

DÉMARCHE DIAGNOSTIQUE DES INTOXICATIONS NON AIGUËS DES COLONIES D'ABEILLES : POSSIBILITÉS ET LIMITES POUR LE CLINICIEN

THE DIAGNOSTIC APPROACH OF NON-ACUTE INTOXICATION IN BEE COLONIES: POSSIBILITIES AND LIMITATIONS FOR THE CLINICIAN

Lionel GRISOT¹ 

Manuscrit initial reçu le 28 octobre 2024 (communication orale présentée le 23 janvier 2025), manuscrit révisé reçu le 10 décembre 2024, accepté le 10 décembre 2024, révision éditoriale le 17 janvier 2025.

RÉSUMÉ

Les intoxications subaiguës et chroniques demeurent méconnues. Au regard de la pluralité des co-expositions et facteurs de stress susceptibles d'affaiblir les abeilles et leurs colonies, elles sont particulièrement complexes à identifier. Leur expression clinique peut être variable d'un rucher à l'autre, voire d'une colonie à l'autre. Au cœur de cet exposome multifactoriel et, faute de signes cliniques pathognomoniques, la complexité des troubles induits par les intoxications subaiguës ou chroniques conduit le clinicien à recourir à des analyses toxicologiques, dont l'interprétation peut s'avérer difficile. En considérant la temporalité des événements, le clinicien cherchera à objectiver les causes déterminantes ou prépondérantes dans la rupture de l'équilibre vital du super-organisme qu'est la colonie et dans la survenue des différents signes cliniques. Les nombreuses incertitudes rencontrées au cours des investigations pourraient conduire à des erreurs de diagnostic, par défaut comme par excès, que le clinicien s'efforcera d'éviter ou, à tout le moins, qui le conduiront à relativiser ses conclusions. **Mots-clés** : *Apis mellifera*, intoxication chronique, dangers chimiques, biocides, pesticides, examen clinique.

ABSTRACT

Subacute and chronic intoxications remain poorly understood. The multitude of co-exposures and stress factors capable of weakening bees and their colonies make these conditions especially challenging to detect. Clinical manifestations may vary between apiaries and even between individual colonies. Within this complex exposome and lacking pathognomonic clinical signs, the disorders resulting from subacute or chronic poisoning often require toxicological analyses, which can be difficult to interpret. By considering the timing of events, clinicians attempt to identify the most decisive or predominant factors disrupting the vital balance of the super organism (the colony) and precipitating various clinical signs. The numerous uncertainties encountered during investigations can lead to diagnostic errors - whether through underestimation or overestimation - which clinicians strive to avoid, or at the very least acknowledge in their conclusions.

Keywords: *Apis mellifera*, chronic intoxication, Chemical hazards, biocides, pesticides, clinical investigations.

1- Docteur vétérinaire, Clinique vétérinaire des Tourbières, 1 rue de Beaucaire – 25560 Frasne, France.
Courriel : lionel.grisot@orange.fr



INTRODUCTION

La santé des abeilles et de leur colonie est sous l'influence de nombreux facteurs de stress (exposome¹) : pratiques d'élevage de l'apiculteur, disponibilité des ressources alimentaires, climat et météorologie, agents pathogènes, pratiques agricoles et culturelles environnantes, pesticides, traitements acaricides apicoles, etc. Parmi ces agents stressants, les agents chimiques peuvent être particulièrement préjudiciables aux individus, aux colonies et aux ruchers. L'histoire de l'apiculture moderne est émaillée de constats édifiants sur la toxicité potentielle de divers pesticides, produits phytosanitaires ou biocides, à l'égard des abeilles.

UN CONTEXTE DEVENU HOSTILE ET AUX CONSÉQUENCES ENCORE MAL CONNUES

Depuis leurs premières utilisations à large échelle, à l'instar des insecticides à base d'arsenic, des cas d'intoxications ont été décrits par les apiculteurs (par exemple, *The American Bee Journal* en mars 1881). De nouvelles substances aux activités diverses et variées n'ont eu de cesse d'être inventées par l'industrie agrochimique et d'être utilisées, notamment pour la protection des cultures végétales : herbicides, fongicides, insecticides, acaricides, nématocides, etc. L'arsenal phytosanitaire s'est considérablement étoffé au cours du XX^e siècle, mais les substances actives entrant dans sa composition n'ont pas gagné en spécificité. Elles n'épargnent donc pas mieux les humains, l'environnement et la faune non cible, dont l'abeille domestique *Apis mellifera* (Hoffmann & Quinn 2022).

L'évocation de tels « accidents » toxiques frappe par leur caractère souvent spectaculaire, par le nombre d'individus et de colonies atteintes et par la rapidité de leur survenue². Cependant, il ne s'agit ici que des cas d'intoxications aiguës, alors que d'autres modalités d'intoxications, beaucoup plus insidieuses et aux conséquences possiblement délétères, peuvent exister pour toutes ces substances : les toxicités subaiguë³ et chronique⁴. D'aucuns avancent que, comme la partie immergée d'un iceberg, leurs conséquences pour l'entomofaune à moyen et long termes pourraient être beaucoup plus importantes que celles des intoxications aiguës. Dans le domaine de la pathologie apicole, les toxicités subaiguë et chronique n'ont commencé à être évoquées que bien plus tardivement, essentiellement depuis une vingtaine d'années. Elles demeurent à l'heure actuelle relativement méconnues et, au regard de la pluralité des facteurs de stress susceptibles d'affaiblir les abeilles et les colonies, particulièrement complexes à identifier.

Les contaminations environnementales liées à l'anthropisation sont un fait : HAP⁵, PCB⁶, dioxines, PBDE⁷, composés perfluoro-alkylés ou PFAS, éléments traces métalliques (Li *et al.* 2022), pesticides et leurs adjuvants (Straw *et al.* 2022), substances médicamenteuses à usage humain ou vétérinaire apicole (Shimshoni *et al.* 2019 ; Glavinic *et al.* 2023) et non apicole (Mahefarisoa *et al.* 2021), etc. Comme tout organisme, l'abeille est bien évidemment soumise à ces nombreuses contaminations. Elle l'est d'autant plus que, du fait de son comportement et de son mode de vie, elle se trouve au carrefour de toutes ces contaminations environnementales : environnement direct (aspersion ou transfert aéroporté), abreuvement, récolte de ressources végétales potentiellement contaminées (pollen et nectar), stockage et maintien, voire transfert, des contaminants au contact des individus adultes ou immatures (cire, pain d'abeilles et miel, propolis, intrants de nourrissage, matériaux des ruches). Cette particularité de l'abeille domestique la désigne même comme un bio-indicateur de la contamination environnementale (Di Fiore *et al.* 2023 ; Papa *et al.* 2022).

Dans son rapport d'expertise collective de 2015, relatif aux co-expositions des abeilles aux facteurs de stress, l'Anses soulignait la diversité des facteurs auxquels les abeilles sont exposées, « de manière concomitante ou successive » (Anses 2015). Par ailleurs, pour chaque facteur de stress, il peut exister une grande variabilité d'un rucher à l'autre, et même d'une colonie à l'autre. Cela se traduit fréquemment par une difficulté à isoler l'effet propre de chaque facteur lors de troubles dans les colonies, ou à évaluer leur action conjointe, et rend également les comparaisons entre ruchers délicates (Anses 2015). Ces différents facteurs de stress

1- Le concept d'exposome désigne le cumul des expositions à des facteurs environnementaux que subit un organisme, de sa conception à sa fin de vie, en passant par le développement pré-imaginal, complétant donc l'effet du génome.

2- De nombreux cas d'intoxications aiguës pourraient être cités ; à titre d'exemple et pour les plus spectaculaires, de nombreuses intoxications par les organochlorés au cours des années 1950 avec le développement de la culture du colza ou, à une plus grande échelle, la destruction d'environ 70 000 colonies en Californie pour la seule année 1967 en raison du traitement du coton par le carbaryl. Sans oublier des cas d'intoxications aiguës plus récents liés aux néonicotinoïdes utilisés en pulvérisation, relatés dans différents pays.

3- Contrairement à la toxicité aiguë, pour laquelle l'exposition au toxique est de courte durée (moins de 24 heures) et les manifestations sont d'apparition très rapide, la toxicité subaiguë correspond à une exposition fréquente et répétée sur une période de plusieurs jours ou semaines (moins de quatre) pour que les signes d'intoxication apparaissent.

4- La toxicité chronique débute au-delà de la toxicité subaiguë. Dans le cas d'une intoxication chronique, les expositions au toxique sont répétées sur de longues périodes et ses manifestations peuvent dépendre soit du niveau croissant d'accumulation du toxique, soit des effets engendrés sur l'organisme qui s'additionnent. Cette catégorie peut être subdivisée en toxicités subchronique (plus d'un mois et moins de 3 mois) et chronique à proprement parler (au-delà de 3 mois).

5- Hydrocarbures aromatiques polycycliques.

6- Polychlorobiphényles, ils sont de deux types : PCB-DL (dioxine-like) et PCB-NDL (non dioxine-like).

7- Polybromodiphényléthers, encore dénommés RFB (retardateurs de flamme bromés).



concourent à l'affaiblissement des colonies et à l'apparition de troubles, même si, dans certains cas, un seul de ces facteurs peut être mis en cause de prime abord.

Qu'en est-il pour le clinicien ? Au cœur de cet exposome multifactoriel, quelle approche est susceptible de lui permettre d'évaluer et d'appréhender des cas d'intoxications autres qu'aiguës dans les ruchers ? L'enjeu d'un tel diagnostic est d'autant plus fort pour le praticien vétérinaire apicole que les demandes et les attentes des citoyens et des apiculteurs, amateurs comme professionnels, sont dans ce domaine particulièrement importantes. En outre, le clinicien, à l'image de la profession vétérinaire dans son ensemble, est un acteur majeur de la santé animale, environnementale et humaine.

LES TOXIQUES ET LEURS EFFETS : LES INTOXICATIONS

La pollution environnementale générale touche tous les compartiments de l'écosystème. Elle est donc susceptible d'avoir des effets, plus ou moins visibles, sur les abeilles qui peuvent y être exposées selon différentes modalités : air ambiant, contacts divers, alimentation et abreuvement.

Les toxiques

L'éventail des substances potentiellement toxiques est extrêmement large et, si certaines sont présentes dans l'environnement des abeilles en dehors de toute action de l'apiculteur, d'autres peuvent être directement liées aux pratiques apicoles :

- les contaminants environnementaux présents au sein des ressources alimentaires des abeilles (pollen, nectar, eau et réserves nourricières) ou à la surface des végétaux butinés (contamination par contact) : pesticides, éléments traces métalliques, HAP, PCB, dérivés halogénés, dioxines, résidus médicamenteux humains et vétérinaires (antibiotiques, antiparasitaires...), etc. ;
- les substances toxiques, comme le HMF⁸, issues de la dégradation de certains sucres (EFSA 2022) : température excessive lors du chauffage des sucres ou mauvaise conservation lors du stockage (sirop de sucre ou miel, utilisés pour le nourrissage des colonies) ;
- les substances acaricides utilisées par les apiculteurs pour le traitement de *Varroa*, si cette utilisation est faite sans respecter les recommandations formulées dans le RCP⁹ du médicament apicole (par exemple, la dose et la durée du traitement) ou si certaines substances sont utilisées en dehors de tout traitement médicamenteux autorisé (mésusage d'autres substances aux propriétés acaricides, comme certains produits phytosanitaires) ;
- certains adultérants, comme les cires minérales (paraffine et acide stéarique), parfois incorporés frauduleusement dans les cires ;
- certaines substances qui pourraient être utilisées par inadvertance sur les matériaux apicoles : peinture, paraffine, plastifiants ou autres ;
- certains composés naturels provenant de ressources végétales récoltées par les abeilles peuvent se révéler toxiques et pourraient être évoqués, comme les miels de miellats issus de résineux, par exemple (désordres digestifs liés à une teneur importante en certains sels minéraux, surtout préjudiciables lors de la période d'hivernage) ;
- etc.

Toute substance toxique est susceptible d'avoir des actions plus ou moins délétères et différées sur la physiologie des abeilles adultes, des larves et du super-organisme qu'est la colonie.

Les différents types d'intoxications

Différentes modalités d'intoxication peuvent être rencontrées chez les abeilles :

- les intoxications aiguës qui, malgré la difficulté de leur diagnostic de certitude, sont les plus faciles à suspecter et à mettre en évidence lors d'une démarche d'investigation clinique. Elles sont en effet généralement accompagnées de mortalités massives et aiguës des abeilles¹⁰ ;
- les intoxications subaiguës, dont les signes cliniques sont, par définition, d'évolution moins rapide et par conséquent moins évocateurs ;
- les intoxications chroniques, dont le propre est de n'entraîner des signes cliniques que sur le moyen ou le long terme, après un temps d'exposition suffisamment long. De surcroît, ces signes cliniques peuvent être singulièrement frustes et ne présenter aucun caractère pathognomonique.

8- Hydroxyméthylfurfural, composé organique toxique issu de la déshydratation de certains sucres lors de l'exposition à la chaleur.

9- Résumé des caractéristiques du produit.

10- C'est d'ailleurs l'objectif du dispositif d'investigation des « mortalités massives aiguës » qui existe au niveau de chaque région française et qui est coordonné localement par la DRAAF.



Parallèlement, l'expression clinique individuelle de ces intoxications, c'est-à-dire au niveau de l'individu adulte ou immature, peut être catégorisée selon deux types :

- les intoxications létales;
- et les intoxications sublétales, mal identifiées jusqu'à peu et qui commencent à être mieux connues pour certaines (Almasri *et al.* 2020 ; Astolfi *et al.* 2022 ; Bommuraj *et al.* 2021 ; Bruckner *et al.* 2021 ; Chung-Yu *et al.* 2022 ; Glavinic *et al.* 2023 ; Li *et al.* 2021 ; Mackei *et al.* 2023 ; Pineaux *et al.* 2023 ; Tosi *et al.* 2022, Traynor *et al.* 2021).

Si ces concepts de modalités d'évolution et de létalité permettent de clarifier le propos et la compréhension, il convient néanmoins d'indiquer que, lors d'expositions d'abeilles et de colonies à des contaminants toxiques, il est probable d'observer différentes situations résultant de la combinaison de ces modalités d'expression et de leurs effets. Il est par exemple possible qu'un épisode plus ou moins prolongé d'exposition à une substance toxique puisse entraîner différentes conséquences, simultanées ou successives :

- intoxication létale pour certains individus et sublétale pour d'autres (couvain *versus* adultes) ;
- intoxication chronique aux conséquences majeures pour certains individus et sans conséquence pour d'autres (fertilité des mâles et des reines *versus* ouvrières) ;
- intoxication aiguë de certaines colonies d'un rucher et intoxication subaiguë d'autres colonies ;
- intoxication subaiguë, voire aiguë, de certaines colonies et intoxication chronique des colonies survivantes...

Enfin, il est très important de prendre en compte le fait que le nombre de facteurs de stress chimiques est considérable. Il existe en effet une grande variété de substances auxquelles les abeilles sont exposées, à l'extérieur comme à l'intérieur de la ruche. Les effets toxiques - et les mécanismes physio-pathologiques explicatifs - d'un certain nombre de ces substances sont relativement bien documentés (par exemple, les pyréthriinoïdes, les néonicotinoïdes ou le fipronil), parfois même à des doses sublétales.

Les co-expositions et les interactions avec d'autres facteurs

En dehors de toute quantification des différents agresseurs impliqués, les co-expositions sont constamment présentes chez l'abeille (*Varroa*, virus, bactéries, microsporidies, contaminants environnementaux, disponibilités et qualité des ressources alimentaires, pratiques apicoles plus ou moins bien maîtrisées, etc.). Les colonies sont en conséquence co-exposées à de multiples combinaisons de ces différentes sources de troubles potentiels de leur santé.

Les publications scientifiques mettant en évidence l'effet potentialisant¹¹ et aggravant de concentrations sublétales de certaines substances toxiques sur les agents pathogènes des abeilles sont encore peu nombreuses (Jabal-Uriel *et al.* 2022 ; Thebeau *et al.* 2023, Wu *et al.* 2023). Pour autant, elles montrent que plusieurs agents infectieux ou chimiques peuvent interagir sur les mêmes cibles fonctionnelles chez la larve ou l'abeille adulte et induire des effets additifs¹² ou synergiques¹³.

En deçà de leur niveau de toxicité aiguë, les substances chimiques peuvent en outre perturber les mécanismes physiologiques de détoxification, ce qui modifie la sensibilité des abeilles à d'autres substances (Alburaki *et al.* 2023). De plus, certains agents biologiques, comme *Varroa*, et certaines substances ont des effets sublétaux immunodépresseurs, ce qui peut contribuer à l'amplification des infections, bactériennes ou virales, ou des infestations parasitaires (Anses 2015).

Enfin, plusieurs substances, comme les néonicotinoïdes et certains acaricides, peuvent avoir un effet sur la cohésion de la colonie et le comportement hygiénique des ouvrières : néonicotinoïdes et *Nosema ceranae*¹⁴ (Jabal-Uriel *et al.* 2022), acaricides apicoles et *Nosema ceranae* (Alonso-Prados *et al.* 2021), fipronil et *Nosema ceranae*, néonicotinoïdes et virus (DWVet BQCV⁵), fongicides et insecticides, etc. (cf. Figure 1). Ces nombreuses associations montrent des effets de synergie qui représentent une menace pour le bon état de santé des colonies. L'ensemble de ces connaissances, récemment identifiées par la recherche scientifique, complexifie donc considérablement la démarche diagnostique du clinicien.

11- L'effet potentialisant est un phénomène qui survient lorsqu'une substance, qui n'a habituellement pas d'effet toxique, est combinée à une autre substance ou à un agent pathogène en ayant pour conséquence de rendre ces derniers respectivement beaucoup plus toxiques ou pathogènes (plus trivialement, « 0 + 2 > 2 »).

12- L'effet additif est un phénomène qui survient lorsque l'effet combiné d'au moins deux substances est égal à la somme des effets de chacune d'entre elles prise individuellement (*dans ce cas*, « 2 + 1 = 3 »).

13- L'effet synergique est un phénomène qui survient lorsque l'effet combiné d'au moins deux substances et/ou agents stressants est supérieur à la somme des effets de chacun d'entre eux considéré individuellement (*dans ce cas*, « 2 + 1 > 3 voire >> 3 »). Un exemple bien connu et largement utilisé est celui du pipéronyl butoxide, d'ailleurs référencé comme « synergisant », qui est associé aux pyréthriinoïdes et multiplie alors en moyenne par dix leur effet insecticide.

14- *Nosema ceranae* est une microsporidie, agent fongique responsable de la nosémose à *Nosema ceranae* à l'origine de dysenterie grave chez l'abeille (la précision de l'espèce est liée au fait qu'il existe également une autre nosémose liée à *Nosema apis*)

15- *Deformed wing virus* et *Black queen cell virus*.



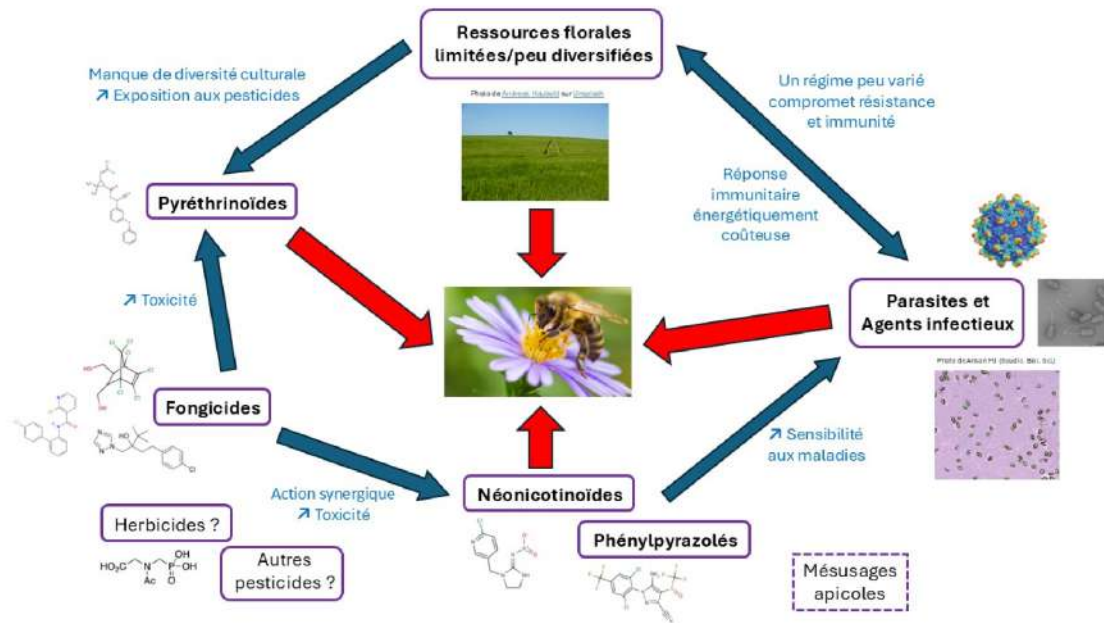


Figure 1 : Exemple d'interactions entre différents facteurs de stress : toxicité chronique de fongicides et d'insecticides, ressources florales, parasites et agents infectieux (d'après Anses 2015)

LES INVESTIGATIONS POSSIBLES ET LA DÉMARCHE DIAGNOSTIQUE

Un élément majeur doit être pris en compte par le clinicien dans sa réflexion et sa compréhension des effets liés aux intoxications chroniques ou subaiguës : les conséquences létales ou sublétales de ces intoxications sur les individus, adultes ou immatures, peuvent être plus ou moins compensées par les possibilités d'adaptation de la colonie. Jusqu'à un certain niveau d'atteinte ou de stress, le super-organisme peut en effet être en mesure de suppléer une partie des pertes d'individus grâce à différents phénomènes adaptatifs (par exemple, le polyéthisme adaptatif et en partie réversible, qui permet un rééquilibrage relatif des différentes catégories d'ouvrières). La démarche diagnostique devra donc prendre en considération cette possible résilience, susceptible de retarder ou de modifier les signes cliniques attendus. En outre, la variabilité et les limites de cette résilience, en fonction des aptitudes propres à chaque colonie (état de santé initial, ressources présentes, fertilité de la reine, niveau de prévalence d'autres co-facteurs d'agression, etc.), conduisent à la variabilité de l'expression et du tableau clinique manifestés par chaque colonie. Alors que certaines des colonies exposées ne présenteront apparemment aucun signe, d'autres pourront présenter une baisse de production, d'autres un affaiblissement plus ou moins important, d'autres encore une dépopulation. De plus, les signes cliniques peuvent n'être observables qu'après un temps de latence conséquent, et les pratiques apicoles peuvent en outre les amoindrir ou au contraire, les amplifier.

Dans ce contexte de co-expositions des abeilles à de nombreux facteurs de stress, associé à une forte variabilité qualitative et quantitative des expositions et des interactions, il est particulièrement difficile de déterminer le rôle respectif de chaque co-facteur identifié dans une colonie d'abeilles présentant des troubles de santé. D'autant que les co-expositions peuvent non seulement être concomitantes, mais aussi successives. À titre d'exemple, une substance toxique pourrait induire une déficience de l'immunité des individus ou du super-organisme, dont les conséquences apparaîtront de manière différée, alors même que cette substance n'est plus détectable dans la ruche, ou détectable à un niveau extrêmement faible et considéré comme sans effet.

Un préalable incontournable : des visites fréquentes et le recours au clinicien

La fréquence des visites des colonies par l'apiculteur est un point particulièrement important si l'on espère être en mesure d'identifier une possible intoxication. En l'absence d'un suivi très régulier de son cheptel et de l'enregistrement des données sanitaires, l'apiculteur perdra toute chance de dépister les rares signaux possiblement évocateurs.

Les troubles de santé des abeilles et des colonies ne sont, à l'heure actuelle, que très peu examinés par les vétérinaires praticiens. Devant une question aussi complexe que celle des intoxications autres qu'aiguës, une surveillance épidémiologique globale et adaptée des mortalités et affaiblissements, conduite par un réseau de cliniciens dûment formés, semble être une réponse parfaite-



ment adaptée. Gageons que l'OMAA¹⁶ permettra une meilleure compréhension de ces intoxications, mais aussi de l'ensemble des troubles de santé des abeilles et des colonies.

Les commémoratifs et l'anamnèse

Comme lors de tout examen clinique, le recueil aussi exhaustif que possible des commémoratifs du rucher et de l'anamnèse des troubles est un prérequis fondamental pour comprendre le processus pathologique et suspecter une intoxication subaiguë ou chronique.

Les éléments recueillis restent ceux classiquement envisagés lors de toute investigation de troubles de santé : la fréquence des visites, la chronologie des différents événements de santé, leur saisonnalité, le nombre de colonies atteintes, les anomalies observées sur le couvain à différents stades et les abeilles adultes (comportement et caractères morphologiques), la stratégie de lutte mise en œuvre contre *Varroa* et les modalités précises d'utilisation des médicaments acaricides apicoles, les pratiques apicoles (matériel apicole, cires), etc.

En outre, tous les éléments de l'environnement du rucher, parfois même anodins de prime abord, peuvent se révéler importants et doivent être recueillis avec minutie : position, paysage, cultures environnantes, types et modalités de traitement phytosanitaire éventuellement mis en œuvre aux alentours, etc.

L'examen clinique

L'examen clinique permettra d'identifier et de préciser l'ensemble des signes observables, tant sur les individus adultes et immatures que sur les colonies.

L'examen et l'évaluation de la quantité et de la qualité des réserves nourricières des colonies sont également très utiles. Un élément intéressant à prendre en compte est l'acceptation des nouveaux cadres de cire gaufrée, indice notamment exploitable lors d'adultération ou de contamination de celle-ci. En résumé, il ne déroge pas aux règles habituelles de l'examen clinique d'un rucher et de colonies atteintes de troubles de santé.

Le signe clinique le plus grave en cas d'intoxication chronique ou subaiguë est le déclin et l'affaiblissement de la colonie conduisant à sa perte, dans la mesure où le déséquilibre induit au sein du super-organisme est trop important et qu'il ne peut plus être compensé.

Le taux d'émergence du couvain peut être intéressant à examiner dans la mesure où bon nombre de substances toxiques, à doses sublétales pour les adultes, peuvent avoir des conséquences sur le développement larvaire qui pourront être caractérisées par cet indice. Néanmoins, sur le terrain, celui-ci est peu discernable d'autres affections du couvain et fait plutôt partie d'observations faites lors d'expérimentations conduites dans le cadre de la recherche ou de la caractérisation de la toxicité des substances étudiées.

D'autres effets peuvent être rencontrés, comme une dépopulation limitée en nombre ou dans le temps, une diminution de la production, une baisse de la qualité de la ponte ou du couvain, une baisse de récolte des ressources et de leurs stocks dans la ruche (affaiblissement des butineuses). Pour autant, il est très difficile de faire le lien entre ces observations et une suspicion d'intoxication autre qu'aiguë, ce qui les rend souvent peu exploitables sur le terrain. Certains effets enfin, malgré leur intérêt, nécessitent des surveillances spécifiques et restent impossibles à objectiver par le praticien : par exemple, une disproportion des différentes classes d'âge des ouvrières ou une diminution de la durée de vie des abeilles adultes.

Les déficiences immunitaires, la modulation du niveau d'expression de certains gènes ou les effets comportementaux (par exemple, la désorientation et le non-retour à la ruche des butineuses), sont des effets mis en évidence par la recherche, mais sont malheureusement impossibles à objectiver lors d'une intervention au chevet des colonies. Il en est de même de la fertilité des reines et des faux bourdons, du développement des appareils glandulaires ou du système hormonal. Par ailleurs, de nouveaux moyens d'investigation pourraient se révéler précieux, comme l'histologie, la biochimie, des indicateurs biologiques particuliers, etc.

Les examens paracliniques et les analyses de laboratoire

Faute de signes cliniques pathognomoniques, la complexité des troubles induits par les intoxications subaiguës ou chroniques conduit nécessairement le clinicien à recourir à des examens complémentaires. Les analyses qu'il convient de prescrire dans le cadre d'une telle suspicion sont les recherches multi-résidus des substances pesticides et acaricides vétérinaires.

16- Observatoire des mortalités et des affaiblissements de l'abeille mellifère.



Les prélèvements d'intérêt sont les suivants :

- le couvain et les abeilles adultes, en se rappelant que les concentrations des toxiques présents peuvent être relativement peu élevées dans ces matrices en cas d'intoxication chronique, en lien avec les effets sublétaux ;
- le pollen et le nectar sont les ressources les plus exposées aux contaminants chimiques; et le pain d'abeilles est une matrice intéressante pour rechercher une intoxication qui n'est pas ponctuelle ;
- enfin, la cire est sans doute une matrice de choix, dans la mesure où les substances toxiques, pour la plupart lipophiles, ont tendance à y être stockées (Shimshoni *et al.* 2019). La cire représente en quelque sorte une mémoire des contaminations de la colonie. Pour cette raison, en tant que support potentiellement polycontaminé à des niveaux parfois élevés, la cire est également susceptible de représenter un facteur de risque pour la santé du couvain qui y est élevé (El Agrebi *et al.* 2020 ; Tokash *et al.* 2023). À ce propos, un outil d'évaluation du risque toxique des cires, prenant en compte les résultats d'analyses multi-résidus des contaminants chimiques, a été développé par une équipe de l'université de Liège en Belgique : BeeToxWax®¹⁷.

L'adéquation entre les résultats d'analyses et la clinique

La démarche d'investigation est le plus souvent conduite selon un principe d'exclusions successives d'hypothèses diagnostiques, en commençant par les plus probables. Sur la base des résultats d'analyses obtenus et de leur concordance avec les signes cliniques et le syndrome observés, la suspicion diagnostique peut être confortée. Cependant, l'interprétation des résultats d'analyses concernant les contaminants présents et leurs teneurs respectives dans la matrice analysée reste difficile. Il sera par exemple possible de recourir à l'outil BeeToxWax®, accessible sur l'internet. Le site *ToxiBees*¹⁸ permet par ailleurs d'obtenir des informations sur la toxicité individuelle de toutes les substances actives autorisées en Europe en tant que produits phytosanitaires. Une publication récente propose également une synthèse des VTR¹⁹ connues, aiguës et parfois chroniques, pour les adultes et pour les larves, relatives à de nombreuses substances toxiques (Tosi *et al.* 2022).

AU BILAN, L'ACTION DU CLINICIEN : SES POSSIBILITÉS ET SES LIMITES

La démarche diagnostique du clinicien le conduit à dresser l'inventaire des différentes étiologies possibles pour ensuite les hiérarchiser, de la plus probable et déterminante à la moins explicative. Il lui reste alors à objectiver si possible le ou les éléments déterminants ou prépondérants dans la survenue des signes cliniques, constatés tout à la fois sur les abeilles et les colonies; autrement dit, la cause déterminante à l'origine de la rupture de l'équilibre, parfois précaire, qui régnait au sein du super-organisme (cf. Figure 2).

Dans ce cheminement complexe, les éléments de temporalité peuvent se révéler essentiels : temporalité de la ou des causes présentes, dont bien évidemment la ou les substances toxiques et, corrélativement, temporalité des différents effets et conséquences observés. La rigueur de la démarche diagnostique et l'interprétation des examens de laboratoire, que seul le clinicien est en mesure de réaliser, s'avèrent donc indispensables.



Figure 2 : L'équilibre du super-organisme qu'est la colonie... souvent fragile, parfois précaire (Source : Wikimedia, libre de droits)

17- <https://www.beetools.uliege.be/beetoxwax>

18- <https://toxibeas.certifiedbeefriendly.org>

19- Valeurs toxicologiques de référence.



Les possibilités et outils à disposition du clinicien

Nous avons déjà évoqué les outils *ToxiBees* et, en ce qui concerne la cire, *BeeToxwax*[®] qui peuvent être utilisés par le clinicien comme une aide à l'interprétation des résultats d'analyses obtenus à partir des prélèvements effectués (Figure 3).

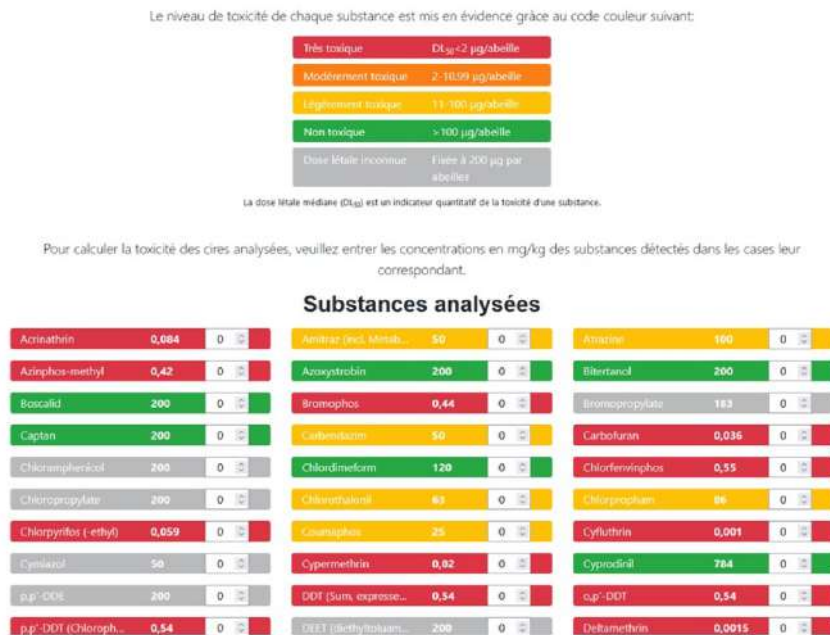


Figure 3 : Page d'accueil du site *BeeToxWax*[®] (Université de Liège – Médecine vétérinaire)

D'une manière plus générale, à titre d'exemples et, selon la matrice analysée²⁰, le clinicien peut calculer ou modéliser l'exposition par abeille et la comparer aux niveaux de toxicité pour chaque substance (DL₅₀/abeille par contact, ou DL₅₀/abeille par ingestion si différente, seuils de toxicité chronique si connus) :

- à partir de la concentration dans un prélèvement d'abeilles (en mg.kg⁻¹), en considérant qu'une abeille pèse environ 100 mg;
- à partir de la concentration dans un prélèvement de pollen (en mg.kg⁻¹),
 - en considérant qu'une abeille consomme en moyenne 12 mg de pollen par jour (toxicité par ingestion)
 - et en considérant qu'une abeille est chaque jour en contact avec 300 mg de pollen (toxicité par contact);
- à partir de la concentration dans un prélèvement de cire (en µg.kg⁻¹),
 - en considérant qu'une feuille de cire de 100 g contient environ 8 000 alvéoles, et sous l'hypothèse extrême que la larve soit exposée à la totalité de la substance toxique présente dans la cire d'un alvéole, l'exposition de chaque individu correspond à la quantité de substance contenue dans 12,5 mg de cire,
 - ce qui permet de définir, en rapportant la quantité obtenue ci-dessus à la DL₅₀, un quotient de risque pour chaque substance, qu'il est possible d'additionner avec celui des autres substances présentes pour obtenir un indicateur global de la qualité toxicologique de la cire.

Il convient cependant de rappeler que cette approche ne tient compte ni des interactions entre substances toxiques²¹ ni des interactions de ces dernières avec d'autres agents pathogènes ou facteurs de stress.

Au-delà de l'expérience du clinicien et de la qualité de sa démarche diagnostique évoquées dans les précédents chapitres, seule l'épidémiologie analytique approfondie des événements de santé des abeilles, en disposant de données conséquentes, pourrait permettre de mieux connaître les intoxications subaiguës et chroniques. Lorsqu'il sera généralisé à l'ensemble du territoire métropolitain et pleinement actif, le dispositif de surveillance événementielle qu'est l'OMAA pourra sans doute apporter un éclairage déterminant sur l'ensemble des événements de santé, grâce à l'analyse des données recueillies. Citons également les travaux menés

20- L'auteur n'envisage pas ici l'exemple de l'exposition larvaire par voie orale, dans la mesure où celle-ci est nettement plus complexe à modéliser et quantifier. En effet, pendant leurs trois premiers jours de vie, les larves d'abeilles ouvrières sont exclusivement alimentées avec de la gelée royale (sécrétion glandulaire des abeilles nourrices) très peu soumise aux contaminations chimiques selon la littérature scientifique, pour être ensuite nourries avec de la « bouillie larvaire » composée d'un mélange plus ou moins constant dans ses proportions de miel, d'eau et de pollen (ou de pain d'abeille).

21- Ces interactions sont susceptibles d'être simplement additives, fréquemment synergiques ou, parfois, antagonistes.



en conditions naturelles par l'ITSAP²² de 2014 à 2016 dans le cadre de l'ORP²³ : suivi rapproché de l'état général, de la composition des colonies (par évaluation ColEval²⁴), de l'infestation par *Varroa destructor* (comptages des *Varroa* phorétiques) et de la contamination par analyses multi-résidus de différentes matrices apicoles (cire à l'installation du rucher ; pollen, nectar et butineuses, 2 fois par semaine). Ces types d'étude épidémiologique permettent d'obtenir un ensemble cohérent de données, dont des indicateurs d'exposition et de santé des colonies, qu'il est ensuite possible d'interpréter avec rigueur et précision. Autre travail d'enquête réalisé par l'ITSAP en 2018 et 2019, le projet SurvApi a étudié la contamination du pollen et des butineuses (analyses multi-résidus) à partir de prélèvements hebdomadaires effectués pendant 2 mois dans 7 ruchers répartis sur le territoire national. La poursuite des travaux de recherche permettra d'améliorer encore les connaissances sur les différents seuils de toxicité aiguë et chronique, létale et sublétales, ainsi que sur les divers mécanismes physiopathologiques qui sont à l'origine de cette toxicité (Goblirsch & Adamczyk 2022).

Par la prise en compte globale des expositions des abeilles à différents facteurs de stress, l'étude de l'exposome dans le domaine de l'écotoxicologie semble être une voie d'avenir. Comme dans tous les domaines, l'élevage et la pathologie apicoles voient se développer l'intelligence artificielle, encore balbutiante, mais déjà armée de données, de modélisations et de « machines apprenantes » qui ne demandent qu'à progresser rapidement pour fournir une aide au diagnostic et peut-être devenir capables d'automatiser diagnostics et pronostics (Garcia-Vicente *et al.* 2024).

Les limites du clinicien

Nous l'avons vu au cours des précédents chapitres, le clinicien se trouve confronté sur le terrain à de nombreux écueils pour identifier un hypothétique cas d'intoxication chronique ou subaiguë :

- qualité et précision de l'anamnèse et des commémoratifs ;
- pertinence et qualité du suivi et des pratiques de l'apiculteur ;
- signes cliniques difficilement observables, peu évocateurs et rarement spécifiques ;
- temporalité décalée entre l'exposition et l'apparition des troubles de santé ;
- coût des analyses toxicologiques, qui s'ajoutent à celui des autres analyses nécessairement réalisées dans le cadre d'un diagnostic différentiel rigoureux ;
- difficultés d'interprétation des résultats d'analyses toxicologiques, au regard de l'évaluation d'une intoxication autre qu'aiguë (modélisation à partir des DL50, faute d'autres VTR connues pour les abeilles et le couvain pour une grande majorité des substances) ;
- multiplicité des facteurs de stress abiotiques et des agents pathogènes biologiques au sein des colonies (avec ou sans signes cliniques) ;
- etc.

Ces nombreuses incertitudes peuvent conduire à des erreurs de diagnostic, par défaut comme par excès, que le clinicien s'efforcera d'éviter ou, à tout le moins, qui l'inciteront à relativiser ses conclusions diagnostiques dans de nombreux cas. À titre d'exemples, citons :

- les éventuels diagnostics par excès :
 - la confusion avec les effets d'agents pathogènes viraux, bactériens ou parasitaires, présents seuls ou associés, qui n'auraient pas pu être diagnostiqués ou investigués ;
 - les propriétés accumulatrices et potentiellement séquestrantes de la cire qui, malgré un niveau élevé de contamination, pourraient amoindrir le transfert des contaminants toxiques depuis cette matrice vers les individus adultes, voire les immatures (Shimshoni *et al.* 2019).
- les possibles défauts de diagnostic :
 - seuils de toxicité chronique pour les abeilles et leurs larves pas ou mal connus pour de nombreuses substances toxiques (Farruggia *et al.* 2022) ;
 - manque de connaissances sur les effets subaigus et chroniques à faible concentration, les effets cumulatifs et synergiques entre substances toxiques (Wang *et al.* 2021) ou avec d'autres agents chimiques (éléments traces métalliques et autres polluants par exemple) ;
 - manque de connaissance des effets potentialisants de l'action pathogène des agents biologiques régulièrement présents au sein des colonies (*Varroa destructor*, *Nosema* spp., virus et bactéries) ;
 - manque de connaissance des impacts à plus ou moins long terme sur l'immunité, la fertilité (reines et faux bourdons), l'équilibre de la pyramide des âges et des catégories d'ouvrières ;
 - non-réalisation des analyses toxicologiques en raison de leur coût, additionnel à celui des autres analyses nécessaires de premier niveau ;
 - similitude des effets observés sur les colonies avec d'autres étiologies classiquement rencontrées : maîtrise zootechnique défailante ou pratiques d'élevage insuffisamment maîtrisées, par exemple.

22- Institut technique et scientifique de l'abeille et de la pollinisation.

23- Observatoire des résidus de pesticides.

24- Évaluation de la structure des populations des colonies d'abeilles : Colony Evaluation.



CONCLUSION

L'étude de possibles cas d'intoxications subaiguës ou chroniques est complexe pour le clinicien. Comme pour tout autre trouble de santé affectant des colonies d'abeilles, sa démarche diagnostique devra être complète et rigoureuse, de manière à inventorier l'ensemble des causes susceptibles d'être, seules ou le plus souvent associées, à l'origine des signes cliniques observés sur les individus et sur les colonies. Les analyses toxicologiques de matrices pertinentes, bien que d'interprétation complexe et parfois non conclusive, pourront éventuellement permettre, selon les cas, de confirmer ou d'infirmer une intoxication. Une meilleure connaissance des effets sublétaux et des seuils de toxicité chronique des différentes substances concernées (pesticides, acaricides apicoles, éléments traces métalliques, adultérants, etc.) est indispensable pour savoir s'il existe un lien de causalité entre les expositions, de mieux en mieux connues, et les effets néfastes observés. La réalisation d'études scientifiques tant épidémiologiques, cliniques qu'expérimentales demeure nécessaire, et ce, dans le cadre d'une démarche pluridisciplinaire « Une seule santé ».

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie les organisateurs et membres du jury du DIE en Apiculture – Pathologie apicole de l'École nationale vétérinaire de Nantes ONIRIS pour lui avoir proposé de traiter ce sujet. L'auteur remercie également les relecteurs de cet article pour leurs remarques et suggestions avisées.

CONFLITS D'INTÉRÊTS

Néant.

RÉFÉRENCES

- Alburaki M, Madella S, Cook SC. Non-Optimal Ambient Temperatures Aggravate Insecticide Toxicity and Affect Honey Bees *Apis mellifera* L. Scientific Reports. 2023; 13: 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32492-4>
- Almasri H, Tavares DA, Pioz M, Sené D, Tchamitchian S, Cousin M, et al. Mixtures of an insecticide, a fungicide and a herbicide induce high toxicities and systemic physiological disturbances in winter *Apis mellifera* honey bees. Ecotoxicol Environ Saf. 2020; 203: 111013. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111013>
- Alonso-Prados E, Gonzalez-Porto AV, Bernal JL, Bernal J, Martin-Hernandez R, Higes M. A case report of chronic stress in honey bee colonies induced by pathogens and acaricide residues. Pathogens. 2021; 10: 955. <https://doi.org/10.3390/pathogens10080955>
- Anses. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail du 30 juin 2015 relatif aux co-expositions des abeilles aux facteurs de stress. 2015. Disponible sur : <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT2012sa0176Ra.pdf>
- Astolfi A, Kadri SM, de Castro Lippi IC, Diego Mendes D, Diego Peres A, Martins Ribolla PE, et al. Field relevant doses of the fipronil affects gene expression in honey bees *Apis mellifera*. Apidologie. 2022; 53: 1-9. <https://doi.org/10.1007/s13592-022-00917-4>
- Bommuraj V, Birenboim M, Chen Y, Barel S, Shimshoni JA. Depletion kinetics and concentration- and time-dependent toxicity of a tertiary mixture of amitraz and its major hydrolysis products in honeybees. Chemosphere. 2021; 272: 129923. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129923>
- Bruckner S, Straub L, Neumann P, Williams GR. Synergistic and antagonistic interactions between *Varroa destructor* mites and neonicotinoid insecticides in male *Apis mellifera* honey bees. Front Ecol Evol. 2021; 9: 756027. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.756027>
- Chong-Yu K, Yu-Shin N, Wei L, Chun-Ting C, Yue-Wen C. Low-level fluvalinate treatment in the larval stage impaired olfactory associative behavior of honey bee workers in the field. Insects. 2022; 13(3): 273. <https://doi.org/10.3390/insects13030273>
- Di Fiore C, De Cristofaro A, Nuzzo A, Notardonato I, Ganassi S, Iafigliola L, et al. Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons, heavy metals and plasticizers residues: role of bees and honey as bioindicators of environmental contamination. Environ Sci Pollut Res. 2023; 30(15): 44234-44250. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26384-x>
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, Schrenk D, Bignami M, Bodin L, Chipman JK, del Mazo J, Grasl-Kraupp B, et al. Scientific opinion on the evaluation of the risks for animal health related to the presence of hydroxymethylfurfural (HMF) in feed for honey bees. EFSA J. 2022; 20(4): 7227. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7227>
- El Agrebi N, Traynor K, Wilmart O, Tosi S, Leinartz L, Danneels E, et al. Pesticide and veterinary drug residues in Belgian beeswax: occurrence, toxicity, and risk to honey bees. Sci Total Environ. 2020; 745: 141036. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141036>
- Farrugia FT, Garber K, Hartless C, Jones K, Kyle L, Mastropa N, et al. A retrospective analysis of honey bee (*Apis mellifera*) pesticide toxicity data. PLoS One. 2022; 17: e0265962. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265962>
- Garcia-Vicente EJ, Benito-Murcia M, Dominguez MM, Perez AP, Sanchez MG, Rey-Casero I, et al. Main causes of producing honey bee colony losses in southwestern Spain: a novel machine learning-based approach. Apidologie. 2024; 55: 67. <https://doi.org/10.1051/apido/2023043>



- Glavinic U, Rajkovic M, Ristanic M, Stevanovic J, Vajnovic B, Djelic N, *et al.* Genotoxic potential of thymol on honey bee DNA in the comet assay. *Insects*. 2023; 14(5): 14050451. <https://doi.org/10.3390/insects14050451>
- Goblirsch M, Adamczyk JJ. Using the honey bee (*Apis mellifera* L.) cell line AmE-711 to evaluate insecticide toxicity. *Environ Toxicol Chem*. 2022; 42: 88-99. <https://doi.org/10.1002/etc.5465>
- Hoffmann BD, Quinn G. Honey bee death from aerosols inadvertently produced from propelled aerial dispersal of a solid ant bait. *Pest Manag Sci*. 2022; 78(12): 5213-5219. <https://doi.org/10.1002/ps.7109>
- Jabal-Uriel C, Barrios L, Bonjour-Dalmon A, Caspi-Yona S, Chejanovsly N, Erez T, *et al.* Epidemiology of the microsporidium *Nosema ceranae* in four Mediterranean countries. *Insects*. 2022; 13(9): 13090844. <https://doi.org/10.3390/insects13090844>
- Li J, Zhao L, Qi S, Zhao W, Xue X, Wu L, *et al.* Sublethal effects of Isoclast™ Active (50% sulfoxaflor water dispersible granules) on larval and adult worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Ecotoxicol Environ Saf*. 2021; 220: 112379. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112379>
- Li Z, Qiu Y, Li J, Wan K, Nie H, Su S. Chronic cadmium exposure induces impaired olfactory learning and altered brain gene expression in honey bees (*Apis mellifera*). *Insects*. 2022; 13(11): 988. <https://doi.org/10.3390/insects13110988>
- Mackei M, Sebok C, Vöröhazi J, Traj P, Mackei F, Olah B, *et al.* Detrimental consequences of terbucanazole on redox homeostasis and fatty acid profile of honeybee brain. *Insect Biochem Mol Biol*. 2023; 159: 103990. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2023.103990>
- Mahefarisoa KL, Simon Delso N, Zaninotto V, Colin ME, Bonmatin JM. The threat of veterinary medicinal products and biocides on pollinators: a One Health perspective. *One Health*. 2021; 12: 100237. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2021.100237>
- Papa G, Maier R, Durazzo A, Lucarini M, Karabagias IK, Plutino M, *et al.* The honey bee *Apis mellifera*: an insect at the interface between human and ecosystem health. *Biology (Basel)*. 2022; 11(2): 233. <https://doi.org/10.3390/biology11020233>
- Pineaux M, Grateau S, Lirand T, Aupinel P, Richard FJ. Honeybee queen exposure to a widely used fungicide disrupts reproduction and colony dynamic. *Environ Pollut*. 2023; 322: 121131. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121131>
- Shimshoni JA, Sperling R, Massarwa M, Chen Y, Bommuraj V, Borisover M, *et al.* Pesticide distribution and depletion kinetic determination in honey and beeswax: model for pesticide occurrence and distribution in beehive products. *PLoS One*. 2019; 14(2): e0212631. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212631>
- Straw EA, Thompson LJ, Leadbeater E, Brown MJF. 'Inert' ingredients are understudied, potentially dangerous to bees and deserve more research attention. *Proc Biol Sci*. 2022; 289: 20212353. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.2353>
- Thebeau JM, Cloet A, Liebe D, Masood F, Kozii AV, Klein CD, *et al.* Are fungicides a driver of European foulbrood disease in honey bee colonies pollinating blueberries? *Front Ecol Evol*. 2023; 11: 1073775. <https://doi.org/10.3389/fevo.2023.1073775>
- Tokash R, Smart A, Wu-Smart J. Re-using food resources from failed honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies and their impact on colony queen rearing capacity. *Sci Rep*. 2023; 13(1): 18127. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-44911-2>
- Tosi S, Sfeir C, Carnesecchi E, van Engelsdorp D, Chauzat MP. Lethal, sublethal, and combined effects of pesticides on bees: a meta-analysis and new risk assessment tool. *Sci Total Environ*. 2022; 844: 156857. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156857>
- Traynor KS, van Engelsdorp D, Lamas ZS. Social disruption: sublethal pesticides in pollen lead to *Apis mellifera* queen events and brood loss. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2021; 214: 112105. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112105>
- Wang Y, Zhu YC, Li W, Yao J, Reddy GVP, Lv L. Binary and ternary toxicological interactions of clothianidin and eight commonly used pesticides on honey bees (*Apis mellifera*). *Ecotoxicol Environ Saf*. 2021; 223: 112563. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112563>
- Wu T, Gao J, Choi YS, Kim DW, Han B, Yang S, *et al.* Interaction of chlorothalonil and *Varroa destructor* on immature honey bees rearing *in vitro*. *Sci Total Environ*. 2023; 904: 166302. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166302>

