

Titre de la Communication

Une approche innovante utilisée en microbiologie clinique translatée au suivi de la santé des abeilles

Philippe BULET¹⁻², Karim ARAFAH², Sébastien VOISIN², Cédric ALAUX³, Yves LE CONTE³, Anne DALMON³, Michel BOCQUET²⁻⁴, Laurent GAUTHIER⁵, Jozef SIMUTH⁶ & Katarina BILIKOVA⁶

¹Université Grenoble Alpes, Institut for Advanced Biosciences Inserm 1209, CNRS UMR 5309 (Grenoble, France); ²Plateforme BioPark d'Archamps (Archamps, France); ³INRA PACA (Avignon, France); ⁴Apimedia (Pringy, France); ⁵Institut du Liebefeld (Berne, Suisse); ⁶Institute of Forest Ecology, Slovak Academy of Sciences (Bratislava, Slovakia).

Résumé

Objectifs

L'impact des facteurs de stress/infectieux sur l'abeille est largement débattu, mais peu d'articles concernent directement leur impact sur l'hémolymphe, miroir de la santé des insectes. L'approche développée autour du projet HematoBeeTest (HBT) a pour objectifs de (1) enrichir nos connaissances sur la réponse immunitaire des abeilles, (2) définir si d'éventuelles spécificités de réponse pouvaient être mises en évidence, (3) identifier des marqueurs diagnostiques de leur l'état de santé, (4) développer des outils diagnostiques robustes, et (5) réaliser un « carnet de santé » des colonies. L'approche retenue a volontairement été orientée sur des analyses d'hémolymphe d'abeilles individuelles ou de mélanges. Nos analyses reposent sur la réalisation d'empreintes moléculaires ou typage moléculaire par spectrométrie de masse. Cette approche innovante a été éprouvée dans les laboratoires d'analyse microbienne hospitalière, mais non encore évaluée pour le suivi de la santé des abeilles. Le but ultime est de délivrer toute une série d'outils de pronostic et/ou diagnostic, sensibles, économiques et rapides au service des apiculteurs pour la mise en place d'un carnet de santé de leur rucher.

Méthodes

Les laboratoires de microbiologie clinique sont en pleine mutation grâce à l'utilisation de la spectrométrie de masse (MS) par désorption laser assistée par matrice (MALDI-MS). L'obtention d'un spectre caractéristique ou signature/empreinte spectrale d'une espèce bactérienne donnée est à la base de l'utilisation de la MS en milieu hospitalier. Cette approche innovante a été appliquée pour la réalisation du projet HBT. Cependant elle ne permet pas de déterminer la structure des molécules qui définissent ces empreintes. C'est pourquoi nous avons utilisé la chromatographie liquide couplée à la MS par électrobulbion (LC-ESI-MS/MS). La combinaison de ces méthodes a été adaptée à l'analyse de l'hémolymphe collectée sur une abeille dans son environnement. Nous avons mis au point la méthode de collecte de l'hémolymphe ainsi que différents modèles d'infections (1) par des bactéries (*in vitro*), (2) la microsporidie *Nosema* (*per os*), (3) l'acarien *Varroa* associé ou non à une coinfection virale (naturelle ou par injection).

Résultats & Conclusions

Nous avons montré l'existence de différents profils moléculaires à partir d'une simple prise d'hémolymphe. Nous disposons désormais de la possibilité de discriminer des abeilles saines *versus* des abeilles soumises à des contextes infectieux variés (bactéries, *Varroa* +/- virus ou *Nosema*) individuels ou en coinfection. Nos données apportent une meilleure compréhension de la réponse immunitaire de l'abeille et ouvrent de nouvelles perspectives pour le développement de marqueurs pronostics et diagnostics. Les marqueurs actuels identifiés nous permettent d'envisager le développement de kits d'analyses de terrain. Elle ouvre la voie à une approche plus synthétique mesurant l'impact des stress infectieux sur la santé de l'abeille. Elle permet également de discriminer les coinfections. Cette méthode peut s'appliquer à d'autres stressseurs, chimiques et nutritionnels. Notre approche par typage moléculaire par MALDI est utilisée en routine en microbiologie clinique, remplace avantageusement les approches plus conventionnelles de PCR (coût financier, rapidité d'analyse, automatisation des analyses et du rendu).