

Mise en évidence d'une diminution de l'efficacité de l'Apistan® utilisé contre la varroose de l'abeille (*Apis mellifera* L)

JP Faucon, P Drajnudel, C Fléché

Centre national d'études vétérinaires et alimentaires – Sophia Antipolis, laboratoire de pathologie des petits ruminants et des abeilles, Les Templiers, 105, route des Chappes, 06410 Biot, France

(Reçu le 19 décembre 1994 ; accepté le 20 avril 1995)

Résumé — Le parasite *Varroa jacobsoni* a posé dès son apparition en 1981 de graves problèmes à l'apiculture française. Un des composés les plus utilisés depuis 1989 est le fluvalinate (Apistan®). Il a permis une conduite apicole quasi normale grâce à son action à libération lente. Des traitements inefficaces ont récemment été constatés et l'hypothèse d'une résistance de l'acarien a été avancée. Différentes expérimentations entreprises en France en 1992, 1993 et 1994 ont montré une moyenne d'efficacité voisine de 100%. Les mêmes expérimentations effectuées en juin 1994 sur des colonies italiennes ont révélé une baisse de l'efficacité thérapeutique du fluvalinate. Celle-ci est tombée à 29,7%. La recherche du seuil de matière active avant et après traitement dans les lanières ainsi que leur bon positionnement au contact des abeilles ont permis de ne pas incriminer le mode de traitement ou un défaut de libération du fluvalinate.

Apis mellifera / varroose / fluvalinate / efficacité / résistance

INTRODUCTION

La varroose due à l'acarien *Varroa jacobsoni* Oud a fait son apparition il y a plus de 13 ans en France. Cette acariose est traitée par le fluvalinate (Apistan®) depuis sa mise sur le marché en 1989. Ce médicament très efficace (Borneck et Merle, 1990) appartient à la famille des pyréthriinoïdes. Il est largement utilisé au moyen de lanières à libération lente mais des doutes appa-

raissent quant à la pérennité de son efficacité.

La possibilité d'apparition d'une résistance au fluvalinate peut être liée à différentes raisons : i) les lanières libèrent irrégulièrement la molécule active à la faveur du contact avec les abeilles ; ii) en dehors du temps d'application, un taux de fluvalinate plus ou moins important persiste dans la cire, le miel, les abeilles adultes et le couvain (Bogdanov *et al*, 1990 ; Faucon et Flamini,

1990 ; Lodesani *et al*, 1992) et prolonge l'action du médicament (Koolich et Moosbeckhofer, 1991) ; iii) l'apport de fluvalinate lors du butinage de cultures traitées avec des spécialités phytosanitaires à base de fluvalinate (Klartan®) est une source complémentaire et variable de contamination des colonies (Fléché et Faucon, 1989) ; iv) la molécule fait partie des pyréthriinoïdes, famille d'insecticides connue pour favoriser les résistances dans le domaine agricole (Gerson *et al*, 1991) ; v) l'utilisation de dispositifs artisanaux à base de Klartan® a la faveur de nombreux apiculteurs européens pour des raisons économiques. Ces utilisations, constatées lors de nos visites sur le terrain et dont le dosage est souvent aléatoire, favorisent et renforcent les risques de perte d'efficacité. Il en est de même de l'emploi du fluvalinate sans respect des instructions d'emploi recommandées par le fabricant : mise en place d'une seule lanière voire d'une demi-lanière, réutilisation abusive ou mal programmée des lanières, lanières maintenues 6 mois dans la ruche.

Les craintes d'apparition d'une résistance trouvent d'autre part un écho dans les témoignages d'apiculteurs et de chercheurs confrontés à des seuils d'infestation élevés malgré un suivi sanitaire semblant rigoureux (Loglio, 1993 ; Marletto, 1993). Cela a été particulièrement vrai en Italie, dans les régions de Sicile et de Lombardie (1992-1993), en Ligurie et Piémont (1994). Pour le printemps 1994, les apiculteurs du Piémont ont annoncé 50% de perte de colonies (Mignone, communication personnelle) qui pourrait être liée à la non maîtrise du parasite. En Ligurie, lors des visites de ruchers, les symptômes constatés (mortalités importantes d'abeilles, abeilles aux ailes atrophiées, couvain en mosaïque avec symptômes de loques et de paralysie aiguë, cannibalisme du couvain, couvain tubulaire, nymphes mortes dans les alvéoles) étaient sans conteste ceux de la varroose à un seuil critique (Faucon, 1992).

En France, des problèmes plus épisodiques ont été décrits. Le plus grave a été enregistré en juin 1994 non loin de la frontière italienne où de fortes mortalités d'abeilles, liées à un seuil de parasitisme très élevé, ont été constatées malgré un traitement correct au fluvalinate effectué en septembre et octobre 1993. D'une façon générale, dans le sud-est du pays, nous avons remarqué un seuil d'infestation beaucoup plus élevé que les années précédentes ; les colonies sont faibles et les parasites sont facilement vus sur les abeilles.

Pour déterminer les causes de ces anomalies, une estimation de l'efficacité du fluvalinate a été recherchée au cours des années 1992, 1993 et 1994. Les essais ont porté sur des colonies françaises en 1992 et 1993 et italiennes et françaises en 1994. Le contrôle final du seuil d'infestation de chaque colonie a associé un traitement à l'amitrazé (Anti-varroa Schering®) et, selon les cas, soit une estimation des parasites restant au niveau du couvain, soit l'éclosion totale du couvain operculé en chambre thermostatée et un comptage des varroas présents sur les abeilles nées.

L'étude a montré une forte baisse de l'efficacité du fluvalinate sur les colonies d'origine italienne.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Origine des colonies traitées

Les expériences ont porté sur des colonies appartenant à des apiculteurs professionnels ou amateurs ou sur les propres colonies du CNEVA – Sophia Antipolis. Toutes les colonies d'*Apis mellifera mellifera* provenaient de la région Sud-Est, caractérisée par une altitude variable et donc des écotypes d'abeilles divers, par une transhumance importante et par une forte densité de ruches, ces 2 derniers éléments favorisant un brassage élevé des populations d'abeilles et de varroas (Nelson et Jay, 1989 ; Sakofski *et al*, 1990). Les

27 colonies de type Langstroth ou Dadant ont été rassemblées au laboratoire et les essais se sont déroulés en septembre et octobre de chaque année concernée. Les essais sur les 5 colonies italiennes se sont déroulés en juin 1994. Durant la période de traitement, la conduite apicole a été minimisée afin de ne pas perturber le déroulement de l'expérimentation.

Traitement médicamenteux

Deux lanières Apistan® (0,8 g de fluvalinate par lanière) par colonie ont été disposées de part et d'autre de la grappe d'abeilles et au contact de celles-ci (le plus souvent entre les cadres 3-4 et 7-8).

Les lanières ont été mises en place durant 32 j au moins et 34 j au plus. Le temps d'application est celui mis en pratique par différents auteurs (Milani et Barbattini, 1988 ; Ferrer-Dufol *et al*, 1991).

Le traitement d'épreuve pour contrôler l'infestation des abeilles adultes a été effectué par utilisation de l'Anti-varroa Schering® (12,5% d'amitrazé) en déposant uniformément 0,5 ml d'Anti-varroa sur une plaque graissée et en la laissant 20 h dans le fond de la ruche (Faucon et Fléché, 1988). Cette application a été faite le jour du retrait des lanières au fluvalinate. Le comptage des varroas morts sur la plaque graissée a été réalisé dès la fin du traitement d'épreuve.

Évaluation de l'efficacité du traitement au fluvalinate

Comptage des varroas morts au cours du traitement

Les varroas morts au cours du traitement ont été collectés sur une plaque graissée, installée dans le fond de la ruche. La plaque a été renouvelée le plus souvent possible en fonction principalement des conditions météorologiques, pour permettre le comptage des parasites. Aucune grille de protection n'a été mise en place, l'activité de nettoyage étant minime après vérification au cours de plusieurs essais et statistiquement négligeable, pour estimer l'efficacité.

Détermination du seuil d'infestation du couvain après traitement

Vingt-quatre h après le retrait des lanières, l'infestation de 100 alvéoles operculées prises aléatoirement sur des rayons de couvain des colonies traitées a été examinée. Seuls les parasites femelles adultes étaient comptés. En fonction de la surface du couvain operculé, et donc du nombre de cellules operculées, le nombre de varroas restant dans la colonie a été estimé. La fiabilité de cette méthode a été testée à la faveur d'autres expérimentations par comparaison du pourcentage d'infestation estimée et du pourcentage d'infestation réelle (Faucon *et al*, en préparation).

Pour les essais sur les colonies italiennes, le couvain a été mis à éclore en chambre thermostatée dans des caisses spéciales en carton. Au bout de 15 j, les abeilles nées ont été sacrifiées et les varroas comptés après lavage des abeilles (Ferrer-Dufol *et al*, 1991). Les cellules de couvain non éclos ont été examinées une à une pour déterminer leur seuil d'infestation.

Calcul de l'efficacité thérapeutique du traitement

On a considéré comme étant le nombre total des varroas présents dans la colonie la somme des varroas dénombrés durant le temps de présence des lanières, des varroas présents dans le couvain et ceux présents lors du contrôle à l'amitrazé. Pour chaque colonie il a été calculé le pourcentage d'efficacité lors du retrait des lanières. Pour un même lot, la moyenne des pourcentages a été calculée.

Analyse des lanières d'Apistan®

La quantité de fluvalinate a été recherchée dans des lanières avant utilisation et après que certaines sont restées en place dans les colonies le temps nécessaire au traitement. Cette recherche s'est faite par chromatographie en phase gazeuse (Flamini, 1986) après extraction de la matière active par agitation de la lanière dans de l'hexane durant 30 min. Les analyses ont porté sur 5 lanières neuves, 5 lanières en fin de traitement provenant chacune de 5 colonies françaises 1994 et 5 lanières en fin de traitement provenant chacune des 5 colonies italiennes.

RÉSULTATS

La quantité de fluvalinate mesurée dans les lanières neuves a été en moyenne de 0,74 g/lanière (0,69-0,79). Pour les lanières en fin de traitement des colonies françaises 1994, la moyenne retrouvée a été de 0,27 g/lanière (0,23-0,33) et pour les lanières en fin de traitement des colonies italiennes 0,27 (0,18-0,39).

Le seuil d'infestation moyen des colonies françaises a varié de 1992 à 1994 (tableau I) entre 143 et 3 491 varroas.

L'infestation des colonies d'Italie, bien que plus faible, est suffisante pour estimer l'efficacité thérapeutique de l'Apistan. Une colonie ayant une infestation non représentative (5 varroas) n'a pas été prise en compte.

Le calcul de la moyenne des efficacités mesurées pour les colonies françaises a été voisin de 100% (99,5-100) (tableau II). Pour les colonies d'Italie, ce pourcentage a fortement chuté et est de 29,7% (3-9-11-96).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Le seuil d'infestation moyen a été plus élevé en 1993 qu'en 1992, cela pour des colonies ayant subi une conduite apicole identique. Les essais effectués à cette époque confirmant l'efficacité du fluvalinate, les raisons de cette recrudescence sont peut-être à rechercher dans une démobilitation des apiculteurs à la faveur d'un mauvais contexte économique et aussi parce que traiter sans motif immédiat visible n'est pas dynamisant. Une maladie est généralement soignée lorsque ses symptômes sont constatés : dans le cas de la varroose, le traitement doit être fait en l'absence de symptômes, afin qu'ils n'apparaissent pas (Faucon, 1992).

En ce qui concerne l'estimation de l'efficacité thérapeutique des colonies françaises

Tableau I. Variation du seuil d'infestation par *Varroa jacobsoni* de colonies françaises et italiennes en 1992, 1993 et 1994.

Année du traitement	Nombre moyen de varroas	Nombre de colonies traitées
1992	402 (de 143 à 979)	14
1993	1 089 (de 392 à 3 491)	8
1994 ^a	1 207 (de 495 à 1 554)	5
1994 ^b	240 (de 147 à 437)	4

^a Année 1994, colonies de France ; ^b année 1994, colonies d'Italie.

Tableau II. Estimation des moyennes des pourcentages d'efficacité du fluvalinate (Apistan®) pour des colonies françaises et italiennes.

Année du traitement	Moyenne des pourcentages d'efficacité
1992	100,0%
1993	99,9% (de 99,5 à 100%)
1994 ^a	100,0%
1994 ^b	29,7% (de 3 à 96%)

^a Année 1994, colonies de France ; ^b année 1994, colonies d'Italie.

pour les années 1992, 1993 et 1994, les pourcentages moyens d'efficacité, en fin de traitement au fluvalinate, voisinent les 100%. Cette valeur de 100% est théorique, car des varroas sont toujours présents dans les colonies. L'éradication totale est impossible ne serait-ce qu'à cause des recontaminations même si le traitement est parfaitement et simultanément appliqué à une région entière.

En revanche, pour les colonies d'Italie prises en compte dans l'estimation, la moyenne des efficacités a chuté à 29,7% en comparaison des colonies françaises traitées dans les mêmes conditions. Seule 1 colonie a présenté une efficacité de 96%. Cette variabilité de l'efficacité est un signe de la présence de souches de parasites résistants (Lodesani *et al*, 1995).

Le nombre de varroas restant à la fin du traitement à l'Apistan (437, 147, 183, 8) montre que le déroulement normal d'une année apicole est fortement compromis pour certaines colonies.

Le positionnement des lanières au contact des abeilles durant le temps d'expérimentation a été vérifié en fin de traitement. La quantité de fluvalinate dans les lanières avant utilisation est conforme au dosage indiqué par le fabricant et, en fin de traitement, la quantité moyenne de fluvalinate retrouvée a démontré la libération du principe actif.

La perte d'efficacité du fluvalinate ne semble pas le fait d'une formulation défectueuse du médicament ou d'une mauvaise utilisation mais suggère une résistance des parasites au fluvalinate.

Une enquête dans la région frontalière avec l'Italie sera entreprise afin de connaître le seuil d'infestation des colonies après le traitement au fluvalinate. La confirmation de la résistance sera apportée par la recherche de la DL 50 sur des populations différentes de parasites.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient M M Pépin, directeur du laboratoire du CNEVA–Sophia Antipolis pour ses conseils, Mme C Le Louedec (INRA–Nouzilly) pour ses recommandations de rédaction, Mlle S Zeggane pour les analyses toxicologiques, MM les Drs Coulibaly, de la DSV 06, et Mignone, directeur de l'Institut zoophylactique d'Impéria pour leur collaboration à ce travail.

Summary — Decrease in Apistan efficacy used against *Varroa* disease in the honeybee (*Apis mellifera*).

Varroa disease is a very serious parasitosis of the bee, which induces important hive losses. Fluvalinate (Apistan®) has been one of the most widely used acaricides since 1989. In 1992, 1993 and 1994, ineffective treatments were observed in Italy and then France, and the hypothesis of a resistance was put forward. The therapeutic efficacy of fluvalinate was estimated in experiments performed in 1992, 1993 and 1994. Groups of colonies from different areas were thus treated for 32–34 d with 2 strips placed in contact with the cluster. Mite mortality was checked with fatted detector boards on hive bottom boards. A treatment with amitraz (Anti-*Varroa* Schering®) to determine the residual infestation of adult bees was performed the day following the strip withdrawal. Brood infestation was checked by examination of 100 capped cells, by entire brood hatching in an incubator, and by counting the mites on emerging bees. The results showed a decrease in efficacy in the Italian colonies in which fluvalinate therapeutic efficacy fell to 29.7% in 1994. The dosage of fluvalinate in the strips before and after treatment and their good positioning with regard to the bees did not allow us to incriminate a misuse of Apistan® strips. In France, the therapeutic efficacy will be examined at the Italian border during an investigation of all apiaries.

Apis mellifica / *Varroa* disease / fluvalinate / efficacy / resistance

Zusammenfassung — Abnahme der Wirksamkeit der Apistan-Behandlung gegen die Varroose bei der Honigbiene (*Apis mellifera* L).

Varroa jacobsoni Oud ist ein sehr schädlicher Ektoparasit der Honigbienen, der schon zu schweren Volksverlusten geführt hat. Fluvalinat (Apistan®) ist seit 1989 das am häufigsten benutzte Akarizid. In den Jahren 1992, 1993 und

1994 wurde in Italien und dann in Frankreich nur eine geringe Wirksamkeit der Behandlungen beobachtet. Als Hypothese wurde eine Resistenzentwicklung angenommen. Deshalb wurde von 1992–1994 die therapeutische Wirksamkeit von Flualinat untersucht. In verschiedenen Gegenden wurden Gruppen von Völkern 32 bis 34 Tage mit 2 Streifen behandelt, die mit den Bienen direkten Kontakt hatten. Der Milbentotenfall wurde mit einer gefetteten Bodeneinlage überprüft. Für die Endkontrolle der überlebenden Milben wurde eine Behandlung mit Amitraz einen Tag nach Entfernung der Streifen durchgeführt. Der Befall der Brut wurde entweder durch Öffnen von 100 verdeckelten Zellen überprüft, oder indem nach dem Schlupf der gesamten Brut im Brutschrank die Milben auf den Bienen gezählt wurden. Es zeigte sich für 1994 eine Abnahme der Wirksamkeit von Flualinat auf 29,7%. Weder die Dosierung von Flualinat in den Streifen noch die Platzierung der Streifen im Volk wiesen auf eine falsche Behandlung der Völker hin. In Frankreich soll an der italienischen Grenze in nächster Zeit der therapeutische Effekt bei sämtlichen Ständen überprüft werden.

***Apis mellifera* / *Varroa jacobsoni* / Flualinate / Wirksamkeit / Resistenz**

REFERENCES

- Bogdanov S, Imdorf A, Kilchenmann V, Gerig L (1990) Des résidus de flualinate dans la cire, les aliments d'abeilles et le miel. *J Suiss Apic* 4, 117-123
- Borneck R, Merle B (1990) Essais sur Apistan en 1988. *Apiacta* 25, 16-25
- Faucon JP (1992) *Précis de pathologie : Connaître et traiter les maladies des abeilles*. CNEVA, Sophia Antipolis, France, 324-343
- Faucon JP, Flamini C (1990) Résidus de flualinate dans la cire et dans le miel. *Bull GTV* 2, 57-58
- Faucon JP, Fléché C (1988) L'amitraz dans le traitement de la varroase de l'abeille. *Rev Méd Vét* 139, 389-406
- Ferrer-Dufol M, Martinez-Vinuales AI, Sanchez-Acedo C (1991) Comparative tests of flualinate and flumethrin to control *Varroa jacobsoni* Oudemans. *J Apic Res* 30, 103-106
- Flamini C (1986) Analyse de divers types de résidus en apiculture. Thèse doct sci, université de Nice, 99 p
- Fléché C, Faucon JP (1989) Livestock diseases: an ecopathological examination. *32nd Int Congr Apic, Rio de Janeiro, 1988*
- Gerson U, Mozes-Koch R, Cohen E (1991) Enzyme levels used to monitor pesticide resistance in *Varroa jacobsoni*. *J Apic Res* 30, 17-20
- Koolich A, Moosbeckhofer R (1991) After-effects of Apistan after removing the strips. *Imkerfreunde* 46, 14-18
- Lodesani M, Colombo M, Spreafico M, (1995) Ineffectiveness of Apistan® treatment against the mite *Varroa jacobsoni* Oud in several districts of Lombardy (Italy). *Apidologie* 26, 67-72
- Lodesani M, Pellacani A, Bergomi S, Carpana E, Rabitti T, Lazagni P (1992) Residue determination for some products used against *Varroa* infestation in bees. *Apidologie* 23, 257-272
- Loglio G (1993) *Varroa jacobsoni* Oud : comparsa di resistenza al flualinate ? *Apic Mod* 84, 7-10
- Marletto F (1993) Recrudescenza delle varroasi : nuovo allarme tra gli apicoltori. *Apic Mod* 84, 3-6
- Milani N, Barbattini R (1988) Effectiveness of Apistan (flualinate) in the control of *Varroa jacobsoni* Oudemans and its tolerance by *Apis mellifera* Linnaeus. *Apicoltura* 4, 39-58
- Nelson DL, Jay SC (1989) The effect of colony relocation on loss and disorientation of honeybees. *Apidologie* 20, 245-250
- Sakofski F, Koeniger N, Fuchs S (1990) Seasonality of honey bee colony invasion by *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Apidologie* 21, 547-550