a alors été évaluée sur un plus grand nombre d'échantillons issus de cas atteints de CCD (30 colonies) ou de colonies contrôles (21) sur une période de 3 ans (2004-2007). L'IAPV est alors apparu fortement corrélé au CCD : 83,3 % des colonies atteintes (25/30) étaient porteuses du virus alors qu'il n'a été détecté que dans une colonie non atteinte par ce syndrome (4,8 %). Comme aucun lien de causalité n'a encore été établi entre l'IAPV (ou tout autre agent pathogène) et les cas de pertes de colonies, l'IAPV est actuellement proposé comme « marqueur significatif » du CCD [2]. Son implication dans ce phénomène ainsi que l'origine de son introduction dans les ruchers américains reste très controversée [3].

### Les caractéristiques physico-chimiques et génomiques de l'IAPV

Décrit pour la première fois en Israël en 2002 [4, 5], l'IAPV a ensuite été détecté aux États-Unis et en Australie [2]. Bien que non encore classé par l'ICTV (International Committee on the Taxonomy of Viruses), l'IAPV semble appartenir, de par ses caractéristiques morphologiques et génomiques, au genre *Dicistroviridae* de la superfamille des virus « picorna-like ». Il possède une capsidie icosaédrique d'environ 27 nm de diamètre et un génome composé d'un ARN simple brin de polarité positive de 9 487 nucléotides. Les similarités de séquences entre ce virus et les dicistrovirus sont très fortes et se retrouvent sur l'ensemble des régions codantes [5]. Comme chez les dicistrovirus, la séquence du génome viral présente deux cadres ouverts de lecture (ORF, open reading frame) séparés par une région intergénique de 184 nucléotides [6]. Les ORF situés en 5' et en 3' du génome codent, respectivement, pour les protéines non structurales et pour une polyprotéine qui serait clivée par la suite pour donner les protéines de capsidie. Quatre protéines majeures, de 17, 26, 33 et 35 kDa, et trois protéines mineures, de 19, 30 et 46 kDa, ont été observées en SDS-PAGE et western blot [6].

En plus de cet ARN génomique, des fragments d'ARN désignés comme « DI-like RNA » (defective interfering) sont encapsidés à l'intérieur du virion [4, 5]. Ces fragments,

plus petits que l'ARN génomique, correspondraient à des recombinaisons entre le génome de l'IAPV et celui d'autres virus mais aussi celui de l'abeille. Bien que les recombinaisons inter et intra-espèces virales soient bien connues, peu d'informations sont fournies concernant les recombinaisons entre l'ARN viral et le génome de l'hôte [4]. Maori (2007) [4] a montré que 30 % des populations d'abeilles étudiées présentaient un segment ADN correspondant à une séquence du génome de l'IAPV intégré dans leur génome. Ces données sont très novatrices. En effet, la présence de segments de génomes de virus non rétroviraux intégrés dans le génome de leur hôte n'a été observée que très récemment [7]. Selon cette même étude, la présence de séquences du génome de l'IAPV semble conférer aux abeilles porteuses une résistance à l'infection virale, comme cela a été testé lors d'infections expérimentales réalisées en laboratoire [5].

### L'IAPV parmi les discistrovirus : similarités et différences

Parmi les dicistrovirus, les analyses phylogénétiques montrent que l'IAPV forme une branche à part avec les deux autres dicistrovirus de l'abeille que sont l'ABPV et le KBV. Ces virus sont génétiquement très proches ; 73,8 et 65,9 % de similarité ont été observés entre des isolats d'IAPV et de KBV d'une part, des isolats d'IAPV et d'ABPV d'autre part et jusqu'à 96 % d'homologie au niveau de la séquence nucléotidique de la polymérase de ces trois virus [5]. Ainsi le nom qui a été donné à ce virus, *Israeli acute paralysis virus*, découle de cette ressemblance avec *l'acute bee paralysis virus* qui est le premier de ces 3 virus à avoir été identifié. De plus, lors d'infections expérimentales en laboratoire, l'IAPV comme l'ABPV et le KBV, entraîne des mortalités rapides (4 jours après inoculation) des ouvrières infectées [5].

Des tests de détection de chacun de ces virus par PCR ont été mis en place. Cependant, la discrimination entre IAPV et KBV semble poser problème. En effet, une étude sur plusieurs isolats d'IAPV a montré le regroupement d'isolats précédemment considérés comme étant du KBV dans le groupe d'IAPV suggérant qu'ils pourraient en fait correspondre à des isolats d'IAPV [8]. De plus, les études menées à l'Afssa Sophia-Antipolis indiquent que les isolats de KBV détectés en France correspondent en réalité à de l'IAPV [9] (voir paragraphe ci-après).

### L'IAPV en France

La confusion entre le KBV et l'IAPV et/ou une faible prévalence de ce dernier pourrait expliquer l'absence de détec-

tion du virus avant 2007 [2]. Quoi qu'il en soit, la question qui se pose est celle du rôle de virus de type ABPV/IAPV/KBV, dans les affaiblissements et les pertes de colonies d'abeilles. En effet, ces virus, dont la pathogénicité est étroitement associée à *V. destructor*, pourraient aggraver la condition sanitaire des colonies de façon dramatique.

Ainsi, lors des cas de mortalités hivernales survenues à la sortie de l'hiver 2007-2008, l'Unité de pathologie de l'abeille de l'Afssa - Sophia-Antipolis a mené une enquête préliminaire sur 35 ruchers présentant des pertes hivernales sévères répartis dans 16 départements. Parmi les recherches de pathogènes réalisées, les virus ABPV, IAPV et KBV ont été recherchés en PCR selon les techniques préalablement publiées. Dans cette étude, 85 % des ruchers ont été diagnostiqués positifs pour un ou plusieurs agents pathogènes tels que *V. destructor* (50 %), l'ABPV (40 %) et *Nosema sp.* (30 %). De façon inattendue, l'IAPV et le KBV ont été détectés simultanément dans 5 ruchers (14 %). Le séquençage des produits PCR obtenus a confirmé les détections de l'ABPV et de l'IAPV et a permis de réaliser une première évaluation de la place phylogénétique des isolats français d'IAPV par comparaison avec les séquences des virus IAPV, ABPV et KBV disponibles sur les banques de séquences internationales. En ce qui concerne le KBV, le séquençage des produits de PCR obtenus à l'aide d'amorces déterminées comme étant spécifiques du KBV par rapport à des isolats israéliens d'IAPV [5], a révélé que les amorces « KBV » détecteraient en fait les isolats français d'IAPV. Ce sont ces amorces qui avaient été utilisées dans une enquête menée sur les ruchers français en 2002, avant la découverte de l'IAPV, et qui démontraient la présence du KBV en France [10]. L'analyse des séquences déposées par ces auteurs sur les banques donne des résultats similaires aux nôtres, indiquant que l'IAPV serait sur le territoire français depuis déjà de nombreuses années [9]. La distance phylogénétique entre ces deux virus étant très faible, KBV et IAPV pourraient en réalité être considérés comme des isolats du même virus, comme le suggèrent certains auteurs [8]. À ce jour, les modalités et la date d'apparition de l'IAPV en France restent inconnues.

### Conclusion

En conclusion, en l'absence de données quant au lien de causalité entre la présence de ces virus et les pertes aux États-Unis comme en France, des recherches restent nécessaires afin d'évaluer leur implication dans les phénomènes d'affaiblissements et de mortalités de colonies d'abeilles. Cependant, il faut garder à l'esprit que d'autres facteurs peuvent être impliqués dans ces dépérissements de colonies. Ainsi, on peut lister les différents pathogènes qui agissent seuls ou en concomitance, la compétition

interspécifique entre les différentes espèces d'abeilles particulièrement sur le continent américain, l'usage de races d'abeilles nouvellement introduites dans des régions données, le morcellement des habitats qui est la conséquence du développement des grandes cultures ou de l'introduction des espèces végétales envahissantes, et l'usage des pesticides. La clé de la compréhension des phénomènes d'affaiblissements des colonies d'abeilles passe par l'approche intégrative de ces différents facteurs.

### Références

1. Pettis J, Vanengelsdorp D, Cox-Foster D. Colony collapse disorder working group pathogen sub-group progress report. *Am Bee J* 2007 ; 147 : 595-7.
2. Cox-Foster DL, Conlan S, Holmes EC, *et al.* A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science* 2007 ; 318 : 283-7.
3. Anderson D, East IJ. The latest buzz about colony collapse disorder. *Science* 2008 ; 319 : 724-5.
4. Maori E, Tanne E, Sela I. Reciprocal sequence exchange between non-retro viruses and hosts leading to the appearance of new host phenotypes. *Virology* 2007 ; 362 : 342-9.
5. Maori E, Lavi S, Mozes-Koch R, *et al.* Isolation and characterization of Israeli acute paralysis virus, a dicistrovirus affecting honeybees in Israel : evidence for diversity due to intra- and inter-species recombination. *J Gen Virol* 2007 ; 88 : 3428-38.
6. Olivier V, Ribière M. Taxonomy of *Apis mellifera* viruses. *Virologie* 2006 ; 10 : 267-78.
7. Tanne E, Sela I. Occurrence of a DNA sequence of a non-retro RNA virus in a host plant genome and its expression : evidence for recombination between viral and host RNAs. *Virology* 2005 ; 332 : 614-22.
8. Palacios G, Hui J, Quan PL, *et al.* Genetic analysis of Israel Acute Paralysis Virus : distinct clusters are circulating in the United States. *J Virol* 2008 ; 82(13) : 6209-17.
9. Blanchard P, Schurr F, Celle O, *et al.* First detection in France of Israeli acute paralysis virus (IAPV), a Dicistrovirus affecting Honey bees (*Apis mellifera*). *J Invertebr Pathol* 2008 ; 99 : 348-50.
10. Tentcheva D, Gauthier L, Zappulla N, *et al.* Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Appl Environ Microbiol* 2004 ; 70 : 7185-91.