

ACARAPISOSE DES ABEILLES MELLIFÈRES

RÉSUMÉ

*L'acarapisose (connue également sous le nom d'acariose ou de maladie d'acarine) est une maladie de l'abeille mellifère adulte *Apis mellifera* L. et des autres espèces d'*Apis*. Elle est provoquée par l'acarien Tarsonémidé, connus sous le nom d'acarien des trachées, *Acarapis woodi* (Rennie). L'acarien mesure approximativement 150 µm ; c'est un parasite interne du système respiratoire qui vit et se reproduit principalement dans la première paire des trachées thoraciques de l'abeille. Parfois les acariens sont retrouvés dans les sacs aériens de la tête, du thorax et de l'abdomen. Les acariens s'alimentent avec l'hémolymphe de leur hôte.*

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. L'augmentation du nombre de parasites entraîne une opacité et une décoloration des parois des trachées avec des secteurs tachés de noir, probablement dus aux couches de mélanine.

Le taux de mortalité varie de moyen à élevé. Les manifestations précoces d'infection sont normalement inapparentes, elles deviennent évidentes seulement lors de fortes infections. Elles ont lieu habituellement au début du printemps. Les infections se propagent par contact direct. Généralement, une période de 10 jours est nécessaire après le premier contact du parasite pour que les abeilles déclarent l'acarapisose. La reproduction des acariens se produit dans les trachées des abeilles adultes, où les femelles peuvent pondre de 8 à 20 œufs. Il y a 2 à 4 fois plus de femelles que de mâles. L'incubation est de 11 à 12 jours pour les mâles et 14 à 15 jours pour les femelles.

Identification de l'agent pathogène : *la présence du parasite est mise en évidence par des méthodes de laboratoire et de microscopie. Les acariens peuvent être observés à l'intérieur des trachées ou être extraits de celles-ci et observés au microscope. Plusieurs techniques sont disponibles pour démontrer la présence des acariens, tels que la dissection, le broyage et la coloration.*

Les thorax des abeilles suspectes sont disséqués pour exposer la trachée. Chaque trachée est examinée au microscope (x18-20) : les acariens apparaîtront sous la forme de petits corps ovales fixés à la paroi transparente de la trachée.

Lorsque le nombre d'abeilles suspectes le permet, ces dernières peuvent être broyées et homogénéisées dans l'eau ; la suspension est soumise à une filtration grossière et à une centrifugation. Le dépôt est traité avec de l'acide lactique non dilué pendant 10 min. Cette préparation est ensuite montée entre lame et lamelle et examinée au microscope.

Les parasites peuvent être colorés par des techniques histologiques de sorte qu'ils puissent être observés dans la trachée d'abeille. Les trachées sont extraites, éclaircies avec de l'hydroxyde de potassium à 8 %, et colorées avec du bleu de méthylène à 1 %. C'est la méthode la mieux adaptée pour un grand nombre d'échantillons.

Épreuves sérologiques : *il n'existe pas d'épreuves sérologiques applicables pour le diagnostic.*

Spécifications applicables aux vaccins et aux produits biologiques à usage diagnostique : *il n'y a aucun produit biologique disponible. Les cristaux de menthol sous forme de pâtes faites avec de l'huile végétale (graisse non animale) et du sucre blanc en poudre maintiendront les niveaux d'acariens sous des seuils acceptables.*

A. INTRODUCTION

L'acarapisose est une maladie de l'abeille adulte *Apis mellifera* L. et des autres espèces d'*Apis*, provoquée par l'acarien microscopique tarsonémidé, *Acarapis woodi* (Rennie). L'acarien mesure approximativement 150 µm ; c'est un parasite interne du système respiratoire (Figure 1). Ces acariens des trachées entrent, vivent, et se reproduisent principalement dans les grandes trachées prothoraciques de toutes les abeilles, s'alimentant de leur hémolymphe (Figure 2). Parfois ils sont également trouvés dans les sacs aériens de la tête, du thorax et de l'abdomen (6, 18).

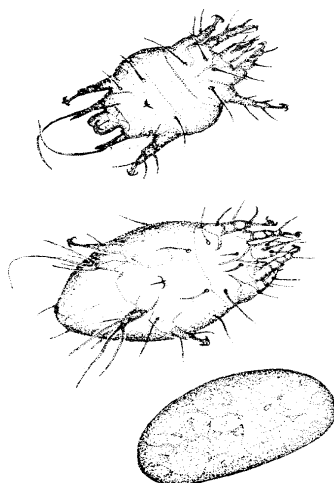


Fig. 1. *Acarapis woodi*, Rennie. En haut : mâle adulte, au centre : femelle adulte, en bas : œuf.

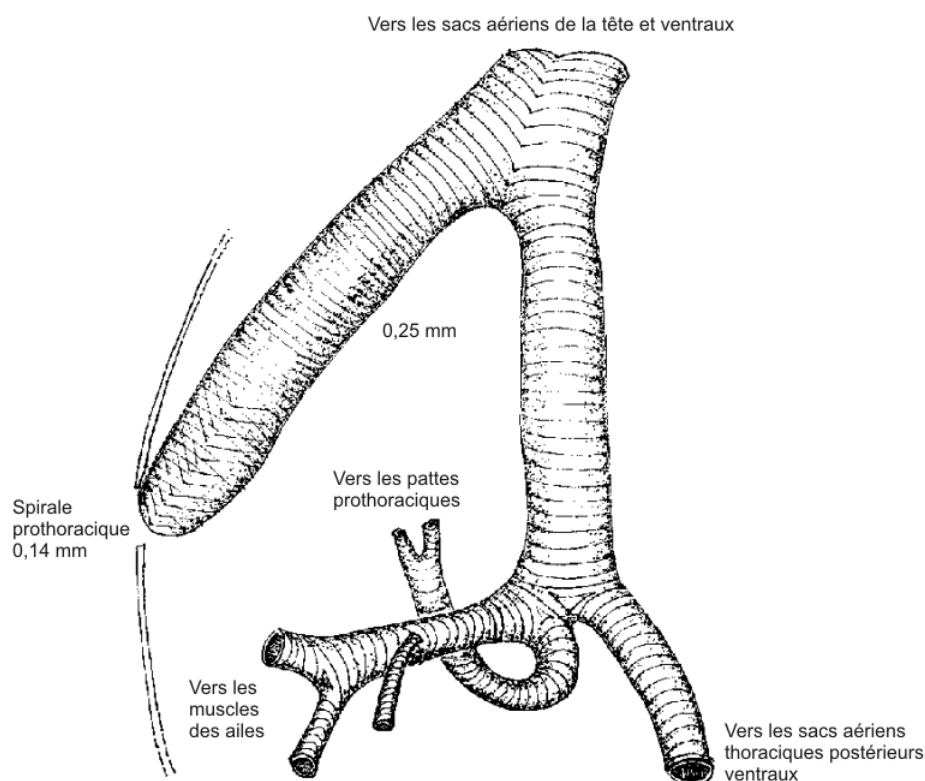


Fig. 2. Trachées thoraciques principales d'abeille où *Acarapis* est généralement trouvé ; lors d'infestations légères, les parasites sont situés près de l'ouverture des spiracles.

Les effets pathogènes sur les individus dépendent du nombre de parasites dans les trachées et 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 déperdition en hémolymphe. À mesure que la population de parasites augmente, les parois des trachées, normalement blanchâtres et translucides, deviennent opaques et décolorées avec des secteurs tachés de noir, probablement dus aux couches de mélanine (5).

Le taux de mortalité varie de moyen à élevé. Les infections précoces sont, en général, inapparentes, excepté une faible diminution de la taille de la colonie. Seulement, lors de fortes infections la maladie devient évidente. Elles ont lieu habituellement au début du printemps après la période de confinement hivernale où les acariens se sont reproduits et multipliés tranquillement dans des abeilles d'hiver dont la durée de vie est plus longue. Ceci est particulièrement vrai dans l'hémisphère nord où la reproduction des abeilles dépend des variations saisonnières.

L'infection se propage d'une abeille à l'autre par contact direct. Généralement, une période de 10 jours avec le parasite est nécessaire pour que les abeilles marquent des signes cliniques. Les tentatives d'élevage d'*A. woodi* sur des milieux artificiels et synthétiques ont été infructueuses, et l'élevage de ceux-ci sur les stades immatures d'abeille n'a été que partiellement réussi (7). La durée de vie des acariens dans les abeilles mortes est approximativement d'une semaine. La reproduction a lieu dans les trachées des abeilles adultes où les acariens femelles pondent entre 8 à 20 œufs. Il y a 2 à 4 fois plus de femelles que de mâles. L'incubation est de 11 à 12 jours pour les mâles et 14 à 15 jours pour les femelles.

Il n'existe aucun signe clinique fiable pour le diagnostic de l'acarapisose car les signes de l'infection ne sont pas spécifiques et les abeilles infectées se comportent plus ou moins de la même façon que pour d'autres maladies ou intoxications. Elles rampent autour et devant la ruche, grimpent sur les brins d'herbe, incapables de voler et peuvent être atteintes de dysenterie.

B. TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC

1. Identification de l'agent pathogène

L'acarapisose ne peut être détectée en laboratoire qu'en utilisant un microscope ou par une méthode immuno-enzymatique (ELISA). Il n'y a aucune méthode fiable pour la détection des infections primaires. Le nombre d'abeilles prélevées détermine le seuil de détection de la méthode. Il a été observé qu'un taux de 1 à 2 % d'infection peut être détecté en prélevant 50 abeilles. Des données séquentielles de prélèvement sont disponibles (4, 17). Le meilleur moment pour le prélèvement des échantillons d'abeilles se situe au début du printemps ou à la fin de l'automne (hémisphère nord), lorsque les populations d'*Acarapis* sont les plus fortes. La visualisation des acariens est plus facile sur des abeilles plus âgées, qui ont plus d'acariens. Les castes de reines, de faux-bourçons ou d'ouvrières peuvent être utilisées, mais *Acarapis* préfèrent la caste des faux-bourçons.

a) Dissection (8)

Un échantillon de 50 abeilles (voir au-dessus) est prélevé au hasard à partir de colonies suspectes. Ce sont principalement des abeilles rampantes et incapables de voler, trouvées à 3 mètres devant la ruche. Ceci est préférable à un prélèvement aléatoire à l'intérieur de la colonie. Les abeilles peuvent être vivantes, mourantes, ou mortes. Les abeilles vivantes doivent d'abord être tuées avec de l'alcool éthylique ou dans une chambre de congélation (–20 °C) ; les abeilles ne doivent pas être mortes depuis plus de 2 ou 3 jours ; cependant elles peuvent être conservées jusqu'à 4 semaines à 4 °C ou pendant plusieurs mois à –20 °C. Elles peuvent être préservées indéfiniment dans un fixateur tel que la solution d'Oudemann : acide acétique glacial (80 ml) ; glycérol (50 ml) ; et éthanol à 70 % (870 ml).

- **Protocole : préparation directe (15, 18)**

- i) Séparer l'abdomen du thorax (voir Figure 3) ;
- ii) Prélever le thorax avec des éléments de la tête et examiner à la loupe binoculaire (agrandissement de 20 à 30 fois) ;
- iii) Retirer le sclérite pleural du premier segment thoracique ainsi que la première paire de pattes à l'aide d'une paire de pinces. Les conduits principaux de la branche thoracique et des branches céphaliques de la trachée sont alors visibles à travers l'orifice circulaire ;
- iv) À l'aide d'une paire de pinces très fines, retirer le tergite thoracique du premier segment thoracique et une partie du deuxième tergite thoracique. Après avoir retiré la musculature superficielle, les deux trachées thoraciques sont mises en évidence. Un diagnostic positif est porté quand on observe soit une mélanisation d'une des deux trachées soit, en cas d'infestation légère, la présence de corps ovales translucides (œufs, etc.) aisément visibles à travers les trachées ;

- v) Pour un examen microscopique approfondi (c.-à-d. pour la confirmation d'une infestation légère), il convient de retirer les trachées et de les déposer sur une lame avec une goutte d'eau. Au microscope avec un grossissement de 100 fois, les parasites adultes et les divers stades de développement sont facilement distingués.

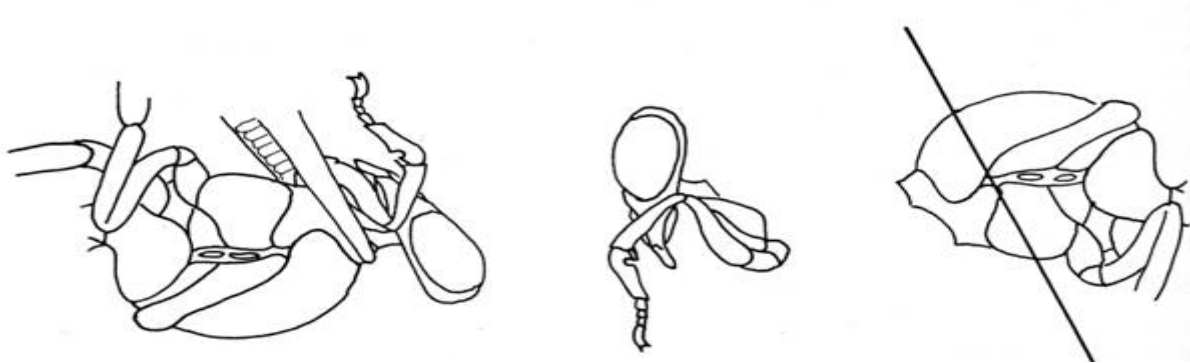


Fig. 3. Préparation des abeilles en vue de la mise en évidence d'*Acarapis woodi* dans la première paire des trachées thoraciques.

• **Protocole : macération (15)**

- i) Poser et maintenir les abeilles sur le dos ou les tenir entre le pouce et l'index ;
- ii) Couper les têtes et les pattes antérieures à l'aide d'un petit ciseau et enlever la membrane intersegmentaire entourant l'ouverture du cou pour exposer les trachées (Figure 4). Vérifier les trachées au plus près du spiracle (les acariens entrent par le spiracle) pour observer des infestations faibles. Les fortes infestations sont facilement visibles car l'on peut observer des ombres ou des corps foncés dans l'espace libre des trachées brun foncé. Des infestations anciennes et importantes vont faire brunir voire noircir les trachées ;
- iii) Couper le thorax entre la deuxième paire de pattes et la base du mésothorax avec un scalpel pointu. Ces disques minces peuvent encore être traités pour éclaircir les tissus musculaires ;
- iv) Faire macérer les disques soit en chauffant doucement dans une solution à 8 % d'hydroxyde de potassium pendant approximativement 20 min soit en les laissant sans chauffage durant toute une nuit ;
- v) Examiner la première paire de trachées, recouverte par le tissu musculaire, au microscope au grossissement $\times 18$ à 20, ou transférer les trachées sur une autre lame, ajouter de la glycérine ou de l'eau et observer avec un plus fort grossissement ;
- vi) Les acariens sont facilement observables sur la paroi transparente en tant que petits corps ovoïdes.

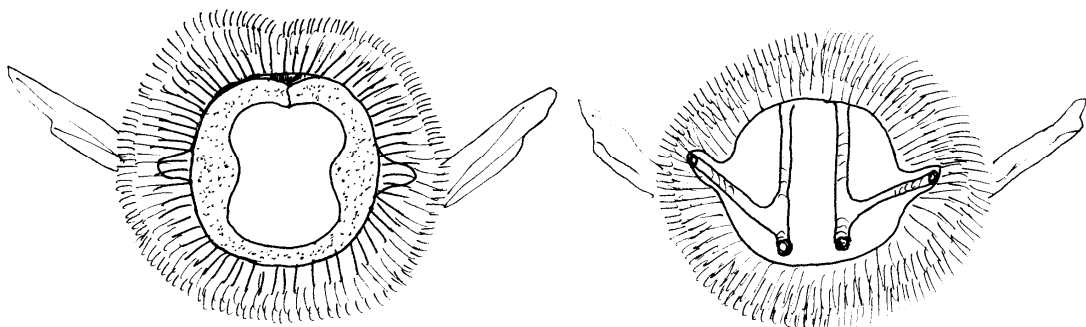


Fig. 3.

vue de face du thorax d'abeille la tête étant coupée et la membrane intersegmentaire du cou intacte

sans la membrane intersegmentaire du cou, trachées exposées au niveau des ouvertures des spiracles

Cette technique est la plus simple et la plus fiable pour le diagnostic de l'acarapiose, elle permet la détection précoce d'infection et permet d'établir le taux d'infection. Même des infections faibles peuvent être détectées à l'aide d'un microscope disséquant avec cette technique. Seulement pour des cas isolés, il sera nécessaire d'utiliser des grossissements optiques plus élevés pour faire le diagnostic. Cependant, il s'agit d'une technique exigeante, particulièrement lorsque un grand nombre de diagnostics doit être effectué. Si le

but est seulement de distinguer une infection forte d'une infection légère ou une colonie non infectée, la dissection peut être arrêtée à l'étape ii) et à la couleur des trachées observées.

b) Broyage (3)

Un échantillon d'environ 200 abeilles est collecté au hasard dans la colonie suspecte. Les ailes et les pattes de chaque abeille sont découpées du thorax, et les thorax seuls sont rassemblés dans un récipient de 100 ml contenant un quart d'eau. Cette suspension est homogénéisée 3 fois, chaque fois pendant plusieurs secondes à 10 000 tr/min dans un homogénéisateur. La suspension résultante est passée au travers d'un filtre (maille 0,8 mm) qui est rincé avec approximativement 50 ml d'eau. L'éluat est centrifugé à 1 500 *g* pendant 5 min et le surnageant est jeté. Quelques gouttes de solution non diluée d'acide lactique sont ajoutées au culot, qui contient les acariens. Le culot est incubé pendant 10 min pour permettre aux fibres musculaires de se dissoudre, puis monté entre lame et lamelle pour l'examen au microscope. Cette technique est plus rapide que la dissection, mais est moins précise. Les acariens externes *A. externus*, *A. vagans* et *A. dorsalis*, qui sont morphologiquement semblables aux *A. woodi*, sont souvent trouvés sur le thorax des abeilles saines et peuvent très facilement être confondus avec *A. woodi*. (Tableau 1). Il semble, cependant, qu'ils ne causent aucune menace sérieuse pour les abeilles ou l'apiculture. Cette méthode devrait être choisie seulement pour évaluer approximativement le degré d'infection d'une région. Elle n'est pas appropriée pour déterminer une infection primaire.

Tableau 1. Différences observées entre les espèces d'Acarapis (15)

Critères	<i>A. dorsalis</i>	<i>A. externus</i>	<i>A. woodi</i>
Sillon ventral coxal	Profond	Court	Plat
Espace entre les stigmates	16,7 µm	16,8 µm	13,9 µm
Longueur du tarse (4 ^e paire de pattes)	7,6 µm	11,4 µm	7,5 µm

c) Coloration (11)

Les acariens et les trachées peuvent être colorés spécifiquement, les rendant facilement visibles en microscopie.

• Protocole

- i) Couper la tête et les pattes ;
- ii) Faire une coupe transversale à travers la surface membraneuse derrière les pattes antérieures ;
- iii) Faire une deuxième coupe transversale devant la deuxième paire de patte à la base des ailes antérieures ;
- iv) Pour dissocier les coupes (1 à 1,5 mm d'épaisseur), les placer dans une solution à 8 % d'hydroxyde de potassium ;
- v) Remuer et chauffer doucement près du point d'ébullition pendant approximativement 10 min jusqu'à ce que les tissus internes soient dissous et dégagés, laissant les tissus chitineux intacts ;
- vi) Récupérer les coupes par filtration et les laver à l'eau ;
- vii) Colorer et monter les coupes ;
- viii) Examiner les acariens par microscopie en faible grossissement.

Des montages permanents entre lames et lamelles sont préparés par les techniques histologiques habituelles.

Les colorations cationiques sont les plus spécifiques car elles colorent fortement les acariens et laissent les trachées faiblement colorées. Une solution de bleu de méthylène aqueux à 1 % est la plus appropriée : dissoudre le bleu de méthylène puis ajouter le chlorure de sodium pour faire une solution de NaCl à 0,85 %.

- **Protocole**

- i) Coloration au bleu de méthylène aqueux à 1 % ;
- ii) Différencier les sections avec de l'eau distillée pendant 2 à 5 min ;
- iii) Rincer les sections dans l'alcool à 70 %.

Lorsqu'ils sont maintenus dans l'éthanol à 95 %, les acariens garderont la coloration pendant 6 h (1). Il est essentiel, avec cette technique de faire macérer efficacement les tissus dans la solution d'hydroxyde de potassium. En utilisant cette méthode, il est possible de traiter rapidement et commodément un grand nombre d'échantillons.

d) Méthode immuno-enzymatique

Un test ELISA pour les acariens des trachées a été développé (9, 13, 14). Ce test peut produire des résultats faux-positifs. Il est donc seulement recommandé pour des examens préliminaires. Une autre méthode est la visualisation de la guanine, un déchet azoté produit par les acariens (12).

C. SPÉCIFICATIONS APPLICABLES AUX VACCINS ET AUX PRODUITS BIOLOGIQUES À USAGE DIAGNOSTIQUE

Il n'existe aucun produit biologique disponible. Les cristaux de menthol (50 g pour une forte colonie) permettent de contrôler les acariens dans la mesure où ils sont laissés dans la colonie pendant 28 jours et à condition que la température ambiante soit au moins de 18 °C. La gamme de température optimale pour que les vapeurs soient efficaces est comprise entre 27 à 29 °C. Les pâtes faites avec de la matière grasse végétale (par exemple margarine, graisse non animale) et du sucre blanc en poudre maintiendront les niveaux d'acarien à 10 %. La pâte (environ 100 g) devra être placée sur le haut des cadres de couvain en automne et au début du printemps (16). L'acide formique peut être employé pour traiter les colonies infectées (10).

Quelques races d'abeilles, telles que les abeilles Buckfast (2) avec un comportement plus hygiénique, sont moins sensibles aux attaques par *Acarapis woodi*.

REMERCIEMENTS

Les Illustrations sont de Diana Sammataro et Wolfgang Ritter, et sont reproduites avec leur permission.

Une publication de la FAO, « Honey bee diseases and pests: a practical guide », W. Ritter & P. Akkratanakul (eds). Agricultural and Food Engineering Technical Report No. 4. FAO, Rome, Italy, 42 pp. ISSN 1814-1137 TC/D/A0849/E, est disponible gratuitement à l'adresse internet suivante : http://www.fao.org/WAICENT/faoINFO/AGRICULT/ags/subjects/en/industFoodAg/pdf/AGST_techrep_4.pdf

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BANCROFT J.D. & STEVENS A. (1982). Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone, Edinburgh, UK.
2. BROTHER A. (1968). 'Isle of Wight' or acarine disease: its historical and practical aspects. *Bee World*, **49**, 6-18.
3. COLIN M.A., FAUCON J.P., GIANFERT A. & SARRAZIN C. (1979). A new technique for the diagnosis of Acarine infestation in honey bees. *J. Apic. Res.*, **18**, 222–224.
4. FRAZIER M.T., FINLEY J., HARKNESS W. & RAJOTTE E.G. (2000). A sequential sampling scheme for detecting infestation levels of tracheal mites (Heterostigmata: Tarsonemidae) in honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. *J. Economic Entomol.*, **93** (3), 551.
5. GIORDANI G. (1964). Recherches au laboratoire sur *Acarapis woodi* (Rennie), agent de l'acariose des abeilles (*Apis mellifera* L.). Note 3. *Bull. Apic.*, **7**, 43–60.

6. GIORDANI G. (1965). Recherches au laboratoire sur *Acarapis woodi* (Rennie), agent de l'acariose des abeilles (*Apis mellifera* L.). Note 4. *Bull. Apic.*, **8**, 159–176.
7. GIORDANI G. (1970). Ricerche di laboratorio su *Acarapis woodi* (Rennie), agente dell'acarosi delle api mellifiche (*Apis mellifera* L.) Nota 6. *Ann. Acc. Naz. Agric.*, **90**, 69–76.
8. GIORDANI G. (1974). Méthodes de diagnostic des maladies des abeilles adultes. Diagnostic de l'acariose. *Bull. Apic.*, **17**.
9. GRANT G., NELSON D., OLSEN P. & RICE W.A. (1993). The ELISA detection of tracheal mites in whole honey bee samples. *Am. Bee J.*, **133**, 652–655.
10. HOOD W.M. & MCCREADIE J.W. (2001). Field tests of the Varroa Treatment Device using formic acid to control Varroa destructor and Acarapis woodi. *J. Agric. Urban Entomol.*, **18** (2), 87.
11. PENG Y. & NASR M.E. (1985). Detection of honey bee tracheal mites (*Acarapis woodi*) by simple staining techniques. *J. Invertebr. Pathol.*, **46**, 325–331.
12. MOZES-KOCH R. & GERSON U. (1997). Guanine visualization, a new method for diagnosing tracheal mite infestation of honey bees. *Apidologie*, **28**, 3–9.
13. RAGSDALE D. & FURGALA B. (1987). A serological approach to the detection of *Acarapis woodi* parasitism in honey bees using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Apidologie*, **18**, 1–10.
14. RAGSDALE D. & KJER K.M. (1989). Diagnosis of tracheal mite (*Acarapis woodi* Rennie) parasitism of honey bees using a monoclonal based enzyme-linked immunosorbent assay. *Am. Bee J.*, **129**, 550–553.
15. RITTER W. (1996). Diagnostik und Bekämpfung der Bienenkrankheiten (Diagnosis and control of bee diseases). Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, Germany.
16. SAMMATARO D. & NEEDHAM G.R. (1996). Host-seeking behaviour of tracheal mites (Acari: Tarsonemidae) on honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Exp. Appl. Acarol.*, **20**, 121–136.
17. TOMASKO M., FINLEY J., HARKNESS W. & RAJOTTE E. (1993). A sequential sampling scheme for detecting the presence of tracheal mite (*Acarapis woodi*) infestations in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Penn. State Agric. Exp. Stn Bull.*, 871.
18. WILSON W.T., PETTIS J.S., HENDERSON C.E. & MORSE R.A. (1997). Tracheal mites. In: Honey Bee Pests, Predators and Diseases, Third Edition. Al Root publishing, Medina, Ohio, USA, pp 255–277.

*
* *

NB : Il existe plusieurs Laboratoires de référence de l'OIE pour les maladies des abeilles (se reporter à la liste de la partie 3 de ce *Manuel terrestre* ou consulter le site internet de l'OIE pour une liste actualisée : www.oie.int).