

Les abeilles mortes peuvent être prélevées dans le cadre d'une suspicion de pathologie des abeilles adultes. Réaliser de préférence 1 ou 2 prélèvements supplémentaires pour d'éventuelles contre-analyses.

MATÉRIEL



Gants
(latex ou nitrile)



Pince
entomologique



Fiches commémoratives
de prélèvement¹



Marqueurs
permanents



Contenants de stockage
propres et fermants



Glacière réfrigérée²



Congélateur

1. Penser à toujours renseigner les champs relatifs à la nature et au contexte du prélèvement dans la fiche commémorative de prélèvements.

2. Préférer la carboglace aux blocs ou aux gels réfrigérants.

PROCÉDURE

QUANTITÉ D'ABEILLES À PRÉLEVER

La quantité d'abeilles requise pour un diagnostic pathologique peut varier en fonction de l'agent infectieux ou du parasite recherchés et des méthodes d'analyses mises en œuvre par les laboratoires (**Tableau 1**). Plusieurs d'entre eux (**cf. www.itsap.asso.fr**) sont cependant capables de réaliser une analyse à partir de 1 à 2 g d'abeille (environ 10-20 individus). Un prélèvement d'une quantité supérieure est toutefois conseillé par la plupart des laboratoires afin qu'ils puissent répéter l'analyse si nécessaire.

TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

Tableau 1 : Nombre minimum d'individus à prélever en fonction de la pathologie recherchée.

Pathologies	Nombre d'individus à prélever
Varroase	20
Nosémoses	20
Viroses	10
Acariose des trachées	20

PRÉLÈVEMENT

- Identifier le contenant de stockage par un code spécifique à l'échantillon et reporter le sur la fiche commémorative de prélèvement.



Veillez à ne pas écrire le code sur le bouchon du contenant. Cette précaution limite les risques de confusion et permet d'identifier les échantillons même lorsque les contenants sont débouchés.



Abeilles mortes prélevées à l'aide d'une pince entomologique.

* Les techniques de biologie moléculaire mises en œuvre pour la recherche des agents infectieux ciblent les acides nucléiques (ADN et ARN). Au cours des processus de décomposition tissulaire par les microorganismes les acides nucléiques peuvent être dégradés, c'est pourquoi les cadavres des abeilles qui présentent des signes de décomposition avancée sont sans intérêt. Selon les conditions météorologiques, l'aspect des cadavres (couleur, consistance, odeur) peut renseigner sur le temps écoulé depuis la mort.

2



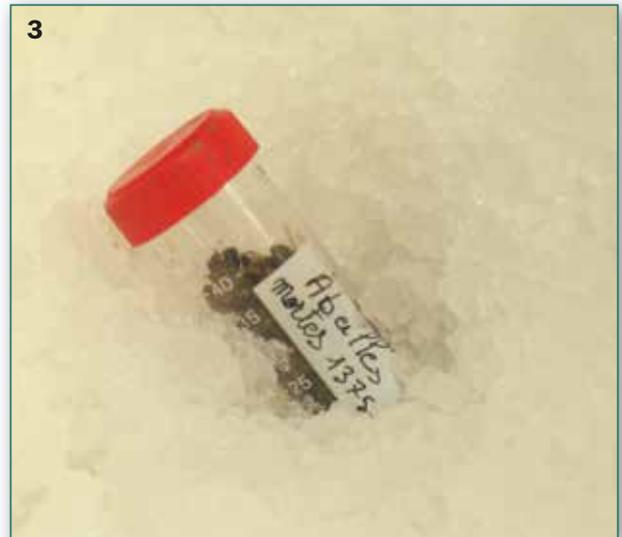
- Prélever des abeilles récemment mortes* (moins de 48 heures) à l'aide d'une pince entomologique (**photo 1**) ou directement à la main gantée et les placer dans un contenant de stockage rigide et refermable (**photo 2**).

Abeilles collectées dans un contenant de stockage.

TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS VERS LE LABORATOIRE PRESTATAIRE D'ANALYSES

- **Contactez le laboratoire** prestataire avant de transférer les échantillons afin de s'assurer des conditions d'envoi et de réception (éviter les jours précédents les week-ends, les jours fériés, les congés). Dans tous les cas, il est indispensable que les échantillons soient maintenus congelés et à l'abri de l'écrasement pendant la durée de leur transfert (**photo 3**). Chaque échantillon doit être accompagné d'une copie de sa fiche commémorative de prélèvement. Si des prélèvements sont conservés, les stocker au congélateur à une température inférieure à -18°C .

3



Prélèvement d'abeilles conservé au froid pendant le transport.

Les abeilles vivantes peuvent être prélevées dans le cadre d'une suspicion de pathologies des abeilles adultes (abeilles symptomatiques) ou dans le cadre d'un état des lieux sanitaire (abeilles asymptomatiques). Réaliser de préférence 1 ou 2 prélèvements supplémentaires pour d'éventuelles contre-analyses.

MATÉRIEL



Gants
(latex ou nitrile)



Pince
entomologique



Fiches commémoratives
de prélèvement¹



Marqueurs
permanents



Contenants de stockage
propres, rigides et fermants



Sacs à congélation
15 cm x 20 cm
finement percés



Congélateur

1. Penser à toujours renseigner les champs relatifs à la nature et au contexte du prélèvement dans la fiche commémorative de prélèvements.

PROCÉDURE

QUANTITÉ D'ABEILLES À PRÉLEVER

La quantité d'abeilles requise pour un diagnostic pathologique peut varier en fonction de l'agent infectieux ou du parasite recherchés et des méthodes d'analyses mises en œuvre par les laboratoires (**Tableau 1**). Plusieurs d'entre eux (**cf. www.itsap.asso.fr**) sont cependant capables de réaliser une analyse à partir de 2 g d'abeille (environ 10-20 individus). Un prélèvement d'une quantité supérieure est toutefois conseillé par la plupart des laboratoires afin qu'ils puissent répéter l'analyse si nécessaire.

TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

Tableau 1 : Nombre minimum d'individus à prélever en fonction de la pathologie recherchée.

Pathologies	Nombre d'individus à prélever
Varroase	20
Nosémoses	20
Viroses	10
Acariose des trachées	20

PRÉLÈVEMENT

- Identifier le sac à congélation par un code spécifique à l'échantillon et reporter le sur la fiche commémorative de prélèvement.



Abeille prélevée
sur un cadre à l'aide
d'une pince entomologique.

ABEILLES SYMPTOMATIQUES

◆ **Prélever les abeilles symptomatiques** à l'aide d'une pince entomologique (**photo 1**) ou directement à la main gantée et les placer dans un contenant pourvu d'un système anti-retour (**photo 2**).

◆ **Placer les abeilles prélevées** dans un sac à congélation (**photo 5**).

ABEILLES ASYMPTOMATIQUES

◆ **Prélever des abeilles butineuses** sur la planche d'envol à l'aide d'une pince entomologique ou directement à la main gantée et les placer dans un contenant pourvu d'un système anti-retour (**photo 3**).

◆ **Prélever des abeilles d'intérieur** sur les cadres de couvain et les cadres de hausse en secouant les cadres au-dessus d'un sac à congélation (**photos 4 et 4bis**).

◆ **Placer les abeilles prélevées** dans un sac à congélation (**photo 5**).



Abeille introduite dans un contenant équipé d'un système anti-retour.



Abeille prélevée sur la planche d'envol à l'aide d'une pince entomologique.



4 et 4 bis : Abeilles brossées et piégées dans un contenant équipé d'un système anti-retour.



Abeilles placées dans un sac à congélation ventilé.



Abeilles congelées transvasées dans un sac contenant de stockage.

TRANSPORT ET STOCKAGE DES ABEILLES

- **Transporter les abeilles vivantes** à température ambiante jusqu'au lieu de stockage.
- **Euthanasier les abeilles dès que possible** en plaçant le sac à congélation en dessous d'une température de -18°C pendant 24 heures.
- **Identifier** le contenant de stockage par un code spécifique à l'échantillon. Veillez à ne pas écrire le code sur le bouchon du contenant. Cette précaution limite les risques de confusion et permet d'identifier les échantillons même lorsque les contenants sont débouchés.
- **Transvaser les abeilles euthanasiées** dans un contenant de stockage rigide et fermant (**photo 6**). Veillez à récupérer les varroas qui se seraient décrochés des abeilles pendant la congélation.
- **Stocker les échantillons** au congélateur à une température inférieure à -18°C dès que possible.

TRANSFERT DES ÉCHANTILLONS VERS LE LABORATOIRE PRESTATAIRE D'ANALYSES

- **Contactez** le laboratoire prestataire avant de transférer les échantillons afin de s'assurer des conditions d'envoi et de réception (éviter les jours précédents les week-ends, les jours fériés, les congés). Dans tous les cas, il est indispensable que les échantillons soient maintenus congelés et à l'abri de l'écrasement pendant la durée de leur transfert. Chaque échantillon doit être accompagné d'une copie de sa fiche commémorative de prélèvement. Si des prélèvements sont conservés, les stocker au congélateur à une température inférieure à -18°C .



Le couvain mort peut être prélevé dans le cadre d'une suspicion de pathologie du couvain. Réaliser de préférence 1 ou 2 prélèvements supplémentaires pour d'éventuelles contre-analyses.

MATÉRIEL



Gants
(latex ou nitrile)



Pince
entomologique



Couteau
ou scalpel



Fiches commémoratives
de prélèvement¹



Marqueurs
permanents



Contenants de stockage
propres, rigides et fermants



Glacière réfrigérée²



Congélateur

1. Penser à toujours renseigner les champs relatifs à la nature et au contexte du prélèvement dans la fiche commémorative de prélèvements.

2. Préférer la carboglace aux blocs ou aux gels réfrigérants.

PROCÉDURE

QUANTITÉ DE COUVAIN À PRÉLEVER

La quantité de couvain requise pour un diagnostic pathologique peut varier en fonction de l'agent infectieux ou du parasite recherchés et des méthodes d'analyses mises en œuvre par les laboratoires (**tableau 1**). Plusieurs d'entre eux (**cf. www.itsap.asso.fr**) sont cependant capables de réaliser une analyse à partir de 5 à 10 g de couvain (50 à 100 larves L5 ou nymphes). Un prélèvement d'une quantité supérieure est toutefois conseillé par la plupart des laboratoires afin qu'ils puissent répéter l'analyse si nécessaire.

TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

Tableau 1 : Nombre et localisation des individus à prélever en fonction de la pathologie recherchée.

Pathologies	Nombre d'individus à prélever	Origine du couvain
Ascophérose ou couvain plâtré	50 à 100 ou section de cadre 12 cm x 12 cm	Cadres de couvain fermé
Loque américaine	50 à 100 ou section de cadre 12 cm x 12 cm	Cadres de couvain fermé
Loque européenne	50 à 100 ou section de cadre 12 cm x 12 cm	Cadres de couvain fermé
Varroase	section de cadre 12 cm x 12 cm	Cadres de couvain fermé
Viroses	50 à 100 ou section de cadre 12 cm x 12 cm	Cadres de couvain fermé et ouvert

Le prélèvement d'une section de cadre de couvain est à privilégier lorsque les individus à prélever ont une consistance qui ne permet pas leur prélèvement à l'aide de pinces (e.g. loques). **Le prélèvement d'une section de cadre de couvain est indispensable pour le diagnostic de la varroase.**

* Les techniques de biologie moléculaire mises en œuvre pour la recherche des agents infectieux ciblent les acides nucléiques (ADN et ARN). Au cours des processus de décomposition tissulaire par les microorganismes les acides nucléiques peuvent être dégradés, c'est pourquoi les cadavres des abeilles qui présentent des signes de décomposition avancée sont sans intérêt. Selon les conditions météorologiques, l'aspect des cadavres (couleur, consistance, odeur) peut renseigner sur le temps écoulé depuis la mort.

Tableau 2 : Relation entre l'âge et la masse des individus

Jours post-éclosion	Stade de développement	Masse (mg)	Nombre d'individus à prélever pour obtenir 10 g
0 à 1	L1-L2	0,2	50 000
1 à 2	L2-L3	1	10 000
2 à 3	L3-L4	6	1 667
3 à 4	L4-L5	25	400
4 à 5	L5	95	105
5 à 6	L5	140	71
6 à 8	pré-nymphe	135	74
8 à 20	nymphe	120	83

PRÉLÈVEMENT

◆ **Identifier le contenant de stockage** par un code spécifique à l'échantillon et reporter le sur la fiche commémorative de prélèvement.



Veillez à ne pas écrire le code sur le bouchon du contenant. Cette précaution limite les risques de confusion et permet d'identifier les échantillons même lorsque les contenants sont débouchés.



1 Larve prélevée à l'aide d'une pince entomologique.



2 Larves collectées dans un contenant de stockage.

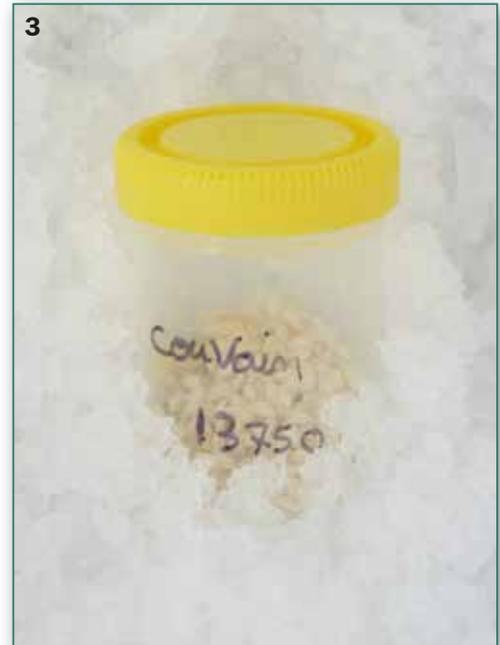
- **Prélever les larves ou les nymphes récemment mortes*** à l'aide d'une pince entomologique et les placer dans un contenant de stockage rigide et fermant (**photos 1 et 2**). De préférence, placer au maximum une dizaine d'individus dans le même contenant. **Dans certaines situations, le prélèvement d'une section de cadre de couvain est à privilégier (tableau 1).**

TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

- Transporter les échantillons dans une glacière à une température inférieure à 5°C jusqu'au lieu de stockage (**photo 3**).
- Stocker les échantillons au congélateur à une température inférieure à -18°C dès que possible.

TRANSFERT DES ÉCHANTILLONS VERS LE LABORATOIRE PRESTATAIRE D'ANALYSES

- **Contactez le laboratoire** prestataire avant de transférer les échantillons afin de s'assurer des conditions d'envoi et de réception (éviter les jours précédents les week-ends, les jours fériés, les congés). Dans tous les cas, il est indispensable que les échantillons soient maintenus congelés et à l'abri de l'écrasement pendant la durée de leur transfert. Chaque échantillon doit être accompagné d'une copie de sa fiche commémorative de prélèvement. Si des prélèvements sont conservés, les stocker au congélateur à une température inférieure à -18°C.



Prélèvement de larves conservé au froid pendant le transport.



PRÉLÈVEMENT DE COUVAIN VIVANT

DIAGNOSTIC PATHOLOGIQUE



Le couvain vivant peut être prélevé dans le cadre d'une suspicion de pathologies du couvain (couvain symptomatique) ou dans le cadre d'un état des lieux sanitaire (couvain asymptomatique). Réaliser de préférence 1 ou 2 prélèvements supplémentaires pour d'éventuelles contre-analyses.

MATÉRIEL



Gants
(latex ou nitrile)



Pince
entomologique



Couteau
ou scalpel



Fiches commémoratives
de prélèvement¹



Marqueurs
permanents



Contenants de stockage
propres, rigides et fermants



Glacière réfrigérée²



Congélateur

1. Penser à toujours renseigner les champs relatifs à la nature et au contexte du prélèvement dans la fiche commémorative de prélèvements.
2. Préférer la carboglace aux blocs ou aux gels réfrigérants.

PROCÉDURE

QUANTITÉ DE COUVAIN À PRÉLEVER

La quantité de couvain requise pour un diagnostic pathologique peut varier en fonction de l'agent infectieux ou du parasite recherchés et des méthodes d'analyses mises en œuvre par les laboratoires (**tableau 1**). Plusieurs d'entre eux (**cf. www.itsap.asso.fr**) sont cependant capables de réaliser une analyse à partir de 5 à 10 g de couvain (50 à 100 larves L5 ou nymphes). Un prélèvement d'une quantité supérieure est toutefois conseillé par la plupart des laboratoires afin qu'ils puissent répéter l'analyse si nécessaire.

TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

Tableau 1 : Nombre et localisation des individus à prélever en fonction de la pathologie recherchée.

Pathologies	Nombre d'individus à prélever	Origine du couvain
Ascophérose ou couvain plâtré	50 à 100 ou section de cadre 12 cm x 12 cm	Cadres de couvain fermé
Loque américaine	50 à 100 ou section de cadre 12 cm x 12 cm	Cadres de couvain fermé
Loque européenne	50 à 100 ou section de cadre 12 cm x 12 cm	Cadres de couvain fermé
Varroase	section de cadre 12 cm x 12 cm	Cadres de couvain fermé
Viroses	50 à 100 ou section de cadre 12 cm x 12 cm	Cadres de couvain fermé et ouvert

Le prélèvement d'une section de cadre de couvain est à privilégier lorsque les individus à prélever ont une consistance qui ne permet pas leur prélèvement à l'aide de pinces (e.g. loques). **Le prélèvement d'une section de cadre de couvain est indispensable pour le diagnostic de la varroase.**

PRÉLÈVEMENT

- ◆ **Identifier le contenant de stockage** par un code spécifique à l'échantillon et reporter le sur la fiche commémorative de prélèvement.



Veillez à ne pas écrire le code sur le bouchon du contenant. Cette précaution limite les risques de confusion et permet d'identifier les échantillons même lorsque les contenants sont débouchés.

LARVES OU NYMPHES SYMPTOMATIQUES

- ◆ **Prélever les larves ou les nymphes symptomatiques** à l'aide d'une pince entomologique et les placer dans un contenant de stockage rigide et fermant (**photos 1 et 2**). De préférence, placer au maximum une dizaine d'individus dans le même contenant. **Pour le diagnostic de certaines pathologies, le prélèvement d'une section de cadre de couvain est à privilégier (tableau 1).**

LARVES OU NYMPHES ASYMPTOMATIQUES

- ◆ **Prélever aléatoirement des larves ou des nymphes de tout âge** sur plusieurs cadres de couvain à l'aide d'une pince entomologique et les placer dans un contenant de stockage rigide et fermant (**photos 1 et 2**). De préférence, placer au maximum une dizaine d'individus dans le même contenant.

TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

- ◆ **Transporter les échantillons** dans une glacière à une température inférieure à 5°C jusqu'au lieu de stockage (**photo 3**).
- ◆ **Stocker les échantillons au congélateur à une température inférieure à -18°C** dès que possible.

TRANSFERT DES ÉCHANTILLONS VERS LE LABORATOIRE PRESTATAIRE D'ANALYSES

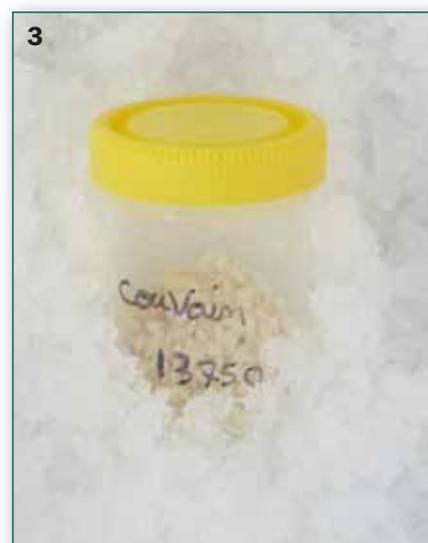
- ◆ **Contactez le laboratoire** prestataire avant de transférer les échantillons afin de s'assurer des conditions d'envoi et de réception (éviter les jours précédents les week-ends, les jours fériés, les congés). Dans tous les cas, il est indispensable que les échantillons soient maintenus congelés et à l'abri de l'écrasement pendant la durée de leur transfert. Chaque échantillon doit être accompagné d'une copie de sa fiche commémorative de prélèvement. Si des prélèvements sont conservés, les stocker au congélateur à une température inférieure à -18°C.



Larve prélevée à l'aide d'une pince entomologique.



Larves collectées dans un contenant de stockage.



Prélèvement de larves conservé au froid pendant le transport.