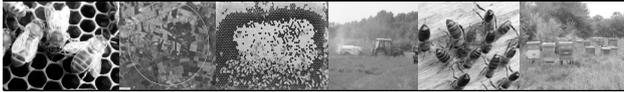


**L'Abeille mellifère (*Apis mellifera*)
Sentinelle de la santé des Écosystèmes,
une étude dans l'ouest de la France
2007-2010**

PlateForme Environnementale Vétérinaire - Ecole Nationale Vétérinaire,
Agroalimentaire et de l'Alimentation, Nantes Atlantique



- École Nationale Vétérinaire de Nantes ONIRIS

PLATEFORME ENVIRONNEMENTALE VÉTÉRINAIRE, CVFSE = Équipe pluridisciplinaire

- Vétérinaires : HP, toxicologie ; SB, épidémiologie, écologie ; MLH, parasitologie, écoépidémiologie, pathologie apicole
- Biologiste : OL, ingénieur détude
- Sociologue : IG, Ingénieur d'étude
- « SIGiste » : MP, Master 2
- Équipe technique et administrative

- Différents laboratoires d'analyses prestataires

Le « problème Abeille »

- Depuis 15 ans Problème récurrent, indéniable
- Bouleversement de la situation sanitaire
 - Augmentation des pertes indéniable
 - Démultiplication des hypothèses de pertes
- Bouleversement de la situation organisationnelle
 - Tout le monde a une opinion.....
 - Tout le monde veut faire « du sanitaire ».....
 - Tout le monde veut faire de l'épidémiologie, écotoxicologie, écopathologie, écoépidémiologie
 - Tout le monde prélève.....
 - Tout le monde fait doser des toxiques ici et là
 - Tout le monde avance quasi-seul dans une direction opposée à celle du voisin
 -
- Tout le monde « crie au loup ».....

Plan

- **Définitions**
 - **Écosystème**
 - Évolution des écosystèmes
 - Évaluation de la santé des écosystèmes
 - **Pollution de l'écosystème**
 - **Épidémiologie.....**
 - **Sentinelle, témoin, bio-indicateur, bio-marqueur....**
- **Étude sentinelle Abeille, Pays de la Loire**

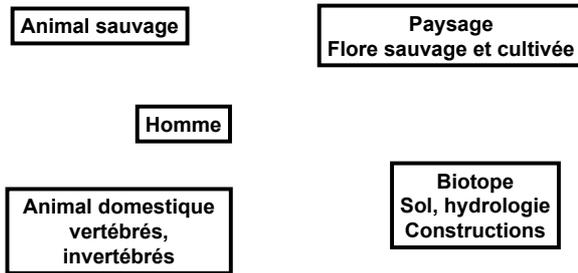
Définition d'un écosystème (agro-écosystème) (1)

- **Constitution d'un écosystème**
 - biotope (milieu physique et chimique)
 - biocénose (ensemble des êtres vivants qui l'habitent)
- **Ensemble constitué d'éléments ayant des interactions**
 - Actions : effet du milieu sur êtres vivants
 - Réactions : effet des êtres vivants sur le milieu
 - Coactions : effets des êtres vivants entre eux

Définition d'un écosystème (agro-écosystème) (2)

- **Constitution d'un agro-écosystème**
 - **Biotope**
 - Sol, réseau hydrographique
 - Constructions
 - Habitations humaines
 - Bâtiments d'élevage
 - **Biocénose**
 - **Faune**
 - Homme
 - Animaux domestiques (vertébrés, invertébrés)
 - Animaux sauvages (vertébrés, invertébrés)
 - **Flore sauvage et cultivée**
 - Paysage agricole (pâtures, cultures, réserves de denrées et de fourrages...)
 - Paysage « sauvage » (abords, bois, haies, friches...)

Agro-écosystème, composition, biodiversité



Agro-écosystème, interactions

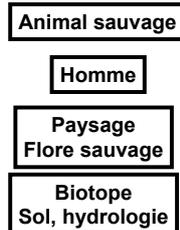
- Qui ? Quoi ?
 - Animal sauvage sympatrique, animal domestique, Homme, paysage
- Où ? lieu d'interactions
 - Locaux d'élevage et abords
- Quand ? moment d'interactions
 - Contact direct
 - Contact indirect : vecteur, hôte intermédiaire
- Comment ? types d'interactions
 - Prédation
 - Agents pathogènes
 - Agents chimiques
 - Dégâts
 -

Divers classements en fonction de l'activité humaine

- 1 - Actions « positives » et « négatives » d'une espèce dans agro-écosystème
- 2 - Types « réglementaires » des espèces

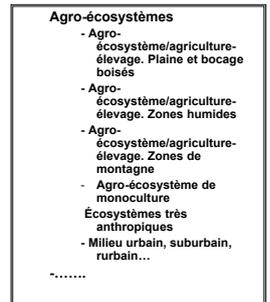
Évolution des écosystèmes et de la biodiversité

- Historiquement, Homme en harmonie avec la nature : gibier, savanes, forêts vierges
- Déforestation pour le développement de l'agriculture et de l'élevage « domestication »
- Constructions pour l'Homme et l'animal
- Constitution de réserves pour l'alimentation humaine et animale « ravageurs »
- Découverte du monde, voyages, espèces de faune et de flore invasives « espèces invasives »



Évolution des écosystèmes

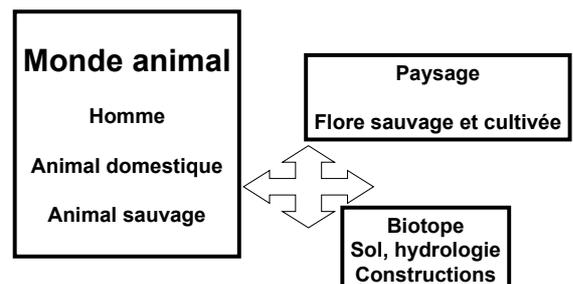
- Évolution des « écosystèmes naturels »
 - Facteurs abiotiques (hydrologie, pédologie)
 - Facteurs biotiques modifiés par Homme
 - Structure du paysage
 - ouverture, fermeture
 - bocage, haie
 - corridors biologiques, coulées vertes,
 - Composition du paysage (essences)
 - Composition de la faune en découle installation, survie de la faune **sympatrique**
 - Apport de faune invasive
- Évolution de la **Biodiversité**
 - Notion qualitative et quantitative (temps, espace) des gènes, espèces, écosystèmes.....



Évolution des écosystèmes : « cycle d'évolution du paysage »

- Forêts vierges, savanes, toundra, animal sauvage
- Ouverture de clairières : cultures, élevage d'animaux domestiques
- Monocultures, « monoélevage »
- Dégradation de la « santé des écosystèmes »
 - Effets délétères des traitements des animaux ou cultures
 - Résistance des parasites (élevage du Mouton en Nouvelle Zélande...), résistance Varroa
 - Disparition des bousiers (Australie...), problème abeille...
 - Destruction de l'écosystème par dégradation du paysage
- Abandon de l'exploitation : friches
- Retour à la « situation d'origine » en 200 ans, (cartes phyto-écologiques, ou phyto-sociologiques)(si pas de modification climatique remarquable)
 - Strate herbacée (plantes annuelles, puis pérennes)
 - Strate arbustive
 - Strate arborée

Écosystème, composition, biodiversité

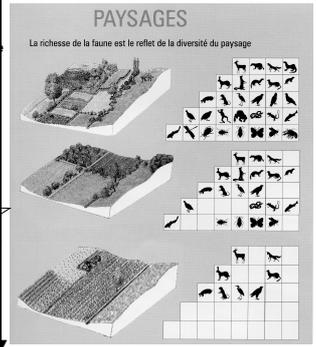


Biodiversité, concept récent (E. Wilson, 1988)

- La limite entre deux « époques »,
 - l'« ancienne », perception du monde vivant : ensemble immuable,
 - La « moderne », actuelle
 - Perception d'une nature « épuisable »
 - Perception de l'utilisation par l'Homme (Nature = « diversité biologique » « variabilité du monde vivant » « vie sur terre »)
- Biodiversité définie à un moment, pour un milieu
 - Biodiversité naturelle/Biodiversité fonctionnelle
 - Paysages agricoles... 55 % du territoire français
- Concept de biodiversité prend en compte
 - Le nombre des espèces vivantes (diversité des espèces)
 - Leurs caractéristiques, leur matériel génétique (diversité des individus)
 - Écosystèmes dans lesquels elles s'intègrent (diversité des communautés)

Évolution des écosystèmes / cycle d'évolution du paysage, de la biodiversité

- Forêts vierges, savanes, toundra, animal sauvage
- Ouverture de clairières : cultures, élevage d'animaux domestiques
- Monocultures, « monoélevage »
- Dégradation de la « santé des écosystèmes » Déséquilibre
 - Effets délétères de l'utilisation du paysage
 - Effets délétères des traitements des animaux ou cultures
- Abandon de l'exploitation : friches
- Retour à la « situation d'origine » en 200 ans, (cartes phyto-écologiques, ou phyto-sociologiques) (si pas de modification climatique remarquable)



Risques chimiques et biologiques dans l'environnement

- Risque biologique lié à la présence et au développement d'Agents vivants pathogènes
 - Parasites
 - Acariens, insectes
 - Helminthes
 - Protozoaires
 - Champignons
 - Virus
 - Bactéries
- Risque chimique liés à l'emploi de :
 - Substances de traitements contre « ravageurs, pestes.... » des animaux ou des végétaux : produits phytosanitaires (phytopharmaceutiques), biocides, médicaments

La contamination générale de l'environnement

- La contamination par les produits chimiques générés par les pratiques des utilisateurs du paysage (activités humaines) est une évidence
- Les polluants sont considérés comme dangereux
- Le rôle de l'écotoxicologie est :
 - de localiser les milieux et les zones pollués : air, sol, eau, plantes, animaux,
 - d'identifier les polluants présents,
 - et d'évaluer le risque qu'ils font courir à la santé de l'Homme et des autres organismes vivants.

La chimie analytique

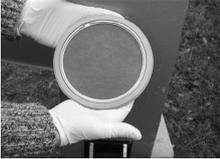
- permet de mesurer les substances telles que les pesticides = substances phytosanitaires + biocides et les médicaments vétérinaires et humains et leurs métabolites dans les milieux et matrices les plus divers (*méthodes de plus en plus fines*).
- ne donne aucune information sur le risque toxique

Les tests toxicologiques de laboratoire

- conduits sur un petit nombre d'espèces animales établissent la nature des effets toxiques et les relations dose-effet.
- le risque peut ensuite être calculé en fonction du degré d'exposition des animaux ou de l'Homme.
- permettent une évaluation indispensable en première approche .
- pas de données sur variables rencontrées en conditions naturelles :
 - autres espèces animales,
 - populations hétérogènes,
 - stades physiologiques,
 - interactions avec d'autres polluants, etc.

Surveillance de l'air, de l'eau

- Prélèvements en zones définies
- Calendrier des prélèvements
- Définition des polluants à doser
- Étude dynamique sur plusieurs années évolution
- Gestion des risques



L'épidémiosurveillance de l'environnement

- destinée à compléter cette première approche à l'aide d'outils appropriés, indicateurs biologiques, animaux sentinelles, bio-marqueurs.
- grâce à des « outils » biologiques
 - animal (végétal) sentinelle
 - espèce bio-indicatrice
- animaux/végétaux informent sur les milieux dans lesquels ils vivent.

Épidémiologie (définition Wikipédia)

- L'épidémiologie est l'étude des facteurs influant sur la santé et les maladies des populations humaines et animales.
- Il s'agit d'une science qui se rapporte à la répartition, à la fréquence, à la cause et à la gravité des états pathologiques.

Épidémiologie Surveillance active et Surveillance passive

- ÉPIDEMIOLOGIE
- Protocole = questionnaire + prélèvement + analyses + interprétation statistique
- Surveillance active
 - Études rétrospectives
 - Études prospectives
 - Étude de cohorte
 - Étude cas-témoin
- Surveillance passive : Épidémiosurveillance recueil des constats

Données chiffrées interprétables

- Surveillance passive : constats de terrain identifiés (causes, chiffres...)
- Surveillance active : études scientifiques coordonnées... statistiques

ÉPIDÉMIOLOGIE INCITE LA MISE EN PLACE DES MÉTHODES DE LUTTE RAISONNÉES

Évaluation de la santé de l'écosystème

- Méthodes d'évaluation pertinentes
 - Choix d'un dispositif expérimental d'exposition aux polluants (agent chimique ou agent biologique) environnementaux
 - Evaluation du risque pour les espèces (animales ou végétales) cibles et non cibles (y compris l'Homme)
- Outils performants adaptés aux questions
 - SENTINELLE
 - BIO-INDICATEUR
 - BIO-MARQUEUR



ESPÈCE SENTINELLE

- « Dispositif destiné à collecter, systématiquement et régulièrement, des données sur des animaux exposés à la pollution environnementale » *National Research Council, 1991*
- Donne un signal précoce (déclenchement éventuel d'alerte)
- Méthode : prélèvement de l'espèce, dosage des bio-marqueurs
- Choix de l'espèce
 - Espèce présente, ou disposition dans l'écosystème
 - Individus en nombre suffisant
 - Espèce exposée au toxique ou à l'agent pathogène recherché
 - Pré-requis (durée de vie, position dans la chaîne alimentaire, aire de dispersion)
 - Possibilité d'animaux témoins
 - Existence d'études préliminaires

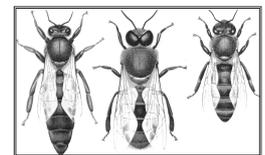
Espèce sentinelle...

- ✓ indique : absence ou présence du « danger »
- ✓ évalue les effets de ce danger sur « santé environnementale » (niveau organique, tissulaire, cellulaire ou moléculaire de l'individu)
- ✓ est en place, ou est spécifiquement mise en place pour informer sur la pollution environnementale

« danger » : agent chimique ou agent vivant pathogène

Sentinelles : critères de sélection d'une espèce appropriée

- Groupes zoologiques - Espèces potentielles
- Invertébrés
 - Terrestres : vers de terre, insectes...
 - Aquatiques : coquillages, crustacés, insectes
- Vertébrés
 - Reptiles, amphibiens
 - Poissons
 - Oiseaux
 - Goélands, pigeons,
 - Rapaces (envn), canari
 - Mammifères
 - Domestiques : Chien, Chat, animaux de production
 - Sauvages : micromammifères



Sentinelles : avantages

- Exposition des animaux à des conditions naturelles et à doses réalistes
- Effets toxiques sur tout le cycle de vie (vie plus courte que l'Homme), voire plusieurs générations
- Considérations éthiques/épidémiologie humaine
- Exposition au danger, d'animaux de tous âges, sexe...

Sentinelles : limites

- Pas de substitution aux tests toxicologiques
- Limites
 - Pas de juste transposition à l'Homme
 - Variabilité des animaux sentinelles ./ aux animaux sélectionnés des laboratoires
 - Contrôle indispensable des variations saisonnières
 - Choix d'une zone témoin

ESPÈCE BIO-INDICATRICE

- Bio-indicateurs : êtres vivants (animaux, végétaux) utilisés pour l'étude de certaines conditions environnementales
- Critère « absence/présence/abondance » d'individus dans le milieu
- Donne une idée de la "qualité écologique" du milieu.
- « des espèces ou associations d'espèces capables par leur comportement général (disparition, augmentation ou variation densitaire) de rendre compte de l'évolution générale d'un milieu »

(Ministère de l'Environnement, comité scientifique Faune et Flore, 1978)

- Loutre d'Europe et qualité de l'eau
- Coquelicot



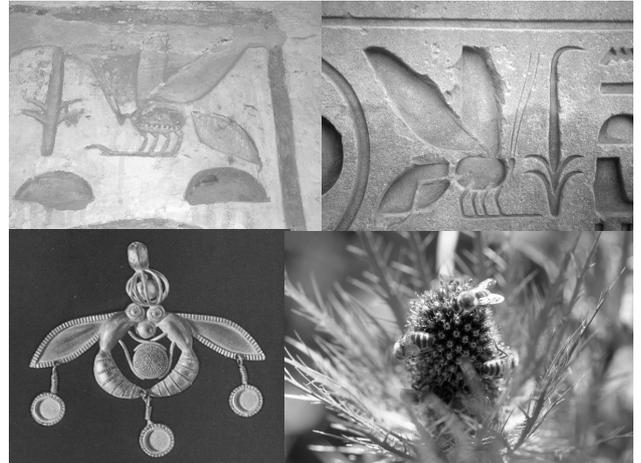
"Bio-indicateur", les limites...

- Disponibilité non permanente pour certaines espèces,
- Possibilités d'interférences par d'autres stress biotiques ou abiotiques dans les réponses,
- Fourniture d'informations essentiellement relatives sur les niveaux de pollution atmosphérique (aspect qualitatif),
- Pas encore de véritable reconnaissance ni de normalisation des méthodes aussi bien sur la mise en oeuvre que sur l'interprétation des résultats...

BIO-MARQUEURS

- Nombreux paramètres biologiques, biochimiques et immunologiques
- Liés plus ou moins directement
 - au mode d'action des polluants
 - à la genèse des maladies
- Tests usuels de biochimie clinique
 - Formule sanguine, hémocrite, teneurs plasmatiques en divers constituants, activités enzymatiques, etc.)
 - Peuvent donner des informations utiles sur l'état de santé de l'organisme
- Exemple classique : taux de cholestérol sanguin
 - Taux élevé révèle un dysfonctionnement de l'organisme,
 - Indicateur d'un risque plus élevé de maladies cardio-vasculaires dans l'avenir

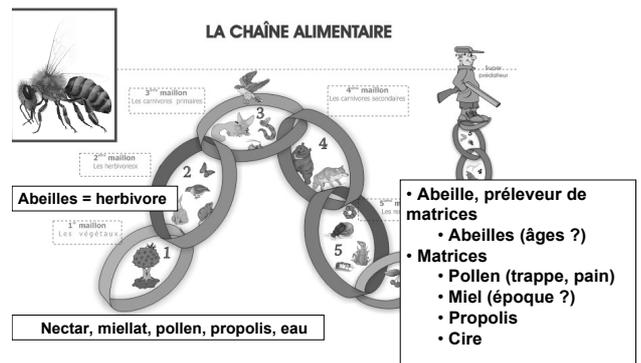
Signal d'alerte



Abeille : valeur écologique, valeur économique dans un écosystème

- Années 2000 : chiffrage des services rendus par certaines espèces dans des écosystèmes naturels ou dégradés : ex. des bousiers en Australie (2 milliard de dollars/an)
- Abeille : ingénieur écologique (ecological engineer) majeur dans nos écosystèmes
- Espèces jouant un rôle clé « clé de voûte » « pierre angulaire » « keystone species » au sein des écosystèmes
- Disparition : conséquences sur de nombreuses autres espèces de l'écosystème, à différents niveaux trophiques
 - Producteur primaire : végétaux
 - Consommateur primaire : phytophages/herbivores...)
 - Consommateur secondaire (parasitoïde, prédateurs...)
 -

Chaîne trophique incluant abeille



Intérêts de l'abeille en tant que sentinelle

- Source de nourriture connue, 2-10Km (contrôle par caractérisation floristique du pollen et du miel)
- Élevage « contrôlé »
- Liste importante d'éléments contaminants ramenés à la ruche
 - Pesticides :
 - insecticides : OC, OP, néonicotinoïdes ...
 - fongicides ...
 - herbicides...
 - Métaux lourds
 - HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques)
 - Radionucléides
 - Micro-organismes (bactéries : feu bactérien à *Erwinia amylovora*)

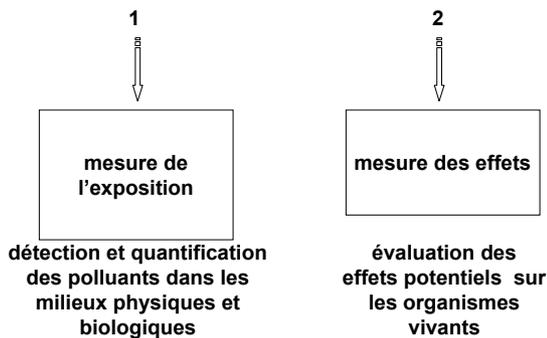
MISE EN PLACE DES SYSTEMES DE SURVEILLANCE DE LA SANTÉ D'UN ÉCOSYSTÈME

- Utilisation de l'espèce
 - Espèce sentinelle
 - Espèce bio-indicatrice
- Choix de l'espèce
- Bio-marqueurs : analyses
- Protocole
 - Surveillance passive, étude rétrospective
 - Surveillance active, étude prospective



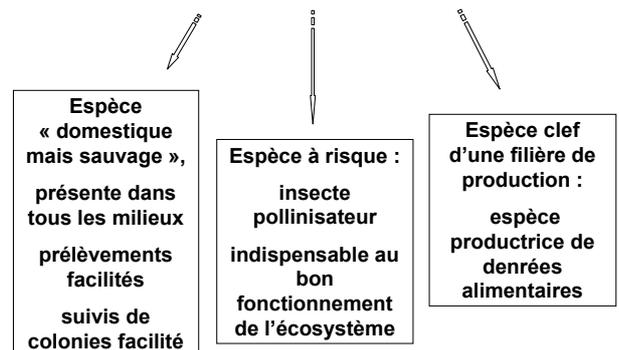
ARGUMENTAIRE - pollution de l'écosystème

Un aspect de cette surveillance passe par l'évaluation du risque environnemental des polluants



ARGUMENTAIRE - choix de l'espèce sentinelle

Espèce sentinelle choisie : l'Abeille mellifère (*Apis mellifera*)



Objectifs principaux

- Évaluer l'exposition de l'abeille à certains polluants par des analyses toxicologiques sur différents ruchers en Pays de Loire (abeilles butineuses, miel nouveau, pollen de trappe, cires)
 - Produits phytosanitaires et vétérinaires, HAP, métaux lourds
- Replacer cette exposition dans le contexte paysager précis de chaque site par
 - analyse paysagère de chaque site d'étude
 - analyse palynologique du pollen de trappe et du miel récolté
 - enquête sur les pratiques industrielles, agricoles et de jardinage de chaque site étudié
- Caractériser le risque de ces polluants pour l'abeille par :
 - enquête sanitaire et zootechnique auprès des apiculteurs partenaires
 - suivi sanitaire des ruchers concernés
 - suivi écopathologique des ruches en 2009
 - évaluation du risque toxicologique chez l'abeille

Objectifs principaux

Il s'agit donc de mettre en place

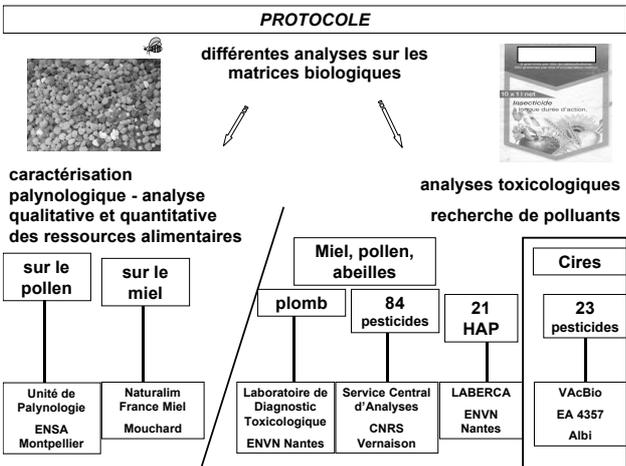
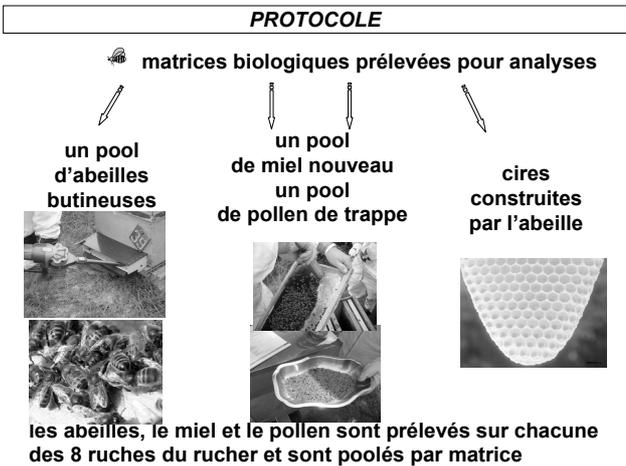
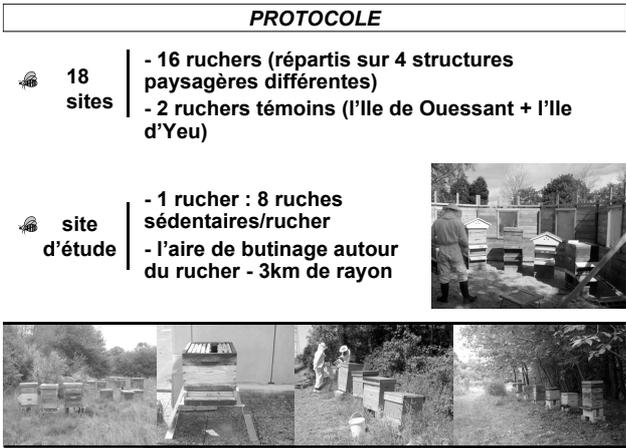
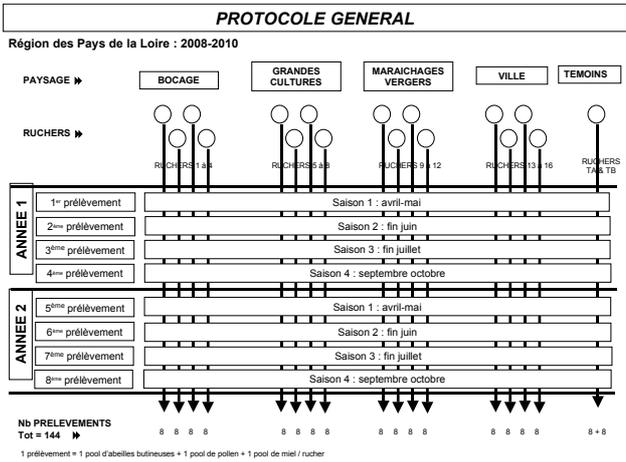
- un outil performant
- permettant la mise en évidence des interactions directes réciproques (actions, coactions, réactions)
 - entre la constitution générale du paysage,
 - des intrants
 - par une sentinelle de la santé des écosystèmes

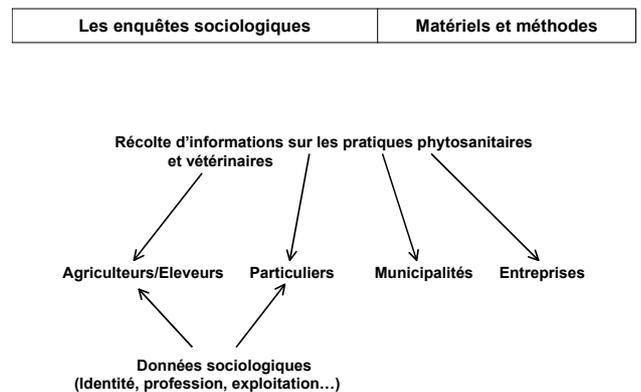
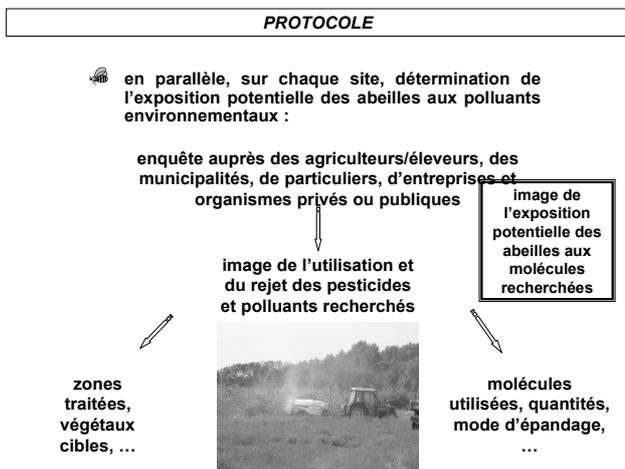
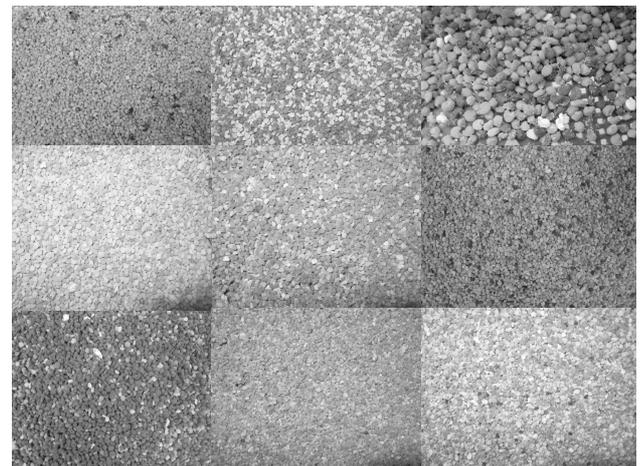
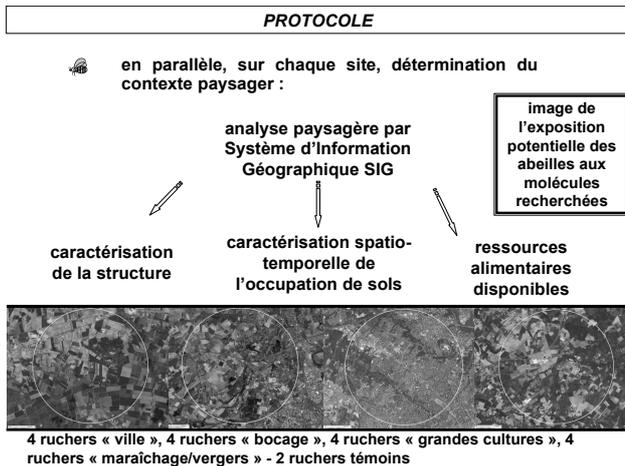
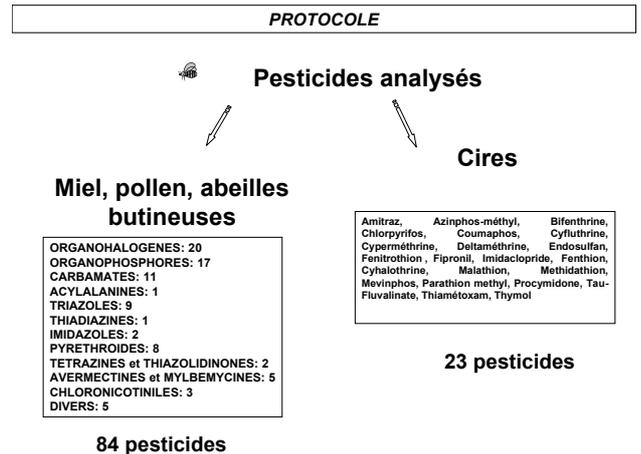
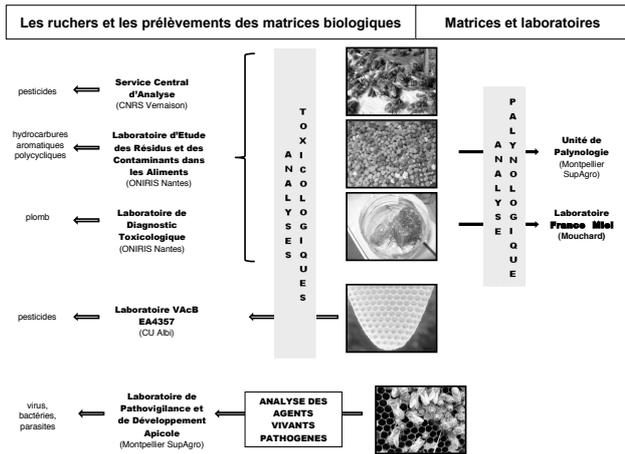
Objectifs opérationnels 1

- rechercher les ruchers dans les paysages du transect en Pays de la Loire
- choisir les matrices biologiques adéquates
- identifier les polluants pertinents dans la problématique actuelle en apiculture
- rechercher les partenaires scientifiques et techniques pour la réalisation des analyses identifiées
- développer la méthodologie d'analyses dans les différents laboratoires de recherches analytiques

Objectifs opérationnels 2

- réaliser la caractérisation des pollens de trappe
- caractériser les miels, notamment au plan palynologique
- mettre en place et effectuer les enquêtes sociologiques
- mettre en place les outils d'enquêtes dans les ruchers
- construire la base de données
- choisir et mettre en place le système d'information géographique (SIG)
- réaliser une étude paysagère pour chaque rucher, grâce au SIG et à la caractérisation palynologique





Les enquêtes sociologiques	Matériels et méthodes
----------------------------	-----------------------

Réalisation des enquêtes auprès des municipalités et entreprises :

- Contact téléphonique
- Transmission du questionnaire
- Retour des informations

Réalisation des enquêtes auprès des particuliers :

- Porte à porte, remplissage du questionnaire en direct ou,
- Dépôt dans la boîte aux lettres avec lettre explicative de l'étude et contact ultérieur.

Les enquêtes sociologiques	Matériels et méthodes
----------------------------	-----------------------

Réalisation des enquêtes auprès des agriculteurs et éleveurs :

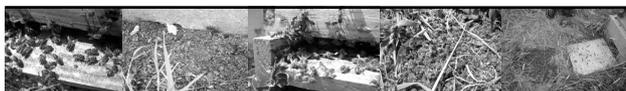
- Recensement des agriculteurs présents dans l'aire de butinage
- Lettre explicative transmise à chaque exploitation par la Chambre Départementale d'Agriculture
- Prise de rendez-vous avec chaque agriculteur ou éleveur
- Remplissage du questionnaire avec chaque interlocuteur (facilité par une carte représentant tous les ilots concernés par l'étude pour chaque agriculteur)

Les enquêtes dans les ruchers	Matériels et méthodes
-------------------------------	-----------------------

- Critères de jugement de l'état d'une ruche
 - Création d'une fiche technique pour remplissage de la fiche technique à chaque ouverture de ruche



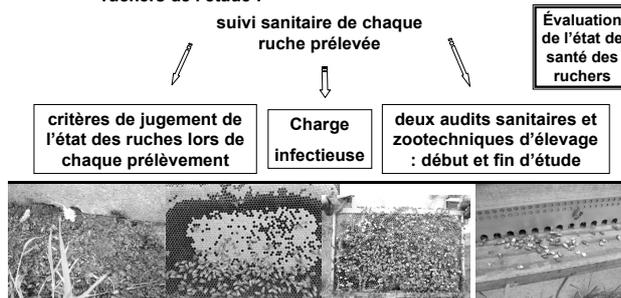
- Audit sanitaire et zooteknique
 - Utilisation du questionnaire d'audit DIE
- Visites sanitaires spécifiques lors de problèmes sanitaires



- Prélèvements d'abeilles en 2009 pour étude écopathologique

PROTOCOLE

en parallèle, réalisation d'une enquête d'élevage sur les ruchers de l'étude :



prise en compte des différentes pratiques apicoles et des éventuels incidents (mortalités, troubles comportementaux, maladies, ...)

Critères de jugement de l'état d'une ruche

Critères de jugement de l'état d'une ruche

Date du constat _____
 Personne ayant effectué le constat _____
 Nombre de ruches _____
 Nombre de ruches _____
 Age de la reine _____

CONSTAT AVANT OUVERTURE DE LA RUCHE

Critères	Commentaires éventuels	Notes
Mortalité devant la ruche		
Activité sur planche d'envol		
Comportement normal sur planche d'envol		
Entrées de l'emplacement		
État de la reine		
État du support		
Poids de la ruche		
TOTAL		

CONSTAT SUR RUCHE OUVERTE

Critères	Commentaires éventuels	Notes
Taille de la grappe		
Surface des couvain		
Homogénéité du couvain		
État des cellules mortes		
Réserves en pollen		
Réserves en miel de corps		
TOTAL		

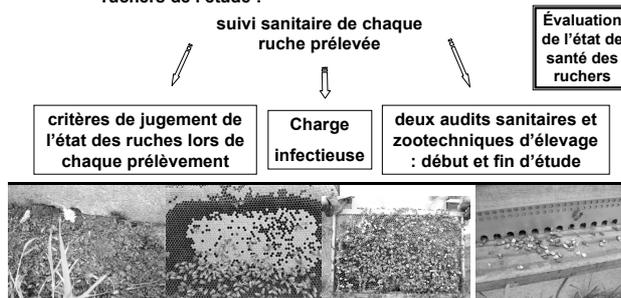
Notation de 0 à 3
 0 : très mauvais état
 1 : état médiocre
 2 : bon état
 3 : état excellent

Interprétation des notations _____
 Somme des notes _____
 Moyenne la somme par rapport au nombre de critères _____

Critères de jugement d'une ruche - INRA-Nantes 2010

PROTOCOLE

en parallèle, réalisation d'une enquête d'élevage sur les ruchers de l'étude :



prise en compte des différentes pratiques apicoles et des éventuels incidents (mortalités, troubles comportementaux, maladies, ...)

PROTOCOLE

Agents pathogènes analysés

- évaluation de la charge infectieuse des colonies
- une année, 4 prélèvements
- PCR
- Virus : DWV, IAPV, ABPV, CBPV, BQCV, KBV, SBV, SPV, VDV1
- Bactéries : *Melissococcus plutonius*, *Paenibacillus larvae*
- Sporozoaires : *Nosema apis*, *Nosema ceranae*

Laboratoire de pathovigilance et de développement apicole
ENSA Montpellier

Audit sanitaire

Diplôme interécôle d'« apiculture-pathologie apicole » 2005-2006
Document de visite d'élevage et sanitaire apicole

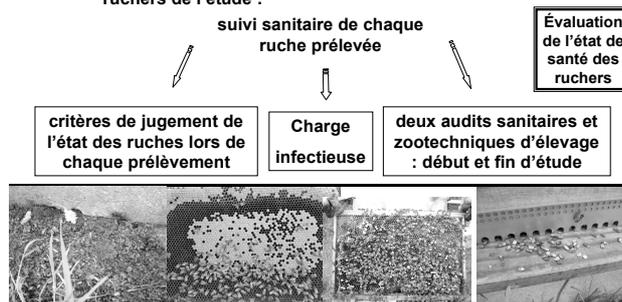
Requis / facteurs de risques	Constat / La façon dont les éleveurs maîtrisent les risques existants dans leurs exploitations	Qualité des risques	Observations
<p>Exploitation Constitution du cheptel Soins du cheptel Environnement des colonies/parcours technique, Ruches/cires Bilan sanitaire/mesures offensives/dépistage, diagnostic Bilan sanitaire/mesures offensives/cas de la Loupe apéritaine Bilan sanitaire/mesures offensives/cas de la varroose Bilan sanitaire/mesures offensives/autre maladie</p>			

La suite.....

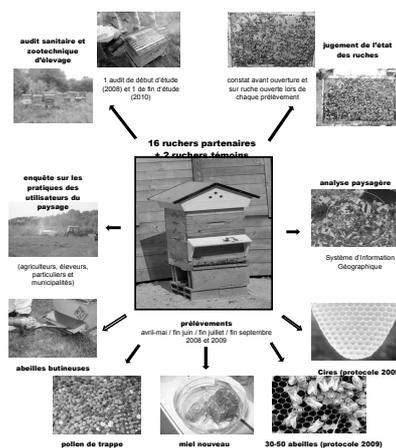
- Collecte des échantillons: 2008 et 2009
- Analyse des échantillons : 2008, 2009, 2010
- Enquêtes : 2008, 2009, 2010
- Résultats : 2010, 2011
-

PROTOCOLE

en parallèle, réalisation d'une enquête d'élevage sur les ruchers de l'étude :



prise en compte des différentes pratiques apicoles et des éventuels incidents (mortalités, troubles comportementaux, maladies, ...)



PROTOCOLE

- confrontation de l'ensemble des paramètres entre eux : résultats toxicologiques, analyses palynologiques et différentes enquêtes
- confrontation avec la bibliographie existante pour une analyse pertinente des données

Mise en place d'une étude prospective de la relation entre la constitution du paysage (intrinsèque en tant qu'écosystème et extrinsèque en tenant compte des intrants) et les résidus contenus dans la ruche

Elaboration d'un outil de diagnostic de la pollution de la ruche

PARTENAIRES

