

Laboratoire de Sophia Antipolis – Unité Pathologie de l’Abeille

Fiche ET PROTOCOLE de prélèvement

***Partie réservée à l’Anses :***

**Date de réception** : ……………………….......................... **Date d’enregistrement** : ……………………………………

**Personnel en charge du dossier :** …………………………... **N° de DA :** ………………………………………………………...

**Fiche complète :** oui  non

Demande d’informations complémentaires le : ……………… par :  téléphone  email  autre

**Renseignements -** Fiche remplie par :       Date :

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Demandeur**  NOM Prénom :  Adresse :  CP :       Ville :  Tél :       Fax :  Email : |  | **Payeur**  NOM Prénom :  Adresse :  CP :       Ville :  Tél :       Fax :  Email :  *N° de TVA Intracom* :  Infos CHORUS si organisme public : |
|  |  |  |
| **Propriétaire des prélèvements / du rucher**  NOM Prénom :  Tél :  Adresse :  CP :  N° d’apiculteur : |  | **Description des problèmes du rucher**  ***Signes cliniques devant les colonies***  Mortalité importante  Abeilles tremblantes  Abeilles traînantes  Abeilles noires et/ou dépilées  Abeilles rejetées par les gardiennes (agressivité)  Abeilles aux ailes déformées/atrophiées  Abeilles accrochées aux brins d’herbe  Traces de diarrhées devant/sur la ruche  Abeilles disposées en soleil  Activité au trou de vol réduite  ***Signes cliniques à l’intérieur des colonies***  Dépopulation constatée  Manque d’abeilles sur le couvain  Présence de varroas  Abeilles aux ailes déformées  Abeilles avec la tête dans l’alvéole  Couvain en mosaïque  Atteinte du couvain :  ouvert  operculé  de cellules royales  Opercules de couleurs différentes  Larves :  Gluantes  Filantes  avec saccule  Larves jaunes, marrons à noires  Couvain plâtré/mycose  Couvain tubulaire  Présence de galeries dans les cadres  Destruction du couvain  Modification de la couleur du miel / fermentation  Présence d’insectes (ex : coléoptères), d’acariens différents de varroas, de larves suspectes |
| **Prélèvements réalisés**  NOM du préleveur:  Date du prélèvement :  Lieu du prélèvement : *Code postal :*  *Commune :*  Date de l’envoi : |
|  |  |
| **Contexte de la demande**  **Plan de contrôle miel**  **Certificat sanitaire pour l’exportation**  **Diagnostic suite à trouble :**  Date de 1ère observation du problème :  Nombre de ruches dans le rucher :  Nombre de ruches atteintes :  Nombre de ruches mortes :  **Situation du rucher :**  Cultures, vergers. Type :  Flore naturelle sauvage :  Industries, autoroutes, autres : |  |
|  |  |
| **Calendrier des traitements** (varroose, loques...)  Dates de traitement :  Produits employés :  Mode d’application :  Durée du traitement : |  |

**Problème suspecté par le demandeur et autres observations :**

**Liste des prélèvements et analyses demandées**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | | ***Partie réservée***  ***à l’Anses*** |
| **Identification[[1]](#footnote-1)**  **A préciser impérativement** | **Nature du prélèvement[[2]](#footnote-2)**  **A préciser impérativement** | **Signes cliniques associés**  **A préciser impérativement** | **Préciser le n° de l’analyse demandée[[3]](#footnote-3)** | ***N° de référence LIMS***  ***de l’échantillon*** |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

**LISTE DES PRESTATIONS ANALYTIQUES**

**Recherche de maladies et d’agents pathogènes biologiques**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Loques américaine et européenne :** | | |
|  | 1. Recherche des loques américaine et européenne par examen bactérioscopique\*   *Note : Analyse réalisée en première intention suite à une suspicion clinique* | Couvain, larves |
|  | 1. Isolement et culture de *Paenibacillus larvae* (agent de la loque américaine) | Couvain, larves, miel, cire |
|  | 1. Isolement et culture de *Melissococcus plutonius* (agent de la loque européenne) | Couvain, larves |
|  | 1. Identification de *P. larvae* par PCR\*   *Note : Analyse réalisée uniquement en seconde intention, et si nécessaire, dans le cas d’une suspicion clinique ou d’un résultat positif en culture* | Couvain, larves |
|  | 1. Identification de *M. plutonius* par PCR\*   *Note : analyse réalisée uniquement en seconde intention, et si nécessaire, dans le cas d’une suspicion clinique ou d’un résultat positif en culture* |
| **Mycose :** | | |
|  | 1. Recherche de la mycose du couvain par examen macro et microscopique | Couvain |
| **Varroose :** | | |
|  | 1. Recherche de la varroose par examen macroscopique et mise en évidence de *Varroa destructor* par examen direct\* | Abeilles, couvain |
| **Nosémose :** | | |
|  | 1. Recherche de la nosémose par examen microscopique\*   *Note : Analyse réalisée en première intention suite à une suspicion clinique* | Abeilles |
|  | 1. Identification de l’espèce de *Nosema* (*N. apis*/*N. ceranae*) par PCR\*   Note : Analyse réalisée uniquement en seconde intention si la microscopie est positive |
| **Acariose des trachées :** | | |
|  | 1. Recherche de l’acariose des trachées par examen microscopique (méthode OIE ou méthode interne) | Abeilles |
|  | 1. Recherche d’*A. woodi* par PCR |
| **Petit coléoptère des ruches, *Aethina tumida* :** | | |
|  | 1. Identification par examen morphologique\* | Insecte adulte, larve |
|  | 1. Identification par PCR\*   *Note : Pour les adultes et les larves : analyse réalisée en seconde intention si nécessaire* | Insecte adulte, larve, œufs |
| **Frelon asiatique, *Vespa velutina* :** | | |
|  | 1. Identification par examen morphologique | Insecte |
| ***Tropilaelaps* spp. :** | | |
|  | 1. Identification par examen morphologique\* | Acarien |
|  | 1. Identification par PCR   *Note : Analyse réalisée uniquement en seconde intention si nécessaire* |
| **Viroses / virus de l’abeille :** | | |
|  | 1. Paralysie chronique (maladie noire, CBPV) : recherche et quantification par PCR\* | Abeilles |
|  | 1. Virus de la paralysie aigüe (ABPV) : recherche et quantification par PCR | Abeilles, couvain |
|  | 1. Virus de la cellule royale noire (BQCV) : recherche et quantification par PCR |
|  | 1. Virus du couvain sacciforme (SBV) : recherche et quantification par PCR |
|  | 1. Virus des ailes déformées (DWV-A et DWV-B) : recherche et quantification par PCR |
|  | 1. Virus du Cachemire (KBV) : recherche par PCR |
|  | 1. Virus israélien de la paralysie aigüe (IAPV) : recherche par PCR |

**Recherche de contaminants chimiques**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Acaricides** (coumaphos, amitraze, bromopropylate, tau-fluvalinate et chlorfenvinphos) par GC-ECD et GC-NPD : | | | |
|  | 1. Miel\* | | |
| **Néonicotinoïdes** par LC-MS/MS : | | | |
|  | 1. Miel\* |  | 1. Nectar |
|  | 1. Abeilles\* |  | 1. Sirop de nourrissement |
|  | 1. Pollen\* |  | 1. Larves d’abeilles |
|  | 1. Pain d’abeilles\* |  |  |
| **Néonicotinoïdes et sulfoxaflor** par LC-MS/MS : | | | |
|  | 1. Abeilles | | |
|  | 1. Pollen | | |
| **Autres pesticides** (organochlorés, organophosphorés, pyréthrinoïdes de synthèse, boscalid, vinclozoline, iprodione et bromopropylate) par GC-MS/MS : | | | |
|  | 1. Miel\* :   a) Recherche multirésidus demandée  b) Recherche d’un pesticide déterminé, préciser : ………………………...................................... | | |
|  | 1. Abeilles :   a) Recherche multirésidus demandée  b) Recherche d’un pesticide déterminé, préciser : ………………………...................................... | | |
|  | 1. Pollen :   a) Recherche multirésidus demandée  b) Recherche d’un pesticide déterminé, préciser : ………………………...................................... | | |
|  | 1. Pain d’abeilles :   a) Recherche multirésidus demandée  b) Recherche d’un pesticide déterminé, préciser : ………………………...................................... | | |

**\* Les essais portant un astérisque (\*) sont réalisés sous le couvert de l’accréditation par le COFRAC.**

**Numéro d’accréditation : 1-2229. Portée disponible sur le site :** [**www.cofrac.fr**](http://www.cofrac.fr)

**Tarifs et conditions**

* Les tarifs et les conditions générales applicables aux prestations de service, essais et analyses tarifées et réalisées par l’Anses sont disponibles sur le site anses.fr : <https://www.anses.fr/fr/content/tarif-des-prestations-de-lanses>
* Pour toute demande d’information complémentaire *(*ex : quantité à prélever, choix de la méthode d’analyse, précisions sur les tarifs),contacter le laboratoire.
* Le laboratoire s’engage à conserver les échantillons deux mois après l’envoi du rapport d’essai au client.

**EXPEDITION des échantillons**

* Les prélèvements doivent être envoyés au laboratoire dans un **colis rigide** afin d’**éviter tout risque d’écrasement.**
* **L'envoi des échantillons biologiques doit respecter la règlementation en matière de risque infectieux**.
* **Veiller au respect de la chaîne du froid lorsque cela est nécessaire.**
* **La fiche de renseignements doit impérativement être jointe aux prélèvements**. Ne pas la placer au contact direct de l’échantillon pour éviter tout risque de salissures.
* **Eviter les envois en fin de semaine** (après mercredi). Les prélèvements pourraient rester à la poste tout le week-end et la qualité des échantillons (et de fait des résultats analytiques) pourrait être altérée.

**Indiquer sur le colis les informations suivantes :**

**Anses Laboratoire de Sophia Antipolis, Unité Pathologie de l’Abeille, Echantillons pour analyses**

**Les Templiers, 105 route des Chappes, CS 20111, 06902 Sophia Antipolis cedex**

*Remarque : en cas d’envoi par transporteur spécialisé, indiquer comme code postal « 06410 BIOT »*

**Tél : 04 92 94 37 00** - **Fax : 04 92 94 37 01**- **Email : lnr.abeille@anses.fr**

**Protocole de prélèvement**

**Nature et quantité des prélèvements à effectuer**

**Recherche d’agents pathogènes biologiques :**

* **Abeilles**
* **Prélever si possible des abeilles vivantes « symptomatiques », c’est-à-dire présentant les signes cliniques ou comportements anormaux qui motivent la demande d’analyse.** Des abeilles mortes peuvent être également échantillonnées. *Nota bene* : si les abeilles sont en mauvais état de conservation (ex : desséchées ou putréfiées), l’analyse ne sera pas toujours réalisable ou le résultat difficile à interpréter.

|  |  |
| --- | --- |
| **Nature de la recherche** | **Quantité minimale à prélever** |
| Nosémose (*Nosema apis, N. ceranae)* | > 10 abeilles |
| Viroses | > 10 abeilles |
| Acariose des trachées (*Acarapis woodi*) | > 20 abeilles |
| Varroose (*Varroa destructor)* | > 30 abeilles |

* **En l’absence de signes cliniques, et afin de déterminer l’état infectieux de la colonie (dépistage) : prélever des abeilles vivantes asymptomatiques à l’intérieur ou à l’entrée de la ruche.**

Pour la recherche de *Nosema*, des virus et d’*Acarapis woodi*, effectuer le prélèvement sur des cadres de rive, dans les hausses ou à l’entrée de la ruche (pour privilégier le prélèvement de butineuses susceptibles d’être plus infectées/infestées).

|  |  |
| --- | --- |
| **Nature de la recherche** | **Quantité minimale à prélever** |
| Agents de la nosémose  (*Nosema apis, N. ceranae)* | > 60 abeilles |
| Virus | > 60 abeilles |
| Agent de l’acariose des trachées  (*Acarapis woodi*) | > 200 abeilles |

* **Couvain**

Découper un morceau de couvain d’une taille supérieure à 10 x 10 cm contenant au moins 10 larves et/ou nymphes dont l’aspect anormal motive la demande d’analyse. Il est possible également d’envoyer un cadre entier.

Dans le cas où des signes cliniques particuliers ont été mis en évidence, des larves/nymphes/écailles (>10) ou cellules royales peuvent être prélevés de façon spécifique. Il est important dans ce cas de bien décrire la nature des signes cliniques associés au prélèvement dans la fiche au niveau du tableau récapitulatif (p. 2).

* **Parasites suspects (ex : acariens, insectes)**

Prélever plusieurs individus de chaque espèce, si possible à différents stades de développement (ex : œufs, larves, nymphes, adultes). Il est en effet parfois indispensable d’examiner plusieurs spécimens pour les identifier.

NB : En cas de suspicion de parasitose exotique, en raison de l’urgence de l’analyse, **avertir le laboratoire de l’envoi des échantillons.** Si possible, prendre des photos et les envoyer par email au Laboratoire national de référence (LNR) sur la santé des abeilles : [lnr.abeille@anses.fr](mailto:lnr.abeille@anses.fr)

* **Produits de la ruche en vue de la recherche de la loque américaine par culture bactérienne et PCR**

|  |  |
| --- | --- |
| Miel : > 40 g | Cire : > 5 g |

**Recherche de contaminants chimiques :**

|  |  |
| --- | --- |
| * **Miel :** 250 g | * **Pollen :** 50 g |
| * **Nectar :** 20 µL | * **Pain d’abeilles :** 50 g |
| * **Sirop de nourrissement :** 50 g | * **Larves d’abeilles :** 10 g (80 larves) |
| * **Abeilles :** 50 g (500 abeilles) |  |

**Conditionnement, conditions de stockage et de transport**

* **D’une manière générale, placer les prélèvements dans des conditionnements propres (à usage unique) et hermétiquement fermés portant le code d’identification de l’échantillon.**

Indiquer l’identification de l’échantillon de manière lisible et indélébile sur le contenant de stockage et sur le bouchon s’il s’agit d’un tube ou pot à prélèvement.

* **Si l’envoi est possible dans les heures ou le jour qui suit le prélèvement :** mettre les échantillons au réfrigérateur en attente de l’envoi (attention ils doivent rester secs) et les expédier à température ambiante.
* **Dans le cas où l’envoi ne peut pas se faire rapidement :** stocker les échantillons selon les conditions préconisées (cf. tableau suivant) et veiller à ce que la chaîne du froid ne soit pas interrompue jusqu’à l’arrivée au laboratoire. Pour ce faire, utiliser des plaques eutectiques (« blocs de froid ») et une boite isotherme, ou dans l’idéal, faire appel à un transporteur spécialisé.
* **Les spécimens entomologiques conditionnés dans l’éthanol peuvent être conservés et envoyés à température ambiante.**

|  |  |
| --- | --- |
| *Contenants préconisés* | *Stockage*  *avant envoi* |
| **Abeilles** | |
| * Emballages en papier (ex : enveloppes épaisses en papier kraft). NB : éviter tout risque d’écrasement. * Emballages rigides en carton * Pot à prélèvement en polypropylène si l’échantillon peut être réfrigéré ou congelé rapidement (sinon risque de macération) | Congélation à environ - 20°C |
| **Couvain** | |
| ***Cadre ou morceau de couvain :***   * Enveloppe épaisse en papier kraft ou boîte en plastique (ou en carton). NB : éviter tout risque d’écrasement et de « coulures »   ***Larves ou nymphes :***   * Petit tube à bouchon fermé (ex : tube Eppendorf). Placer le tube dans un pot à prélèvement ou une enveloppe pour faciliter l’identification de l’échantillon. Indiquer le nombre de larves/nymphes échantillonnées. * Pour la recherche de résidus chimiques : utiliser un pot à prélèvement en polypropylène et l’envelopper dans un sac en plastique. | Congélation à environ - 20°C |
| **Parasites suspects (ex : acariens, insectes)** | |
| * Tube à prélèvement étanche. Placer les spécimens dans de l’éthanol à 70% dilué ou, si cela n’est pas possible, à sec   NB : seul l’alcool éthylique (= éthanol) doit être utilisé. Ne pas employer d’alcool à brûler ou d’alcool dénaturé qui contiennent d’autres composés chimiques pouvant altérer le prélèvement.  Les parasites doivent être **envoyés morts et dans un contenant hermétique**, afin d’éviter un risque de dissémination lors du transport. Les spécimens vivants peuvent être tués dans l’éthanol ou par congélation pendant une nuit. | Température ambiante si conservés dans l'éthanol  Ou congélation si à sec |
| **Produits de la ruche** | |
| ***Miel et sirop de nourrissement :***   * Pot à prélèvement en polypropylène et l’envelopper dans un sac en plastique. | Réfrigération environ + 5 °C |
| ***Nectar :***   * Microcapillaires. Boucher les microcapillaires pour éviter l’évaporation du nectar. Placer les microcapillaires dans des tubes et les envelopper dans un sac en plastique. * Ou de préférence, extraire le nectar directement dans des petits tubes (ex : tubes Eppendorf) hermétiquement fermés. |
| ***Cire :***   * Boite en plastique (ou en carton) ou pot à prélèvement en polypropylène ou enveloppe épaisse en papier kraft. |
| ***Pollen frais et pain d’abeilles :***   * Morceau de rayon : boite en plastique (ou en carton) ou enveloppe épaisse en papier kraft. NB : éviter l’écrasement des prélèvements. * Pollen frais ou pain d’abeilles extrait : pot à prélèvement en polypropylène ou tube à centrifuger de 50 mL ou enveloppe Kraft. | Congélation à environ - 20°C |

1. Référence à indiquer sur le prélèvement (ex : n° ruche, nom rucher, date…) [↑](#footnote-ref-1)
2. Ex : abeilles (mortes, vivantes internes, vivantes externes), couvain, larves, nymphes, écailles, pollen, miel, pain d’abeilles, cire, lames microscopiques… [↑](#footnote-ref-2)
3. Voir liste des prestations analytiques proposées par le laboratoire en pages 3 et 4 [↑](#footnote-ref-3)