

NOZEVIT +

GM202 | GM203 | GM204

Fiche technique

MAJ : 05/07/24

PRÉSENTATION

Nozevit + est la nouvelle formule du célèbre aliment complémentaire Nozevit. Il est enrichi en huiles essentielles et acide citrique. Avec sa formule 100% naturelle, il respecte les abeilles et l'environnement. Il agit sur le microbiote intestinal pour contribuer au développement harmonieux des colonies et renforce les défenses immunitaires.



AVANTAGES

Rôle bénéfique sur le microbiote intestinal des colonies :

- Les huiles essentielles améliorent la résistance des abeilles et les calment lorsque vous les visitez.
- L'acide citrique est un acide organique faible qui stabilise le pH intestinal et améliore la digestion, ce qui aide les abeilles à se rétablir plus rapidement.
- Testé comme traitement préventive et curatif contre la nosérose, il réduit significativement le nombre de spores*.
- Ingrédients naturels.
- Ne laisse pas de résidus dans le miel/la cire.

CARACTÉRISTIQUES TECHNIQUES

Composition :

Écorce de plantes, huile de menthe poivrée, eau purifiée

Constituants analytiques :

0,84% protéines, <0,1% fibres, 0,13% cendres, <0,1% graisse, 111 mg/kg calcium, 112 mg/kg sodium, 64,4 mg/kg magnésium. Additifs technologiques : acide citrique (E330)

*article paru dans dans l'American Bee Journal - mai 2009 (ci-après)

CONSEIL D'UTILISATION

Nozevit+ doit être administré 4 fois par an :

- Deux fois au printemps, lorsque les abeilles commencent à sortir,
- Deux fois en automne, avant l'hivernage.

Le dosage est de 1 ml (20 gouttes) par ruche. Il peut être administré par l'une des trois manières suivantes :

- La quantité de 1 ml doit être diluée dans une petite dose de 200 ml de sirop et placée dans le nourrisseur. Il est préférable de ne pas diluer Nozevit + dans une dose supérieure de sirop de nourrissage. Il est inutile de surdoser le produit dans une quantité supérieure de sirop (bien qu'aucun effet délétère sur la colonie ne puisse arriver).
- En galette de pollen ou de candi : ajouter 1 ml de Nozevit+ pour 500 g de galette,
- Par pulvérisation : ajouter 1 ml de Nozevit+ dans 200 ml de sirop de sucre et pulvériser les abeilles dans la ruche.

Quel que soit le mode d'utilisation, cette opération doit être renouvelée 10 jours plus tard.

Cette intervention est distincte d'une visite de nourrissage.

CONDITIONNEMENT

Nozevit+ 1000ml	GM202
Nozevit+ 500 ml	GM203
Nozevit+ 50 ml	GM204

Traitement expérimental de la nosérose par le "Nozevit". Préparation phytopharmacologique

par Ivana Tlak Gajger*, Zdravko Petrincec, Ljiljana Pinter, Zvonimir Kozarić

Faculté de médecine vétérinaire, Université de Zagreb, Heinzelova 55, 10 000 Zagreb, Croatie E-mail : ivana.tlak@vef.hr

Résumé

La maladie de Nosema est une maladie parasitaire microsporidienne de *Nosema sp.* qui touche les abeilles adultes. La maladie est répandue dans le monde entier et entraîne des pertes importantes pour l'apiculture et l'économie en général. Les réglementations européennes et croates interdisent l'utilisation d'antibiotiques dans le traitement des maladies des abeilles, en raison du développement possible d'une résistance aux agents chimiothérapeutiques utilisés, du masquage de la maladie, des rechutes possibles, ainsi que des résidus d'antibiotiques nocifs ou de leurs métabolites secondaires dans les produits apicoles. Par conséquent, la production et l'utilisation de préparations phytopharmacologiques naturelles dans le traitement de la maladie de Nosema est une nécessité. L'objectif de cette recherche était de tester l'efficacité de la préparation à base de plantes "Nozevit" en tant que mesure préventive contre l'infection artificielle par les spores de *N. apis*, ainsi que son effet curatif dans le traitement des abeilles affectées par la maladie de *Nosema*.

INTRODUCTION

La maladie de Nosema ou nosérose est une maladie parasitaire de l'abeille domestique adulte (*Apis mellifera*) causée par la microsporidie *Nosema sp.* qui, dans des conditions de vie défavorables, forme de longs foyers d'infection.

spores vivantes. La maladie est présente dans le monde entier, y compris en Croatie, et elle est à l'origine d'importantes pertes de production de miel et de pertes économiques. Les pertes se manifestent par une diminution des rendements en miel et autres produits apicoles (Anderson et Giacon, 1992), ainsi que par une mauvaise qualité et une diminution des rendements en agriculture. Les abeilles mellifères atteintes de nosérose commencent à butiner plus tôt (Fries, 1995), tandis que les changements pathologiques des cellules épithéliales de l'intestin moyen, ainsi que les troubles digestifs et métaboliques (Hassanein, 1951), provoquent la malnutrition (Muresan et al., 1975) et entraînent des morts prématurées (Morse et Nowogrodzki, 1990). La nosérose est une maladie importante qui échappe souvent à l'attention des apiculteurs. Les abeilles affectées ont tendance à mourir d'épuisement loin de la ruche et, faute de signes évidents, la maladie peut être difficile à détecter. C'est pourquoi elle est souvent appelée "le tueur silencieux" (Hornitzky, 2005).

Les colonies d'abeilles peuvent survivre à l'hiver, affaiblies par la nosérose, et peuvent être atteintes de la maladie silencieuse au printemps, ce qui conduit à une maladie chronique qui s'étend à l'ensemble de la saison de butinage. Par conséquent, le diagnostic et le contrôle de la maladie sont d'une grande importance pour l'économie et l'élevage de tout pays. La maladie affecte des colonies entières d'abeilles, ainsi que leurs membres, les faux-bourçons et les reines étant aussi vulnérables que les abeilles ouvrières (Bailey, 1972). Les reines d'abeilles atteintes meurent souvent pendant l'hiver, lorsque les conditions ne sont pas réunies pour le développement d'une nouvelle reine, ce qui conduit finalement à l'effondrement de la colonie. La maladie *Nosema* se développe et se propage particulièrement rapidement en hiver, lorsque les vols de nettoyage des abeilles sont empêchés par de mauvaises conditions météorologiques. Les excréments de la reine, qui défèque dans la ruche, sont un facteur important de transmission de la maladie au sein d'une colonie d'abeilles (Peroutka et Vasely, 1976 ; Sulimanović et al., 1995). C'est pourquoi la République de Croatie a adopté il y a plusieurs années une ordonnance autorisant l'élevage de reines d'abeilles destinées à la vente uniquement dans des ruchers soumis à un contrôle vétérinaire et sanitaire (Anon, 2008a).

La maladie de Nosema affecte négativement le développement du corps gras-protéique ainsi que les niveaux de protéines et d'acides gras dans l'hémolymphe de l'abeille (Bailey et Ball, 1991). Les niveaux de protéines et d'acides gras dans l'hémolymphe sont réduits, ce qui entraîne un manque de développement de la glande lactifère et une mauvaise nutrition du couvain, ce qui retarde et entrave le développement des colonies d'abeilles. Le couvain des colonies d'abeilles fortement touchées est plus sensible à d'autres maladies, en particulier la maladie de la pyrale (Sulimanović et al., 1995).

La maladie de Nosema peut être suspectée lorsqu'un grand nombre d'abeilles mortes sont trouvées sur le plateau inférieur de la ruche pendant l'hiver, ou lorsque l'affaiblissement de la colonie d'abeilles, la perte de la reine et les fèces sont des signes de la maladie.

Tableau 1. Nombre de spores (par 0,04 mm) sur 10th, 15th et 22nd jour après l'invasion artificielle initiale. Diviser le nombre de spores par 4 pour obtenir des millions de spores par abeille.

Preventive treatment of Nosema disease with Nozevit phytopharmacological preparation			
Test No. 1	10 th day after artificial infection	15 th day after artificial infection	22 nd day after artificial infection
A	0.00	0.00	0.00
B Mean	5.80	21.60	75.10
Min	3.00	13.00	59.00
Max	10.00	28.00	97.00
Lower quartile	4.00	16.00	68.00
Upper quartile	7.00	26.00	84.00
Std. Dev.	2.34	5.3	12.12
C Mean	11.90	42.80	105.90
Min	5.00	31.00	86.00
Max	17.00	60.00	132.00
Lower quartile	7.00	34.00	95.00
Upper quartile	16.00	49.00	123.00
Std. Dev.	4.48	9.6	15.96

(A = control group, B = sugar solution + spores of *Nosema apis* + „Nozevit“, C = sugar solution + spores of *Nosema apis*)

Tableau 2. Nombre de spores (par 0,04 mm) sur 15th, 20th et 25th jour après le traitement initial avec "Nozevit". Diviser le nombre de spores par 4 pour obtenir des millions de spores par abeille.

Curative treatment of Nosema disease with "Nozevit" phyto-pharmacological preparation			
Test No. 2	15 th day after treatment with "Nozevit"	20 th day after treatment with "Nozevit"	25 th day after treatment with "Nozevit"
A	0.00	0.00	0.00
B Mean	57.20	27.70	6.10
Min	41.00	16.00	3.00
Max	81.00	41.00	9.00
Lower quartile	44.00	20.00	5.00
Upper quartile	70.00	34.00	8.00
Std. Dev.	13.54	8.32	1.85
C Mean	73.00	36.70	25.50
Min	66.00	33.00	21.00
Max	83.00	42.00	32.00
Lower quartile	68.00	34.00	24.00
Upper quartile	76.00	38.00	27.00
Std. Dev.	6.05	2.75	3.17

(A = control group, B = sugar solution + "Nozevit", C = sugar solution + "Nozevit")

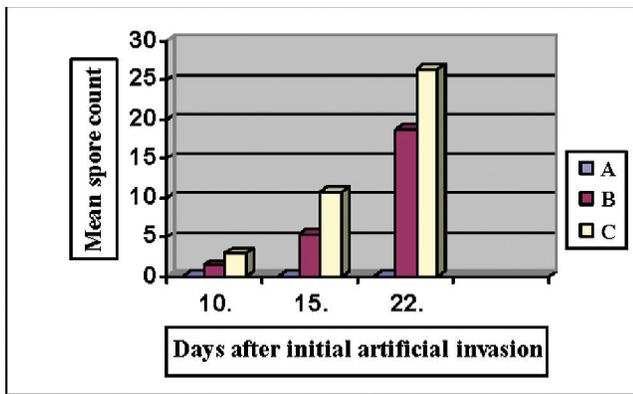


Figure 1. Nombre moyen de spores (millions de spores par abeille) les 10th, 15th et 22nd jours après l'infection artificielle initiale.

des marques sur les cadres et à l'entrée de la ruche sont observées. Toutefois, les signes observés sur des abeilles individuelles et/ou des colonies d'abeilles ne sont pas des indicateurs fiables de la présence de la maladie. La maladie de Nosema ne peut être identifiée avec certitude que sur la base d'un examen en laboratoire des pertes hivernales d'abeilles, et en particulier au moyen d'un examen microscopique des spores de *N. apis* dans le tube digestif, ainsi que par des méthodes moléculaires (RFLP - restriction fragment length polymorphism, PCR - avec des amorces spécifiques à l'espèce, PCR en temps réel - quantitative). La présence de spores pathogènes peut être identifiée avec certitude chez les abeilles d'hiver dont les fèces restent longtemps dans les intestins. La période de collecte des échantillons, tant sur les pertes hivernales que sur les abeilles vivantes, dépend du climat et des conditions météorologiques, mais elle diffère également d'une année à l'autre. Sur la base des moyennes croates, les mois de janvier et février ont été déterminés comme les périodes les plus favorables pour l'échantillonnage (Matašin et al., 2007).

Les spores pénètrent dans le tube digestif des abeilles par l'intermédiaire d'aliments et de boissons infectés ou à l'occasion d'échanges sociaux de nourriture avec d'autres abeilles. Les sources d'infection les plus courantes sont l'approvisionnement en eau insalubre, les rayons de miel marqués par les fèces d'abeilles infectées et le miel contaminé (Sulimanović et al., 1995). Les facteurs favorisant la propagation de la maladie sont les vols dans les colonies d'abeilles et les mauvaises pratiques apicoles dans le rucher, ainsi que les fluctuations soudaines de température, les mauvais pâturages, les perturbations et les déplacements fréquents des colonies d'abeilles.

Selon Laere (1977), après avoir atteint l'intestin moyen, les spores de *N. apis* germent sous l'influence de divers stimuli chimiques et leur forme végétative envahit les cellules épithéliales de l'intestin moyen où elles se multiplient. Liu (1984) a montré que des processus dégénératifs et lytiques se produisent dans les cellules envahies. Avec le temps, en raison de l'accumulation de pathogènes dans les cellules, la pression osmotique augmente et provoque l'éclatement des membranes cellulaires. Une partie des spores est expulsée des cellules épithéliales détruites de l'intestin par les excréments et une autre partie reste dans la lumière où elle prend une forme végétative et envahit les cellules épithéliales précédemment saines du milieu de l'intestin. En moyenne, cette auto-infection se produit six jours après l'infection initiale par le parasite, et la majorité des spores sont expulsées deux semaines après le début de la maladie (Bailey et Ball, 1991). Les troubles de la digestion sont le résultat de la destruction de l'intestin moyen, tandis que la membrane péritrophique endommagée augmente la sensibilité à la maladie de Nosema. La dégénérescence des cellules épithéliales empêche l'absorption des nutriments, de sorte que la nourriture ne fait que passer à travers les intestins affectés. En outre, l'absence de granules et l'accumulation de ribosomes dans les cellules infectées indiquent que l'excrétion des enzymes digestives est réduite (Liu, 1984). Par conséquent, les abeilles sont constamment affamées et prennent de plus grandes quantités de nourriture, qui s'accumule dans leur rectum sous forme de matières fécales sucrées infectées par des spores. Les signes tels que la marche excentrée, les battements d'ailes et parfois la mort massive des abeilles à l'entrée de la ruche ne sont généralement détectés que lorsqu'un grand nombre d'abeilles de la colonie sont infectées. L'abdomen de certaines abeilles peut être élargi (Somerville, 2002) et une dissection minutieuse permet d'exposer un intestin moyen dilaté aux parois minces, de couleur blanc laiteux et rempli d'excréments pâles (Shimanuki et al., 1992).

L'UE et la réglementation croate interdisent l'utilisation d'antibiotiques dans le traitement des maladies des abeilles (UE 3/01/081) en raison de

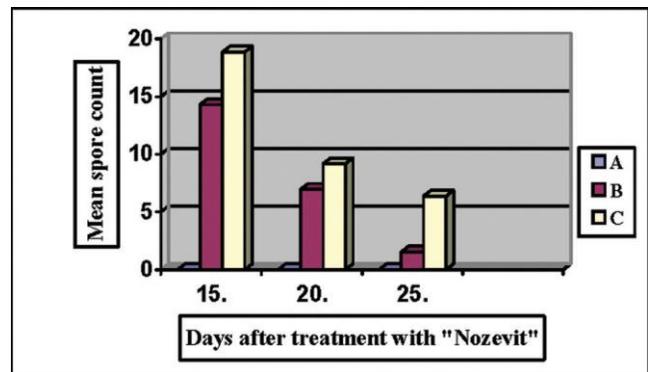


Figure 2. Nombre moyen de spores (millions de spores par abeille) à 15th, 20th et 25th jour après le traitement avec "Nozevit".

le développement potentiel d'une résistance aux produits chimiothérapeutiques utilisés, le masquage de la maladie, les rechutes possibles, ainsi que les résidus nocifs d'antibiotiques et de leurs métabolites secondaires dans les produits apicoles. C'est pourquoi il est nécessaire de produire et d'utiliser des préparations phytopharmacologiques naturelles pour traiter la maladie de Nosema. L'objectif de ce travail était d'évaluer l'efficacité de la préparation phytopharmacologique "Nozevit" en tant que mesure préventive lors d'une invasion artificielle par des spores de *N. apis*, ainsi que son efficacité dans le traitement des colonies d'abeilles affectées par la maladie de Nosema. En outre, la structure de l'intestin moyen a été analysée histologiquement afin de déterminer le mécanisme d'action de la préparation testée.

MATÉRIAUX ET MÉTHODES

Les spores de *N. apis* ont été isolées à partir de l'échantillon collectif positif des pertes hivernales, soumis à l'examen du laboratoire conformément aux dispositions en vigueur. Pour obtenir les spores, nous avons séparé les abdomens et les avons broyés dans un mortier en ajoutant 1 ml d'eau par abeille. Le matériel broyé a été filtré à travers une mousseline et le filtrat a été centrifugé pendant dix minutes à 3000 rpm (Anon, 2008b). Le surnageant a été séparé à l'aide d'une pipette et utilisé pour l'infection artificielle des colonies d'abeilles. Le nombre de spores a été déterminé par comptage dans un hémocytomètre, selon Bürker - Türk (Cantwell, 1970).

Avant le test, nous avons prélevé 30 abeilles par colonie à l'entrée de la ruche et les avons examinées au microscope pour détecter la présence de spores de *N. apis*.

Nous avons utilisé trois groupes de colonies d'abeilles :

- Le groupe de contrôle est nourri de façon stimulante avec une solution de sucre 1:1. (A)
- Le groupe de test artificiellement infecté par des spores de *N. apis* en suspension dans l'eau.

et traités simultanément de manière préventive avec Nozevit. (B)

- Le groupe test est artificiellement infecté par la suspension de spores de *N. apis*. (C)

Test n° 1 :

Des groupes de colonies d'abeilles (B, C) ont été infectés avec une suspension de spores de *N. apis* (40,1 x 10 spores par 1 ml) dans une solution de sucre 1:1 préparée avec de l'eau. Dix ml de la suspension ont été mélangés à un demi-litre de solution sucrée (C) et 20 gouttes de Nozevit (B) ont été ajoutées, après quoi les colonies d'abeilles ont été nourries avec le mélange pendant cinq jours consécutifs. Au lieu de la suspension de spores de *N. apis*, le groupe de contrôle a été nourri avec le mélange pendant cinq jours consécutifs.

(A) ont reçu une quantité égale d'eau ajoutée à la solution de sucre. Les mélanges pour les différents groupes ont été préparés immédiatement avant d'être placés dans le nourrisseur situé sous le toit de la ruche.

Des échantillons ont été prélevés sur environ 60 abeilles adultes (Anon, 2008b) à l'entrée de la ruche les 10e, 15e et 22e jours après l'infection artificielle et la présence de spores de *N. apis* a été vérifiée à l'aide d'un microscope. Les échantillons d'abeilles ont été collectés dans des récipients en plastique propres vers midi. Les abeilles ont été comptées dans chaque échantillon, leurs abdomens

ont été séparées et 1 ml d'eau par abeille a été ajouté. Les abdomens ont été soigneusement écrasés. Quatre échantillons de spores ont été comptés dans chaque échantillon à l'aide d'un hémocytomètre selon Bürker - Türk, et la dose infectieuse a été calculée selon Cantwell (1970). Nous avons utilisé un grossissement de 400x au microscope à champ clair OlympusBx41 et pris des photos avec l'appareil photo Olympus DP12 U -TVO. Le matériel de comptage a été soigneusement lavé après chaque comptage d'échantillon afin d'éviter la contamination par les spores de l'échantillon précédent.

Test n° 2 :

Les groupes test (B, C) et le groupe témoin (A) du test précédent ont été utilisés pour évaluer l'efficacité du traitement de la nosérose avec la préparation phytopharmacologique Nozevit. Un mélange d'un demi-litre de solution sucrée 1:1 et de 20 gouttes de Nozevit a été administré aux groupes test (B, C). Le traitement a été répété quatre fois à des intervalles de quatre jours. Le groupe témoin (A) a reçu une solution sucrée. Les 15e, 20e et 25e jours après le début du traitement (ou les 36e, 40e et 47e jours après l'infection artificielle), nous avons prélevé des échantillons d'environ 60 abeilles adultes à l'entrée de la ruche (Anon, 2008b) et les avons examinés au microscope pour détecter la présence de spores de *N. apis*. Les procédures d'échantillonnage et la méthode d'extermination en laboratoire étaient les mêmes que pour l'essai 1.

Des échantillons pour les préparations histologiques ont été prélevés sur trois groupes d'abeilles :

- Abeilles non infectées
- Abeilles atteintes de la maladie de Nosema et traitées avec Nozevit.
- Abeilles atteintes de la maladie de Nosema

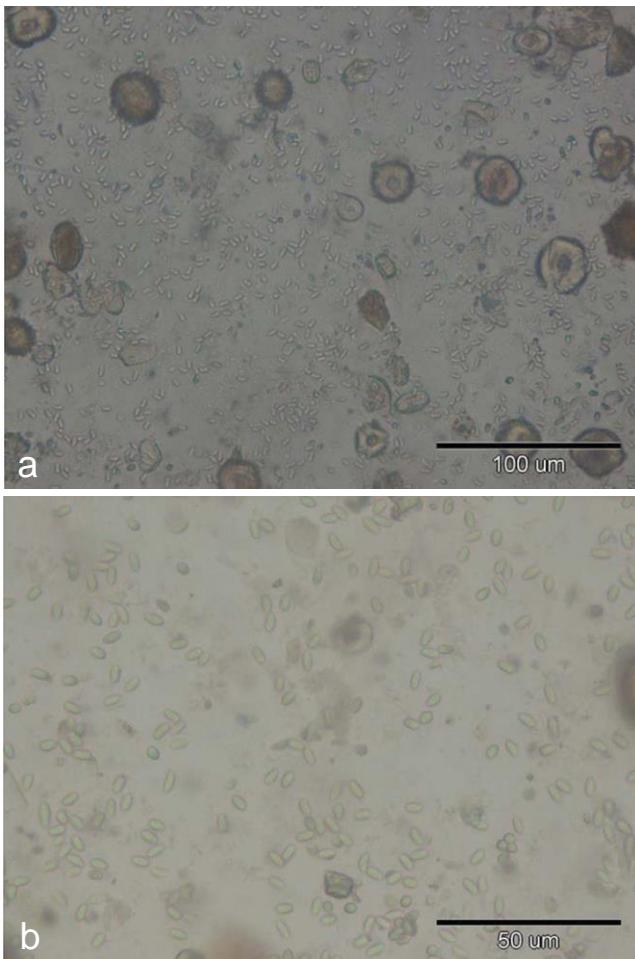


Figure 3. Spores de *N. apis* (a, b) sous microscope à champ clair Olympus Bx41, photographies prises avec Olympus DP12 U -TVO.

Vingt abeilles ont été prélevées dans chaque groupe et les intestins de chaque abeille ont été prélevés. Pour ce faire, une grande paire de pinces a été utilisée pour tenir la tête et la poitrine de chaque abeille, et une plus petite paire de pinces pour tenir le sommet du dernier segment abdominal et extraire soigneusement les intestins. Les intestins ont été fixés dans une solution de formaldéhyde à 4 %, insérés dans des blocs de paraffine, coupés à l'aide d'un microtome en sections de 6 µm d'épaisseur et colorés selon la méthode Hemalaon-Eozinic (HE) (Roulet, 1948).

Tous les calculs et les tests de signification des différences ont été effectués à l'aide du logiciel Statistica Release 8.

RÉSULTATS

Les spores pour l'infection artificielle des abeilles ont été isolées à partir de l'échantillon groupé d'abeilles positives à *N. apis* (40,1 x 10 spores par 1 ml). Le test de présence de spores de *N. apis* avant l'étude a donné des résultats négatifs dans les trois groupes (A, B, C). L'infection artificielle avec Les résultats de l'examen microscopique de la présence de spores aux 10e, 15e et 22e jours après l'infection artificielle sont présentés dans le tableau 1 et la figure 1. Les résultats du traitement "Noze- vit" aux 15e, 20e et 25e jours après son introduction (ou aux 36e, 40e et 47e jours après l'invasion artificielle) sont présentés dans le tableau 2 et la figure 2. Une différence statistiquement significative a été trouvée pour le traitement préventif dans le groupe B le 22e jour ($p < 0,05$), par rapport au 10th jour après l'infection artificielle avec des spores de *N. apis*.

Les résultats des examens histologiques sont présentés dans les figures 4 à 8.

DISCUSSION

La nosérose est une maladie parasitaire affectant les abeilles adultes. En raison de ses signes discrets et de la nécessité de l'éradiquer par l'échange de cadres avec du couvain dans une ruche désinfectée, les apiculteurs accordent une attention insuffisante à la maladie ou la négligent souvent. L'UE interdisant l'utilisation d'antibiotiques, il semble nécessaire d'introduire des préparations à base de plantes dans le traitement de la maladie Nosema.

Le but de notre étude était de déterminer l'efficacité de la préparation phytopharmacologique "Nozevit" après des traitements préventifs et curatifs répétés des abeilles atteintes de la maladie. L'étude a porté sur des colonies d'abeilles élevées dans un rucher d'essai à échelle réduite. Elle a été divisée en deux parties afin de déterminer tout d'abord la performance préventive de "Nozevit", c'est-à-dire sa capacité à inhiber l'infection par le virus de la grippe aviaire.

N. apis, puis de déterminer l'efficacité de la préparation dans le traitement des colonies affectées. Nous avons supposé qu'une étude préliminaire à petite échelle démontrerait si "Nozevit" a le potentiel pour traiter efficacement les colonies d'abeilles souffrant de la maladie Nosema. Dans la première partie de l'étude, concernant l'activité préventive de "Nozevit", nous avons utilisé trois groupes de colonies d'abeilles, à savoir : le groupe de contrôle (A) qui était exempt de spores de *N. apis* et qui n'a pas été traité par "Nozevit".

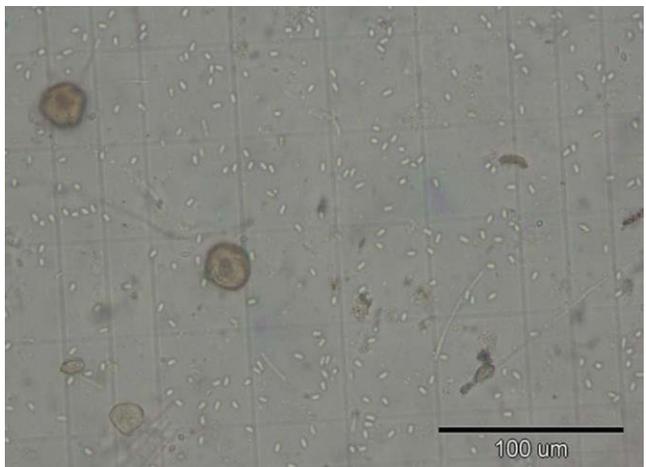


Figure 4. Spores de *N. apis* sur la grille de l'hémocytome, selon Bürker - Türk, à un grossissement de 400x au microscope à champ clair Olympus Bx41, photographes pris avec Olympus DP12 U -TVO.

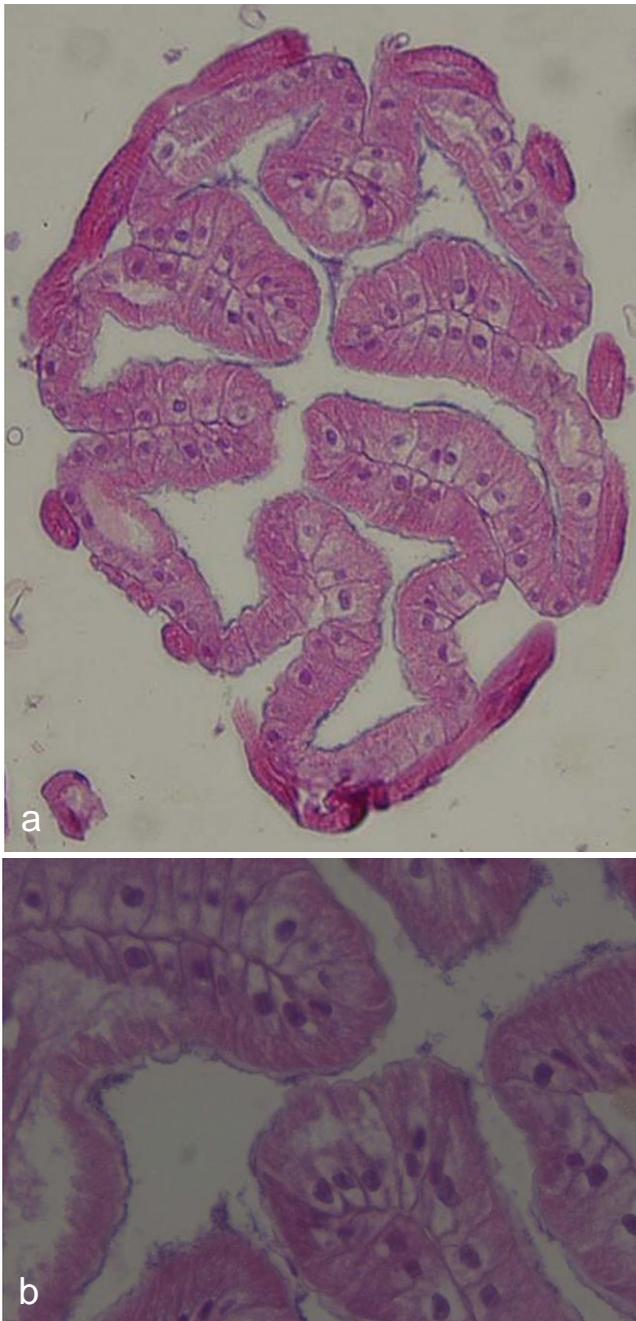


Figure 5. Partie médiane de l'intestin d'une abeille non infectée (a, b), sous le microscope à fond clair Olympus Bx41, photo-graphes pris avec Olympus DP12 U -TVO.

traité avec "Nozevit" ; le groupe test (B) qui a été artificiellement infecté par des spores et simultanément traité avec "Nozevit" ; et le groupe test (C) qui a été artificiellement infecté par les spores.

Les résultats de cette partie de notre étude ont démontré que la maladie n'a pas été évitée dans les colonies d'abeilles testées. Cependant, en comparaison avec le groupe (C), qui n'a pas été traité, une réduction considérable des spores a été obtenue (48,73 % le 10^e jour^{ab} ; 50,46 % le 15^e jour^{ab} et 70,91 % le 22^e jour^{ad} après l'infection artificielle avec des spores de *N. apis*). Les résultats de la deuxième partie de l'étude ont montré que le traitement avec "Nozevit" n'a pas réussi à éliminer les spores de *N. apis*, c'est-à-dire que la colonie d'abeilles infectée par la maladie Nosema n'a pas été complètement guérie. Malgré l'échec de la guérison complète, il faut souligner que le groupe traité avec "Nozevit" dès le début de notre étude, d'abord préventivement et ensuite curativement, avait un nombre réduit de spores par rapport au groupe qui a reçu le traitement préventif et curatif.

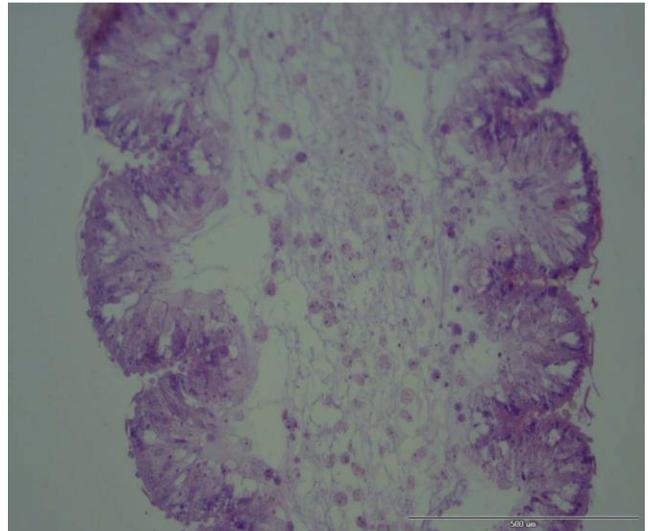


Figure 6. Partie moyenne de l'intestin d'une abeille infectée par des spores de *N. apis*, non traitée, à un grossissement de 100x sous le microscope à champ clair Olympus Bx41, photographies prises avec Olym- pus DP12 U -TVO.

Les abeilles ont été nourries avec la solution sucrée additionnée de "Nozevit" uniquement à des fins curatives et comparées au nombre de spores comptées au début du traitement (78,37 % le 15^e ; 75,47 % le 20^e et 23,92 % le 25^e jour après le traitement curatif). On a également observé que les abeilles nourries avec une solution sucrée à laquelle on a ajouté du "Nozevit" ont consommé la nourriture offerte deux fois plus rapidement que celles nourries uniquement avec une solution sucrée (*observation personnelle*). Notre intention était d'assurer une présence constante de la préparation phyto-pharmacologique dans les intestins des abeilles testées en utilisant continuellement "Nozevit", d'abord à titre préventif pendant cinq jours, puis à titre curatif quatre fois à des intervalles de quatre jours. Cependant, le mode d'administration n'était peut-être pas approprié, de sorte que toutes les abeilles n'ont pas reçu uniformément une dose suffisante. Oliver (2008) a testé l'activité de la même préparation en utilisant la méthode du "drench", qui permet à chaque abeille de recevoir une partie de la préparation à base de plantes en raison de son comportement social. Cette méthode consiste à prélever tout le sirop de sucre imbibé et à le partager "de proboscis" à proboscis", de sorte que la substance active puisse être répandue dans l'ensemble de la colonie d'abeilles avec un stockage minimal dans les rayons de miel. Il pensait cependant que la dose donnée de la préparation était insuffisante et que, par conséquent, les abeilles affamées ne pouvaient pas stocker suffisamment de préparation pour assurer un apport continu de la dose dans leurs intestins entre les traitements.

N. ceranae n'a pas été déterminée en Croatie à ce jour, mais elle pourrait être présente dans les infections mixtes car un pourcentage élevé de spores de *Nosema* a été détecté également pendant l'été, et parce qu'il a été diagnostiqué dans certains pays voisins. Toutefois, cette hypothèse doit être confirmée par des méthodes moléculaires (Fries et al., 2006 ; Martin - Hernandez et al., 2007).

Etant donné que l'étude préliminaire de l'efficacité de "Nozevit" a été réalisée sur un petit nombre de colonies d'abeilles, les résultats ne peuvent pas être considérés comme concluants. Etant donné qu'une réduction considérable du nombre de spores a été obtenue dans les colonies d'abeilles traitées, une étude à grande échelle devrait être réalisée dans un rucher de production. En outre, le nombre de spores de *Nosema* et la dose d'invasion devraient être testés sur une plus longue période. Il est également nécessaire de déterminer la dose optimale par colonie d'abeilles, la fréquence des traitements et le nombre total de traitements nécessaires à la guérison. Actuellement, le fabricant recommande de pulvériser 15 à 20 gouttes de "Nozevit" sur les abeilles, de les ajouter à une solution de sucre ou de les mélanger à un pain de miel et de sucre pour compléter l'alimentation stimulante. Le traitement doit être effectué deux ou trois fois à des intervalles de 10 jours pendant les mois d'été. Jusqu'à présent, aucun rapport n'a fait état de toxicité ou de résidus nocifs éventuels dans le miel ou d'autres produits apicoles. La possibilité de concentrer la préparation a été testée en dissolvant l'extrait de plantes dans une quantité d'eau deux fois plus petite (Manger 2008, *commentaire personnel*).

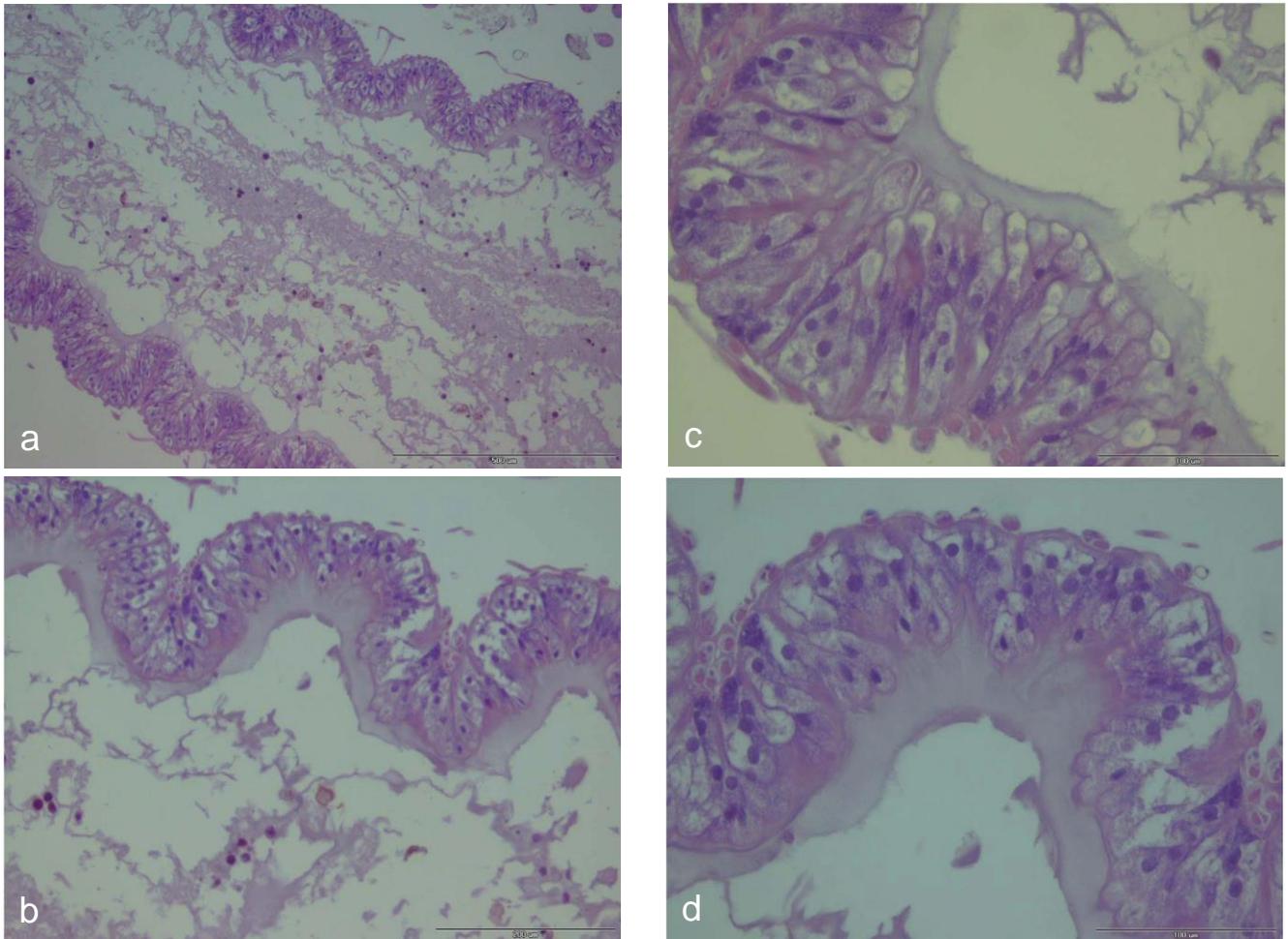


Figure 7. Partie centrale de l'intestin d'une abeille infectée par des spores de *N. apis*, traitée avec la préparation phytopharmacologique "Nozevit" (a, b, c, d), sous microscope à fond clair Olympus Bx41, photographies prises avec Olympus DP12 U -TVO. La lumière intestinale des abeilles est recouverte d'une couche ferme.

Les analyses (spectrophotomètre UV/VIS Beckman DU-530 ; 1100nm - 190 nm, dilution 1:20 dans l'eau) ont montré des concentrations de l'extrait très similaires ou se chevauchant. La conclusion est que l'extrait de plantes lie l'eau jusqu'au point de saturation maximal et que cette méthode n'est pas satisfaisante pour concentrer la préparation.

Le "Nozevit" est un extrait naturel d'écorce de chêne qui est connu depuis de nombreuses années comme une source riche en tanins (Wikipedia 2008). Les tanins sont des polyphénols végétaux naturels et amers dont la principale propriété est la fixation, la précipitation ou la coagulation des protéines. Ils sont utilisés en médecine humaine pour traiter les maladies inflammatoires du tube digestif. Les tanins adhèrent à la muqueuse pour former une membrane élastique (dans le traitement des aphtes) ou exercent une activité anti-inflammatoire (dans l'atténuation des symptômes inflammatoires du syndrome de l'intestin irritable). Ces phénols de poids moléculaire élevé contiennent un nombre suffisant de groupes hydroxyles pour former des complexes avec les protéines, la cellulose et certains minéraux et ainsi inhiber la diarrhée. Si nous faisons une comparaison avec la diarrhée induite par la maladie Nosema, les tanins de "Nozevit" devraient être capables d'arrêter la diarrhée et donc de réduire considérablement la propagation de l'agent pathogène dans les colonies d'abeilles.

La question reste de savoir si les substances actives contenues dans "Nozevit" recouvrent la lumière intestinale moyenne des abeilles ou les spores de *Nosema* ? Si elles recouvrent la lumière de l'intestin moyen, c'est-à-dire la membrane péritrophique, la question est de savoir si cette couche est sélectivement perméable. Si la germination des spores est empêchée et qu'elles ne peuvent pas pénétrer les cellules épithéliales de l'intestin moyen, se pose alors la question de la digestion normale à travers cette membrane. Qu'advient-il des cellules excrétées et des enzymes digestives expulsées par ces cellules ? De même, que se passe-t-il avec l'absorption des aliments si ceux-ci sont digérés ? Tous les processus physiologiques suivent-ils un cours normal ? Toutes ces questions doivent être réétudiées dans le cadre d'un programme de recherche sur les maladies infectieuses.

Les conditions de laboratoire sont identiques, avec un nombre connu d'abeilles dans chaque groupe et un niveau connu d'ingrédient actif par abeille dans la préparation. De cette manière, tout effet négatif extrinsèque serait éliminé, y compris le mauvais temps ou la force inégale des colonies d'abeilles. Les résultats de l'examen histologique montrent que la lumière intestinale des abeilles traitées avec "Nozevit" est recouverte d'une couche ferme, tandis que les abeilles non traitées présentent une zone de membrane péritrophique beaucoup plus lâche et pas clairement limitée. On a également observé que le contenu intestinal contenant de nombreuses spores a tendance à être comprimé au centre de la lumière, ce qui entrave probablement la germination des spores. Nous supposons que "Nozevit" recouvre simultanément la lumière intestinale et les spores de *Nosema*. Le mécanisme d'action de "Nozevit" nécessite des études biologiques et histologiques plus détaillées, tout comme les différences dans la pathogenèse de *N. apis* et *N. ceranae* (Higes et al., 2007).

Etant donné que l'étude préliminaire de l'efficacité de "Nozevit" a été réalisée sur un petit nombre de colonies d'abeilles, les résultats de l'étude ne peuvent pas être considérés comme concluants. Cependant, sur la base du fait que le nombre de spores de *Nosema* a été considérablement réduit lors de l'utilisation préventive et curative de "Nozevit", nous pensons que la préparation mérite d'être étudiée plus avant.

RÉFÉRENCES

- Anderson, D. L. et Giacon, H. (1992) :** Reduced pollen collection by honey bee (Hymenoptera : Apidae) colonies infected with *Nosema apis* and sacbrood virus. *J. Econ. Entomol.* 85 (1) : 47 - 51.
- Anon (2008a) :** Naredba o izmjenama Naredbe o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju.

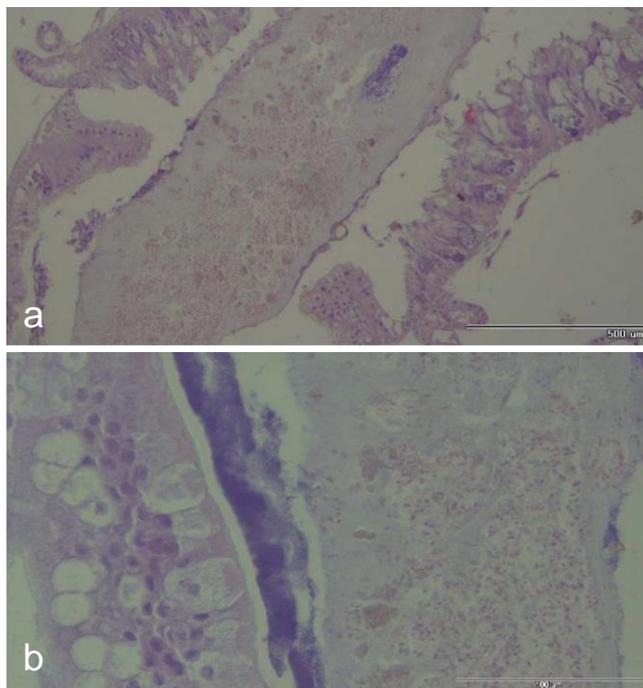


Figure 8. Partie médiane de l'intestin d'une abeille infectée par des spores de *N. apis*, traitée avec la préparation phytopharmacologique "Nozevit" (a, b), sous microscope à fond clair Olympus Bx41, photographies prises avec Olympus DP12 U -TVO. Le contenu intestinal contenant de nombreuses spores a tendance à être comprimé au centre de la lumière.

u 2008. godini. N.N. 10/08.

Anon (2008b) : La nosérose de l'abeille. Manuel terrestre de l'OIE. Chapitre 2.2.4, 410 - 414.

Bailey L. et Ball B. (1999) : Honey Bee Pathology. Deuxième édition. Academic Press 64 - 143.

Bailey, L. (1972) : *Nosema apis* in drone honey bees. *J. apic. Res.*

11, 171 - 174.

- Cantwell, G. E. (1970)** : Méthodes standard pour le comptage des *Nosema* spores. *Am.Bee J.* 110, 222 - 223.
- Fries I., R. Martin, A. Meane, P. Garcia-Palencia, M. Higes (2006)** : Natural infections of *Nosema ceranae* in European honey bees. *J. Apicul. Res.* 45, 230 - 232).
- Fries, I. (1995)** : *Nosema apis* - un parasite dans la colonie d'abeilles. *Bee World* 74, 5 - 19.
- Hassanien, M. H. (1951)** : Studies on the effect on infection with *Nosema apis* on the physiology of the queen honey bee. *Q. Jl. microsc. Sci.* 92, 225 -231.
- Higes M., P. Garcia-Palencia, R. Martin-Hernandez, A. Meana (2007)** : Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Journal of Invertebrate Pathology* 94, 3, 211 - 217.
- Hornitzky M. (2005)** : A report for the Rural Industries Research and Development Corporations 1 - 16.
- Laere Van, O. (1977)** : Facteurs influençant la germination des spores de *Nosema apis*. In : Biological aspects of Apimondia Symposium, Merelbeke, Belgique.
- Liu, T. P. (1984)** : Virus like cytoplasmic particles associated with lysed spores of *Nosema apis*. *J. Invertebr. Pathol.* 44, 103 - 105. **Martin - Hernandez R., L. Prieto, A. Martínez Salvador, E. Garrido-Bailon, M. Higes (2007)** : Outcome of Colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 20, 6331 - 6338.
- Matašin, Ž., I. Tlak, Z. Petrincec (2007)** : Značenje dijagnosticiranja nosemoze. Međunarodni stručno - znanstveni skup 4. Dani meda. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Zbornik radova 98.
- Morse, R. A. et Shimanuki, H. (1990)** : Résumé des méthodes de lutte. In : Honey bee pests, predators, and diseases. Second edition. Morse R. A. et R. Nowogrodzki (Ed.). Cornell University Press. Ithica et Londres, 341 - 354.
- Muresan, E., C. Duca, Z. Papay (1975)** : L'étude de quelques indicateurs histo-chimiques de l'intestin moyen, sain et infecté par *Nosema apis* Z., de l'abeille *Apis mellifica carpatica*. In : Proc. XXV Int. Cong. Apimondia. Maison publique, Grenoble, 384 385.
- Oliver, R. (2008)** : A Test of the "Drench" Method for *Nosema* Treatment. *American Bee Journal* 148, 10, 917 - 927.
- Peroutka, M., V. Vesely (1976)** : Apimondia symposium Biological aspects of Merelbeke. Livre des résumés 65 - 68.
- Roulet, F. (1948)** : Méthodes d'histologie pathologique. Springer-Verlag. Wien.
- Shimanuki H., Knox, D. A., Furgale, B. Caron D. M. et Williams, J. L. (1992)** : La ruche et l'abeille. 10^e édition. Graham, Dadant and Sons (ed.), Hamilton, Ilionis.
- Somerville, D. (2002)** : dans Abeilles. Agnote DAI, 124.
- Sulimanović, Đ., Lj. Zeba, J. Marković (1995)** : Prepoznavanje i suzbijanje pčelinjih bolesti. PIP. Zagreb.
- Wikipedia (2008)** : Tanins. <http://en.wikipedia.org/wiki/Tannins>

Remerciements

Les auteurs de cet article souhaitent exprimer leurs sincères remerciements à Danijela Grilec, Gordana Husinec et Predrag Manger pour leur assistance technique, leurs conseils et leurs encouragements pendant toute la durée de l'étude.

* Adresse de contact :

Ivana Tlak Gajger, DVM, Département de biologie et de pathologie des poissons et des abeilles, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Zagreb, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Croatie, Tél : +385 1 2390 136 ; Fax : +385 1 2441 390 ; E-mail : ivana.tlak@vef.hr