

Liste des méthodes utilisées dans le champ des missions du Laboratoire National de Référence de l'Anses :

- **Maladies des abeilles**
- **Pesticides dans les denrées alimentaires (produits de la ruche)***
- **Pesticides par méthodes monorésidus (produits de la ruche)***

Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
27-31 avenue du général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr

Laboratoire de Sophia Antipolis

Responsable du LNR Maladies des abeilles : Stéphanie FRANCO
Adjoint : Véronique DUQUESNE

Responsable des LNR associés Pesticides dans les denrées alimentaires et Pesticides par méthodes monorésidus (produits de la ruche)* : Anne Claire MARTEL

* Concernant ces deux mandats, l'unité Pathologie de l'Abeille de l'Anses de Sophia Antipolis intervient pour l'analyse des produits de la ruche comme laboratoire associé au laboratoire Anses de Sécurité des Aliments de Maisons-Alfort. L'inventaire complet des méthodes utilisées dans le cadre des missions de ces mandats est disponible sur la page Internet du site Anses de Maisons-Alfort.

Classement des méthodes est effectué selon l'origine, comme suit :

- Méthodes normalisées : méthodes éditées par des instances de normalisation reconnues telles que l'International Standard Organisation (ISO : méthodes codées « ISO »), le Comité Européen de Normalisation (CEN : méthodes codées « EN »), l'Association Française de Normalisation (AFNOR: méthodes codées « NF »).
- Méthodes commerciales : méthodes ou trousse de diagnostic diffusées et mises sur le marché par des compagnies privées
- Méthodes internes : méthodes mises au point ou adaptées par le LNR et caractérisées ou validées en intra-laboratoire ou en inter-laboratoires

Mise à jour le 18/11/2014

Maladies des abeilles (Sophia Antipolis)

Méthodes OIE (*Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animal*)

- Recherche de la loque américaine du couvain d'abeille (*Paenibacillus larvae*) par examen bactérioscopique après coloration de GRAM* (méthode interne adaptée de la méthode OIE 2008 - American foulbrood of honey bees, Chapitre 2.2.2 ; ANA-I1.MOA.03) : **méthode officielle**¹
- Identification de *Paenibacillus larvae*, agent de la loque américaine, par PCR** (méthode interne selon méthode OIE 2008 - American foulbrood of honey bees, Chapitre 2.2.2 ; ANA-I1.MOA.19) : **méthode officielle**1
- Recherche de la loque européenne du couvain d'abeille (*Melissococcus plutonius*) par examen bactérioscopique après coloration de GRAM* (méthode interne adaptée de la méthode OIE 2008 - European foulbrood of honey bees, Chapitre 2.2.3 ; ANA-I1.MOA.01) : **méthode officielle**1
- Identification de *Melissococcus plutonius*, agent de la loque européenne, par PCR** (méthode interne selon méthode OIE 2008 - European foulbrood of honey bees, Chapitre 2.2.3 ; ANA-I1.MOA.21) : **méthode officielle**1
- Recherche de la nosérose des abeilles (*Nosema* spp.) par examen microscopique* (méthode interne selon la méthode OIE 2008 - Nosemosis of bees, Chapitre 2.2.4. ; ANA-I1.MOA.09) : **méthode officielle**1
- Identification de l'espèce de Nosema (*Nosema apis* et *Nosema ceranae*) par PCR** (méthode interne adaptée de la méthode OIE 2008 - Nosemosis of bees, Chapitre 2.2.4. ; ANA-I1.MOA.11) : **méthode officielle**1
- Recherche de l'acariose des trachées (*Acarapis woodi*) par examen microscopique* (méthode interne selon méthode OIE 2008 - Acarapisosis of honey bees, Chapitre 2.2.1. ; ANA-I1.MOA.05)
- Identification du petit coléoptère de la ruche (*Aethina tumida*) par examen morphologique* (méthode interne adaptée de la méthode OIE 2008 - Small hive beetle infestation, Chapitre 2.2. 5 ; ANA-I1.MOA.15) : **méthode utilisée dans le cadre des diagnostics officiels**

Méthodes mises en place conjointement avec le mandat LRUE pour la Santé des abeilles du laboratoire :

- Isolement et identification de *Paenibacillus larvae* (agent de la loque américaine) par culture bactérienne et PCR (méthode interne adaptée de la méthode OIE 2008 - American foulbrood of honey bees, Chapitre 2.2.2 ; ANA-I1.MOA.20) : **méthode utilisée dans le cadre des diagnostics officiels**
- Isolement et identification de *Melissococcus plutonius* (agent de la loque européenne) par culture bactérienne et PCR (méthode interne adaptée de la méthode OIE 2008 - European foulbrood of honey bees, Chapitre 2.2.3 ; ANA-I1.MOA.22)
- Identification des acariens de type *Tropilaelaps* spp. par examen morphologique (méthode interne adaptée de méthode OIE 2008 – *Tropilaelaps* infestation of honey bees (*Tropilaelaps* spp.), chapitre 2.2.6.) : **méthode utilisée dans le cadre des diagnostics officiels**

¹ Note de service DGAL/SDPRAT/N2012-8173 du 07 août 2012 relative à l'appel à candidatures pour la réalisation d'analyses officielles pour la recherche de pathogènes des abeilles.

Méthodes commerciales

2 méthodes existantes mais non utilisées²

Méthodes internes

- Recherche de la varroose par examen macroscopique et mise en évidence de *Varroa destructor* par examen direct* sur couvain ou abeilles (méthode interne ; ANA-I1.MOA.07)
- Recherche de l'acariose des trachées (*Acarapis woodi*) par examen microscopique (méthode interne ; ANA-I1.MOA.23)
- Identification du frelon asiatique (*Vespa velutina*) par examen morphologique* (méthode interne ; ANA-I1.MOA.25) : **méthode utilisée dans le cadre des diagnostics officiels**
- Détection et quantification du virus de la paralysie chronique de l'abeille (CBPV) par RT-PCR en temps réel** (méthode interne ; ANA-I1.MOA.13) : **méthode officielle 1**
- Recherche de plusieurs des virus de l'abeille par RT-PCR de détection : virus de la paralysie aiguë (ABPV), de la cellule noire de reine (BQCV), du Cachemire (KBV), des ailes déformées (DWV), souche Israélienne du virus de la paralysie aiguë (IAPV), du couvain sacciforme (SBV) (méthode interne ; ANA-I1.MOA.29) : **méthode officielle 1**
- Détection de *Nosema apis*, *Nosema ceranae* et *Paenibacillus larvae* par PCR multiplexe ADN# (méthode interne)
- Détection des virus de l'abeille (ABPV, BQCV, KBV, DWV, IAPV, SBV, CBPV) par PCR multiplexe ARN# (méthode interne)

Méthodes développées conjointement avec le mandat LRUE pour la Santé des abeilles du laboratoire :

- Identification de *Tropilaelaps* spp. par PCR et identification de l'espèce de *Tropilaelaps* par séquençage# : **méthode utilisée dans le cadre des diagnostics officiels**
- Détection et identification du petit coléoptère de la ruche (*Aethina tumida*) par PCR** (méthode interne ; ANA-I1.MOA.17) : **méthode utilisée dans le cadre des diagnostics officiels**
- Détection et quantification du virus du couvain sacciforme (SBV) par RT-PCR en temps réel permettant la détection et la quantification du virus du couvain sacciforme (SBV)⁺ (méthode interne)
- Détection et quantification du virus de la cellule noire de reine (BQCV) par RT-PCR en temps réel permettant la détection et la quantification du virus de la cellule noire de reine (BQCV)⁺

+ Méthode validée

* Méthode accréditée par le COFRAC

Méthode en cours de développement et d'application

Pesticides dans les matrices apicoles (Sophia Antipolis)

Méthodes internes :

- Recherche des néonicotinoïdes dans les abeilles par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem : ANA-I1.MOA.02**.
- Recherche des néonicotinoïdes dans le pain d'abeilles par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem : ANA-I1.MOA.04**.

² Méthodes pour le diagnostic de terrain de la loque américaine et de la loque européenne : kit de détection VITA AFB ou EFB par détection des agents par anticorps spécifiques. L'examen bactérioscopique réalisé au laboratoire est plus précis et peut être complété par une identification de l'agent par PCR.

- Recherche des néonicotinoïdes dans le pollen par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem : ANA-I1.MOA.06⁺.
- Recherche des néonicotinoïdes dans le miel par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem : ANA-I1.MOA.10⁺#.
- Recherche des acaricides dans le miel par chromatographie en phase gazeuse après extraction liquide/liquide : ANA-I1.MOA.08⁺#.
- Recherche des néonicotinoïdes dans le nectar par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem : ANA-I1.MOA.16⁺.
- Recherche des pesticides de la famille des organochlorés, des organophosphorés, des pyréthri-noïdes et des dicarboximides dans les abeilles par chromatographie en phase gazeuse (méthode multirésidus) : ANA-I1.MOA.12⁺.
- Recherche des pesticides de la famille des organochlorés, des organophosphorés, des pyréthri-noïdes et des dicarboximides dans le pollen par chromatographie en phase gazeuse (méthode multirésidus) : ANA-I1.MOA.14⁺.

⁺ Méthode validée

* Méthode accréditée par le COFRAC

Méthode appliquée dans le cadre du PS/PC miel (DGA)