

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

MATÉRIEL DE PRÉLÈVEMENT



Gants
(latex ou nitrile)



Pince entomologique



Balance
0,1 g



Congélateur



Fiches commémoratives
de prélèvement¹



Marqueurs
permanents



Contenants de stockage
propres et fermants
préalablement tarés²



Glacière réfrigérée³

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

2. Un contenant taré est un contenant de masse connue (M_p), préalablement déterminée à l'aide d'une balance. Une fois rempli, il est alors possible de déterminer la masse de l'échantillon qu'il contient sans avoir à extraire l'échantillon du contenant.

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

PROCÉDURE

QUANTITÉ D'ABEILLES À PRÉLEVER

La quantité d'abeille requise pour la recherche de résidus peut varier en fonction des méthodes mises en œuvre par les laboratoires d'analyses. Plusieurs d'entre eux (**cf. www.itsap.asso.fr**) sont cependant capables de réaliser une analyse à partir de 10 g d'abeille. Un prélèvement d'une quantité supérieure est toutefois conseillé par la plupart des laboratoires afin qu'ils puissent répéter l'analyse si nécessaire.

PRÉLÈVEMENT

- Identifier le contenant de stockage par un code spécifique à l'échantillon et le reporter 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.

- Prélever à l'aide d'une pince entomologique (**photo 1**) ou à la main les abeilles récemment mortes* (moins de 48 heures) et les placer dans un contenant de stockage préalablement taré (**photo 2**).
- Comptabiliser les individus (N) qui composent l'échantillon et reporter ce nombre sur la fiche commémorative de prélèvement.
- Peser le prélèvement (M_p) à l'aide d'une balance et reporter la masse sur la fiche commémorative de prélèvement.



Abeille morte
prélevée à l'aide
d'une pince
entomologique.



Abeilles collectées
dans un contenant
de stockage.

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.



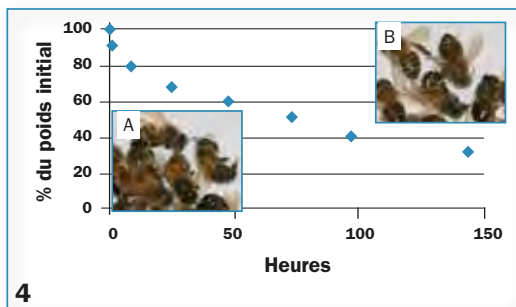
Prélèvement d'abeilles conservé au froid pendant le transport.

DÉTERMINATION DE LA MASSE MOYENNE DES INDIVIDUS PRÉLEVÉS**

- Calculer la masse de l'échantillon (M_e) en retranchant la masse du contenant de stockage et reporter la valeur obtenue sur la fiche commémorative de prélèvement.
- Calculer la masse moyenne des individus (M) composant l'échantillon en divisant la masse de l'échantillon par le nombre d'abeilles prélevées et reporter la valeur obtenue sur la fiche commémorative de prélèvement.

TRANSFERT DES ÉCHANTILLONS VERS LE LABORATOIRE PRESTATAIRE D'ANALYSE

- Contacter le laboratoire prestataire avant de transférer les échantillons afin de s'assurer des conditions d'envoi et de réception (éviter les jours précédant 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.



Cinétique de perte de poids et aspect des abeilles post mortem.

Les abeilles (325 individus) ont été sacrifiées puis placées dans une étuve ventilée pendant 6 jours.

(Température : 25 °C, Ventilation 15 km/h).

Abeille morte depuis 8 heures (A). Abeille morte depuis 144 heures (B).

CALCUL

COMMENT CALCULER LA MASSE MOYENNE DES INDIVIDUS PRÉLEVÉS ?

- Masse du contenant (M_c) : g
- Masse du prélèvement (M_p) : g
- Masse de l'échantillon (M_e) : g
- Nombre d'individus (N) : ...
- Masse moyenne des individus (M) : g

$$M_e = M_p - M_c$$

$$M = M_e / N$$

COMMENT CONVERTIR UNE CONCENTRATION EN DOSE ?

Utiliser la formule suivante :

$$\text{Dose} = \frac{\text{Concentration}}{\text{Masse moyenne}} \times 10\,000$$

La **concentration** s'exprime en **mg par kg** d'individu.
La **masse moyenne** des individus s'exprime en **mg**.
La **dose** est exprimée en **µg** par individu.

* Au cours des processus de décomposition tissulaire par les microorganismes, les molécules présentes dans les abeilles poursuivent leur dégradation. C'est pourquoi il est important d'analyser des individus prélevés peu de temps après leur mort afin de favoriser la détection des résidus de pesticides. Ainsi, les cadavres d'abeilles qui présentent des signes de décomposition avancée sont sans intérêt. Selon les conditions météorologiques, l'aspect (couleur, pilosité, taille de l'abdomen) et le poids des cadavres peuvent renseigner sur le temps écoulé depuis la mort des abeilles (photo 4).

** Les résultats des analyses toxicologiques sont exprimés en mg de substance par kg d'individu. Si l'on souhaite comparer ces résultats aux références toxicologiques (DL_{50} , LOEL, NOEL) exprimées en mg de substance par individu, il est indispensable de connaître la masse moyenne des abeilles prélevées pour faire la conversion.

Les abeilles vivantes peuvent être prélevées dans le cadre d'une suspicion d'intoxication (abeilles symptomatiques) ou dans le cadre d'un état des lieux toxicologique (abeilles asymptomatiques). Dans tous les cas réaliser, 1 ou 2 prélèvements supplémentaires pour d'éventuelles contre-analyses.

MATÉRIEL DE PRÉLÈVEMENT



Gants
(latex ou nitrile)



Pince entomologique



Balance



Fiches commémoratives
de prélèvement¹



Marqueurs
permanents



Congélateur



Contenants de stockage
propres et fermants
préalablement tarés²



Bouteille de CO₂
et détendeur



Contenants de transports
aérés et fermants



Contenants pourvus
de système anti-retour



Sacs à congélation
15 x 20 cm



Glacière réfrigérée³

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

2. Un contenant taré est un contenant de masse connue (M_c), préalablement déterminée à l'aide d'une balance. Une fois rempli, il est alors possible de déterminer la masse de l'échantillon qu'il contient sans avoir à extraire l'échantillon du contenant.

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

PROCÉDURE

QUANTITÉ D'ABEILLES À PRÉLEVER

La quantité d'abeilles requise pour la recherche de résidus peut varier en fonction des méthodes mises en œuvre par les laboratoires d'analyses. Plusieurs d'entre eux (cf. www.itsap.asso.fr) sont cependant capables de réaliser une analyse à partir de 10 g d'abeilles (environ 100 abeilles). Le prélèvement d'une quantité supérieure est toutefois conseillé par la plupart des laboratoires afin qu'ils puissent répéter l'analyse si nécessaire. Prélever un maximum de 100 g d'abeilles.

ABEILLES SYMPTOMATIQUES

- Prélever les abeilles symptomatiques à l'aide d'une pince entomologique ou directement à la main gantée et les placer dans un contenant équipé d'un système antiretour (photos 1 et 2).

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 équipé d'un système anti-retour (photos 2 et 3).
- Prélever des abeilles d'intérieur sur les cadres de couvain et les cadres de hausse en brossant les cadres au-dessus d'un contenant équipé d'un système anti-retour (photos 4 et 4bis).



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



Abeille introduite dans un contenant équipé d'un système antiretour.



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

CALCUL

COMMENT CONVERTIR UNE CONCENTRATION EN DOSE ?

Utiliser la formule suivante :

$$\text{Dose} = \frac{\text{Concentration}}{\text{Masse moyenne}} \times 10\,000$$

La **concentration** s'exprime en **mg par kg** d'individu.
La **masse moyenne** des individus s'exprime en **mg**.
La **dose** est exprimée en **µg** par individu.



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

EUTHANASIE DES ABEILLES

- Transvaser les abeilles dans un sac à congélation.
- Euthanasier les abeilles* par narcose prolongée, à l'aide de CO₂ détendu. Glisser le tuyau à l'intérieur du sac et libérer le gaz pendant 20 sec. à une pression de 1 bar puis maintenir le sac fermé environ 2 min. (photo 5).
- Identifier le contenant de stockage par un code spécifique à l'échantillon et le reporter 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.
- Transvaser les abeilles euthanasiées dans un contenant de stockage (photo 6).
- Peser le prélèvement à l'aide d'une balance et reporter la masse (M_p) sur la fiche commémorative de prélèvement**.



Abeilles euthanasiées par narcose prolongée.



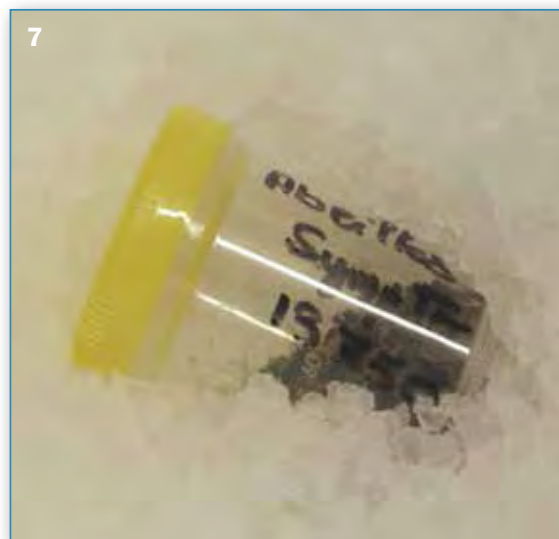
Abeilles euthanasiées et transférées dans un contenant de stockage.

TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

- Transporter les échantillons dans une glacière à une température inférieure à 5°C jusqu'au lieu de stockage (photo 7).
- Stocker les échantillons à une température inférieure à -18°C dès que possible.

DÉTERMINATION DE LA MASSE D'ABEILLES PRÉLEVÉES

- Calculer la masse de l'échantillon (M_e) en retranchant la masse du contenant de stockage (M_c) à la masse du prélèvement (M_p) et reporter la valeur obtenue sur la fiche commémorative de prélèvement ($M_e = M_p - M_c$).



Prélèvement d'abeilles conservé au froid pendant le transport.

TRANSFERT DES ÉCHANTILLONS VERS LE LABORATOIRE PRESTATAIRE D'ANALYSE

- Contacter le laboratoire prestataire avant de leur transférer les échantillons afin de s'assurer des conditions d'envoi et de réception (éviter les jours précédant 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.

* La métabolisation des substances toxiques par le système de détoxification des abeilles peut être très rapide et conduire à la dégradation de 50% d'une substance en moins de 6 heures. L'euthanasie des abeilles et leur congélation permettent d'inactiver le système de détoxification et favorisent la détection des substances auxquelles les abeilles ont été exposées.

** Les résultats des analyses toxicologiques sont exprimés en mg de substance par kg d'individu. Si l'on souhaite comparer les résultats aux références toxicologiques (DL_{50} , LOEL, NOEL) exprimées en mg de substance par individu, il est indispensable de connaître la masse moyenne des abeilles prélevées pour faire la conversion. Cette masse peut être définie sur une fraction de l'échantillon en pesant 50 abeilles à l'aide d'une balance (précision 0,1g) puis en divisant la valeur obtenue par 50. Par défaut, une masse moyenne de 100mg peut être utilisée.



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

MATÉRIEL DE PRÉLÈVEMENT



Gants
(latex ou nitrile)



Pince entomologique



Balance



Fiches commémoratives
de prélèvement¹



Marqueurs
permanents



Congélateur



Contenants de stockage
propres et fermants
préalablement tarés²



Glacière réfrigérée³

1. Penser à toujours renseigner les champs relatifs à la nature et au contexte du prélèvement dans la fiche commémorative de prélèvement.
2. Un contenant taré est un contenant de masse connue (M_c), préalablement déterminée à l'aide d'une balance. Une fois rempli, il est alors possible de déterminer la masse de l'échantillon qu'il contient sans avoir à extraire l'échantillon du contenant.
3. Préférer la carboglace aux blocs ou aux gels réfrigérants.

PROCÉDURE

QUANTITÉ DE COUVAIN À PRÉLEVER

La quantité de couvain requise pour la recherche de résidus peut varier en fonction des méthodes mises en œuvre par les laboratoires d'analyses. Plusieurs d'entre eux (**cf. www.itsap.asso.fr**) sont cependant capables de réaliser une analyse à partir de 10 g de couvain. Un prélèvement d'une quantité supérieure est toutefois conseillé par la plupart des laboratoires afin qu'ils puissent **répéter l'analyse si nécessaire**.

PRÉLÈVEMENT

- Identifier le contenant de stockage par un code spécifique à l'échantillon et le reporter 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.

- Prélever une centaine de larves (**L5**) ou de nymphes récemment mortes* à l'aide d'une pince entomologique (**photo 1**) et les placer dans un contenant de stockage préalablement taré (M_c) (**photo 2**). Si la mortalité concerne des jeunes larves (**stade L1 à L4**), prélever d'avantage d'individus en vous aidant du **tableau 1**.
- Comptabiliser les individus (N) qui composent l'échantillon et reporter ce nombre sur la fiche commémorative de prélèvement.
- Peser le prélèvement (M_p) à l'aide d'une balance et reporter la masse sur la fiche commémorative de prélèvement.



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



Larve morte introduite dans un contenant de stockage.

TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

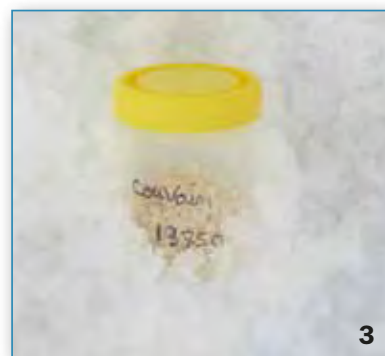
Tableau 1 : Relation entre l'âge et la masse des individus.

D'après Melampy R.M & Willis E.R ; Jul., 1939 ; Physiological Zoology, Vol.12, N° 3 (302-311) ; Les masses présentées dans le tableau ont été obtenues sur des individus vivants et sont données à titre indicatif.

Jours post-éclosion	Stade de développement	Masse (mg)	Nombre d'individus à prélever pour obtenir 10 g
0 à 1	L1-L2	0,2	50000
1 à 2	L2-L3	1	10000
2 à 3	L3-L4	6	1667
3 à 4	L4-L5	25	400
4 à 5	L5	95	105
5 à 6	L5	140	71
6 à 8	pré-nymphé	135	74
8 à 20	nymphé	120	83

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.



Prélèvement de larves conservé au froid pendant le transport.

DÉTERMINATION DE LA MASSE MOYENNE DES INDIVIDUS PRÉLEVÉS**

- Calculer la masse de l'échantillon (M_e) en retranchant la masse du contenant de stockage et reporter la valeur obtenue sur la fiche commémorative de prélèvement.
- Calculer la masse moyenne des individus (M) composant l'échantillon en divisant la masse de l'échantillon par le nombre de larves ou de nymphes prélevées et reporter la valeur obtenue sur la fiche commémorative de prélèvement.

TRANSFERT DES ÉCHANTILLONS VERS LE LABORATOIRE PRESTATAIRE D'ANALYSE

- Contacter le laboratoire prestataire avant de leur transférer les échantillons afin de s'assurer des conditions d'envoi et de réception (éviter les jours précédant 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.

CALCUL

COMMENT CALCULER LA MASSE MOYENNE DES INDIVIDUS PRÉLEVÉS ?

- Masse du contenant (M_c) : g
- Masse du prélèvement (M_p) : g
- Masse de l'échantillon (M_e) : g
- Nombre d'individus (N) : ...
- Masse moyenne des individus (M) : g

$$M_e = M_p - M_c$$

$$M = M_e / N$$

COMMENT CONVERTIR UNE CONCENTRATION EN DOSE ?

Utiliser la formule suivante :

$$\text{Dose} = \frac{\text{Concentration}}{\text{Masse moyenne}} \times 10\,000$$

La **concentration** s'exprime en **mg par kg** d'individu.
La **masse moyenne** des individus s'exprime en **mg**.
La **dose** est exprimée en **µg** par individu.

* Au cours des processus de décomposition tissulaire par les microorganismes, les molécules présentes dans les abeilles poursuivent leur dégradation. C'est pourquoi, il est important d'analyser des individus prélevés peu de temps après leur mort afin de favoriser la détection des résidus de pesticides. Ainsi, les cadavres d'abeilles qui présentent des signes de décomposition avancée sont sans intérêt.

** Les résultats des analyses toxicologiques sont exprimés en mg de substance par kg d'individu. Si l'on souhaite comparer ces résultats aux références toxicologiques (DL_{50} , LOEL, NOEL) exprimées en mg de substance par individu, il est indispensable de connaître la masse moyenne des larves ou des nymphes prélevées pour faire la conversion.

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

MATÉRIEL DE PRÉLÈVEMENT



Gants (latex ou nitrile)



Pince entomologique



Fiches commémoratives de prélèvement¹



Marqueurs permanents



Balance



Congélateur



Contenants de stockage propres et fermants préalablement tarés²



Glacière réfrigérée³

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

2. Un contenant taré est un contenant de masse connue (M_c), préalablement déterminée à l'aide d'une balance. Une fois rempli, il est alors possible de déterminer la masse de l'échantillon qu'il contient sans avoir à extraire l'échantillon du contenant.

3. Préférer la carbo glace aux blocs ou aux gels réfrigérants.

PROCÉDURE

QUANTITÉ DE COUVAIN À PRÉLEVER

La quantité de couvain requise pour la recherche de résidus peut varier en fonction des méthodes mises en œuvre par les laboratoires d'analyses. Plusieurs d'entre eux (**cf. www.itsap.asso.fr**) sont cependant capables de réaliser une analyse à partir de 10 g de couvain. Un prélèvement d'une quantité supérieure est toutefois conseillé par la plupart des laboratoires afin qu'ils puissent **répéter l'analyse si nécessaire**.

PRÉLÈVEMENT

- Identifier le contenant de stockage par un code spécifique à l'échantillon et le reporter 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 une centaine de larves (L5) ou de nymphes symptomatiques** à l'aide d'une pince entomologique (**photo 1**) et les placer dans un contenant de stockage préalablement taré (**photo 2**). Si le prélèvement inclut des jeunes larves (**stade L1 à L4**), prélever davantage d'individus en vous aidant du **tableau 1**.
- Comptabiliser les individus (N) qui composent l'échantillon et reporter ce nombre sur la fiche commémorative de prélèvement.
- Peser le prélèvement (M_p) à l'aide d'une balance et reporter la masse sur la fiche commémorative de prélèvement.



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



Larves collectées dans un contenant de stockage.

LARVES OU NYMPHES ASYMPTOMATIQUES

- ◆ **Prélever aléatoirement une centaine de larves ou les nymphes** sur plusieurs cadres de couvain à l'aide d'une pince entomologique et les placer dans un contenant de stockage rigide et fermant. Si le prélèvement inclut des jeunes larves (**stade L1 à L4**), prélever davantage d'individus en vous aidant du **tableau 1**.
- ◆ Comptabiliser les individus (N) qui composent l'échantillon et reporter ce nombre sur la fiche commémorative de prélèvement.
- ◆ Peser le prélèvement (M_p) à l'aide d'une balance et reporter la masse sur la fiche commémorative de prélèvement.

EUTHANASIE DU COUVAIN

- ◆ **Euthanasier le couvain*** par narcose prolongée, à l'aide de CO₂ détendu. Glisser le tuyau à l'intérieur du contenant et libérer le gaz pendant 20 sec. à une pression de 1 bar puis refermer le contenant (**photo 3**).

TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

Tableau 1 : Relation entre l'âge et la masse des individus.

D'après Melampy R.M & Willis E.R ; Jul., 1939 ; Physiological Zoology, Vol.12, N° 3 (302-311) ; Les masses présentées dans le tableau ont été obtenues sur des individus vivants et sont données à titre indicatif.

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



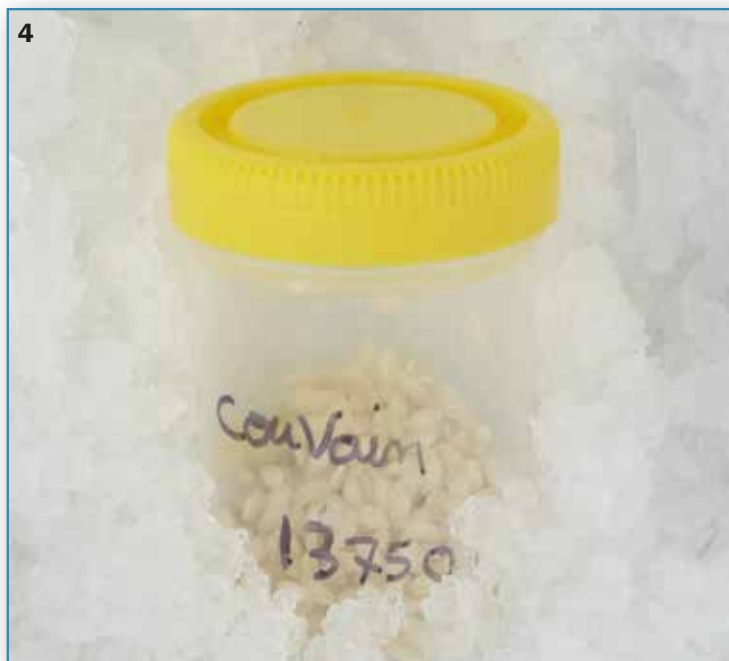
Larves euthanasiées par narcose prolongée.

TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

- ◆ **Transporter les échantillons** dans une glacière à une température inférieure à 5°C jusqu'au lieu de stockage (**photo 4**).
- ◆ **Stocker les échantillons au congélateur** à une température inférieure à -18°C dès que possible.

◆ DÉTERMINATION DE LA MASSE MOYENNE DES INDIVIDUS PRÉLEVÉS**

- ◆ Calculer la masse de l'échantillon (M_e) en retranchant la masse du contenant de stockage et reporter la valeur obtenue sur la fiche commémorative de prélèvement.
- ◆ Calculer la masse moyenne des individus (M) composant l'échantillon en divisant la masse de l'échantillon par le nombre de larves ou de nymphes prélevées et reporter la valeur obtenue sur la fiche commémorative de prélèvement.



Prélèvement de couvain
conservé au froid
pendant le transport.

CALCUL

COMMENT CONVERTIR UNE CONCENTRATION EN DOSE ?

Utiliser la formule
suivante :

$$\text{Dose} = \frac{\text{Concentration}}{\text{Masse moyenne}} \times 10\,000$$

La **concentration** s'exprime en **mg par kg** d'individu.
La **masse moyenne** des individus s'exprime en **mg**.
La **dose** est exprimée en **µg** par individu.

* La métabolisation des substances toxiques par le système de détoxification des abeilles peut être très rapide et conduire à la dégradation de 50 % d'une substance en moins de 6 heures. L'euthanasie des abeilles et leur congélation permet d'inactiver le système de détoxification et favorise la détection des substances auxquelles les abeilles ont été exposées.

** Les résultats des analyses toxicologiques sont exprimés en mg de substance par kg d'individu. Si l'on souhaite comparer ces résultats aux références toxicologiques (DL_{50} , LOEL, NOEL) exprimées en mg de substance par individu, il est indispensable de connaître la masse moyenne des abeilles prélevées pour faire la conversion.



Les prélèvements de miel (frais ou operculé) sont réalisés dans le cadre de suspicion d'intoxication des abeilles ou dans le cadre d'états des lieux toxicologiques.

Réaliser de préférence 1 ou 2 prélèvements supplémentaires par colonie diagnostiquée pour d'éventuelles contre-analyses.

MATÉRIEL DE PRÉLÈVEMENT



Gants
(latex ou nitrile)



Cuillères
en plastique



Balance



Fiches commémoratives
de prélèvement¹



Marqueurs
permanents



Contenants de stockage
préalablement tarés²



Réfrigérateur



Filtre formé par une
grille souple finement
maillée (5 cm x 5 cm)

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

2. Un contenant taré est un contenant de masse connue (M_c), préalablement déterminée à l'aide d'une balance. Une fois rempli, il est alors possible de déterminer la masse de l'échantillon qu'il contient sans avoir à extraire l'échantillon du contenant.

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

PROCÉDURE

QUANTITÉ DE MIEL À PRÉLEVER

La quantité de miel requise pour la recherche de résidus peut varier en fonction des méthodes mises en œuvre par les laboratoires. Plusieurs d'entre eux sont cependant capables de réaliser une analyse à partir de 10 g de miel (**cf. www.itsap.asso.fr**). Le prélèvement d'une quantité supérieure est toutefois conseillé par la plupart des laboratoires afin qu'ils puissent répéter l'analyse si nécessaire.

SÉLECTION DES SECTIONS DE CADRE À PRÉLEVER

Pratiquer un examen des cadres de corps.

- **POUR RÉALISER L'ÉTAT DES LIEUX D'UNE COLONIE** : prélever aléatoirement le miel sur différents cadres de réserves en privilégiant les zones dans lesquelles le miel n'est pas cristallisé.

- **POUR DIAGNOSTIQUER UNE COLONIE AVEC PRÉSENCE** :

- **de nourrices ou de butineuses symptomatiques** : prélever dans les rayons contenant du miel frais ;
- **de couvain symptomatique** : prélever de préférence le miel frais sur les cadres de couvain symptomatique.

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.

- Équiper le contenant de stockage avec un filtre découpé dans un morceau de moustiquaire.
- Brosser ou secouer les abeilles présentes sur les cadres.
- Prélever le miel à l'aide d'une cuillère en plastique (**photo 1**) et le filtrer avant de l'introduire dans le contenant de stockage (**photos 2 et 3**).
- Peser le prélèvement l'aide d'une balance et reporter la masse (M_p) sur la fiche commémorative de prélèvement.



Prélèvement de miel à l'aide d'une cuillère à usage unique.

DÉTERMINATION DE LA MASSE DE MIEL PRÉLEVÉ

- Calculer la masse de l'échantillon (M_e) en retranchant la masse du contenant de stockage (M_c) à la masse du prélèvement (M_p) et reporter la valeur obtenue sur la fiche commémorative de prélèvement ($M_e = M_p - M_c$).

TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

- Transporter les échantillons à température ambiante jusqu'au lieu de stockage
- Stocker les échantillons à une température comprise entre 4 et 6 °C.

TRANSFERT DES ÉCHANTILLONS VERS LE LABORATOIRE PRESTATAIRE D'ANALYSE

- Contacter le laboratoire prestataire avant de leur transférer les échantillons afin de s'assurer des conditions d'envoi et de réception (éviter les jours précédant les week-ends, les jours fériés, les congés). Les échantillons peuvent être envoyés à température ambiante et à l'abri de l'écrasement. Chaque échantillon doit être accompagné d'une copie de sa fiche commémorative de prélèvement. Si des prélèvements sont conservés, les stocker au réfrigérateur à une température comprise entre 4 et 6 °C.



2 et 3 : Filtration du miel avant son introduction dans le contenant de stockage.

La cire peut être prélevée dans le cadre d'une suspicion d'intoxication du couvain ou dans le cadre d'un état des lieux toxicologique.

Réaliser de préférence 1 ou 2 prélèvements supplémentaires pour d'éventuelles contre-analyses.

MATÉRIEL DE PRÉLÈVEMENT



Gants
(latex ou nitrile)



Pince brucelles



Balance



Couteau pourvu
d'une lame dentelée



Fiches commémoratives
de prélèvement¹



Marqueurs
permanents



Contenants de stockage
propres et fermants
préalablement tarés²



Eau chaude



Chiffon



Congélateur



Glacière réfrigérée³

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

2. Un contenant taré est un contenant de masse connue (M_c), préalablement déterminée à l'aide d'une balance. Une fois rempli, il est alors possible de déterminer la masse de l'échantillon qu'il contient sans avoir à extraire l'échantillon du contenant.

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

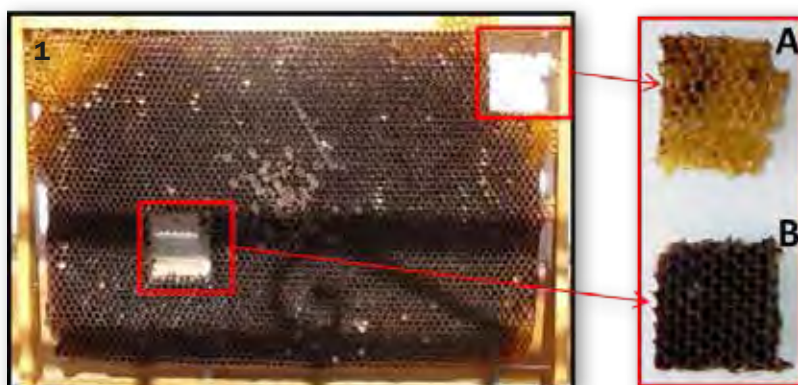
PROCÉDURE

QUANTITÉ DE CIRE À PRÉLEVER

La quantité de cire requise pour la recherche de résidus peut varier en fonction des méthodes mises en œuvre par les laboratoires. Plusieurs d'entre eux (**cf. www.itsap.asso.fr**) sont toutefois capables de réaliser une analyse à partir de 20 g de cire. Cette quantité peut être obtenue en découpant 4 sections de cadre d'environ 5 cm x 10 cm (ou 7 cm x 7 cm) chacune. Un prélèvement d'une quantité supérieure est toutefois conseillé par la plupart des laboratoires afin qu'ils puissent répéter l'analyse si nécessaire.

PRÉLÈVEMENT

- Pour un diagnostic d'intoxication, prélever la cire sur les cadres de couvain symptomatique. **Découper préférentiellement des sections de cadre dépourvues de miel et de pain d'abeille.**
- Pour un état des lieux toxicologique, prélever la cire alternativement en bordure et en périphérie d'un cadre de couvain et d'un cadre de rives (**photo 1**). **Découper préférentiellement des sections de cadre dépourvues de miel et de pain d'abeille.**
- Débarrasser régulièrement la lame du miel et des débris de cire à l'aide d'eau chaude et d'un chiffon.



Sections découpées en bordure (A) et en périphérie (B) de cadre.

- Extraire le couvain des cellules à l'aide de pinces brucelles.
- Laisser les sections de cadre contenant du miel et du pain d'abeille dans le nourrisseur de la colonie pendant 24 à 48h afin que les abeilles les nettoient.
- Identifier le contenant de stockage par un code spécifique à l'échantillon et le reporter 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.

- Peser le prélèvement l'aide d'une balance et reporter la masse (M_p) sur la fiche commémorative de prélèvement.

● DÉTERMINATION DE LA MASSE DE CIRE PRÉLEVÉE

- Calculer la masse de l'échantillon (M_e) en retranchant la masse du contenant de stockage (M_c) à la masse du prélèvement (M_p) et reporter la valeur obtenue sur la fiche commémorative de prélèvement ($M_e = M_p - M_c$).

● TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

- Transporter les échantillons à température ambiante jusqu'au lieu de stockage (**photo 2**).
- Stocker les échantillons à une température inférieure à -18°C dès que possible.

● TRANSFERT DES ÉCHANTILLONS VERS LE LABORATOIRE PRESTATAIRE D'ANALYSE

- Contacter le laboratoire prestataire avant de leur transférer les échantillons afin de s'assurer des conditions d'envoi et de réception (éviter les jours précédant 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 cire.

Le pollen (pelotes) peut être prélevé dans le cadre d'une suspicion d'intoxication ou dans le cadre d'un état des lieux toxicologique.

Réaliser de préférence 1 ou 2 prélèvements supplémentaires pour d'éventuelles contre-analyses.

MATÉRIEL DE PRÉLÈVEMENT



Gants (latex ou nitrile)



Trappe à pollen



Balance



Fiches commémoratives de prélèvement¹



Marqueurs permanents



Cuillères en plastique



Congélateur



Contenants de stockage propres et fermants préalablement tarés²

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

2. Un contenant taré est un contenant de masse connue (M_c), préalablement déterminée à l'aide d'une balance. Une fois rempli, il est alors possible de déterminer la masse de l'échantillon qu'il contient sans avoir à extraire l'échantillon du contenant.

PROCÉDURE

QUANTITÉ DE POLLEN À PRÉLEVER

La quantité de pollen requise pour la recherche de résidus peut varier en fonction des méthodes mises en œuvre par les laboratoires. Plusieurs d'entre eux (**cf. www.itsap.asso.fr**) sont cependant capables de réaliser une analyse à partir de 10 g de pollen. Un prélèvement d'une quantité supérieure est toutefois conseillé par la plupart des laboratoires afin qu'ils puissent **répéter l'analyse si nécessaire**.

TRAPPE À POLLEN

Les pelotes de pollen sont subtilisées aux butineuses à l'aide d'une trappe installée sur la colonie. Utiliser de préférence une trappe peu sélective et ajuster son rendement en fonction des rentrées de pollen.



Trappe à pollen activée.

- Pour réaliser l'état des lieux d'une colonie :

- Activer la trappe à pollen (**photo 1**).
- Collecter le pollen tous les 1 à 3 jours afin d'éviter son altération*.

- Pour diagnostiquer une colonie dans le cadre d'une suspicion d'intoxication :

- Équiper d'une trappe à pollen la colonie le plus rapidement possible après le constat d'intoxication** (**photo 1**).
- Collecter quotidiennement les pelotes de pollen jusqu'à ce que les symptômes d'intoxication disparaissent*.

* Il est conseillé de prélever les pelotes tous les 3 jours afin d'éviter l'altération du pollen. En fonction de l'objectif de l'analyse ou du budget disponible, les échantillons prélevés consécutivement dans une même colonie peuvent être analysés soit indépendamment, soit après avoir été mélangés. Préférer une analyse indépendante de chaque échantillon car elle offre une description (temporelle, qualitative et quantitative) précise de l'exposition de la colonie aux pesticides, mais elle a l'inconvénient d'être onéreuse car tous les prélèvements sont analysés (cf. page 3).

L'analyse d'échantillons issus de mélange n'est pas à exclure, mais elle offre une description plus grossière de l'exposition de la colonie aux pesticides. En revanche, elle a l'avantage d'être moins onéreuse car tous les prélèvements ne sont pas analysés.

** Cette opération doit être effectuée seulement si des symptômes d'intoxication sont constatés sur des abeilles encore vivantes ou moribondes le jour de l'observation.

PRÉLÈVEMENT

- Identifier le contenant de stockage par un code spécifique à l'échantillon et le reporter 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.

- Sortir le tiroir de la trappe (**photo 2**) et mélanger les pelotes de pollen à l'aide d'une cuillère en plastique.
- Prélever les pelotes de pollen* et les placer dans un contenant de stockage.
- Replacer le tiroir après l'avoir vidé du pollen restant.
- Peser le prélèvement l'aide d'une balance et reporter la masse (M_p) sur la fiche commémorative de prélèvement.



Tiroir de trappe à pollen.

TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

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



Prélèvement de pelotes de pollen.

DÉTERMINATION DE LA MASSE DE POLLEN PRÉLEVÉ

- Calculer la masse de l'échantillon (M_e) en retranchant la masse du contenant de stockage (M_c) à la masse du prélèvement (M_p) et reporter la valeur obtenue sur la fiche commémorative de prélèvement ($M_e = M_p - M_c$).

* Il est conseillé de prélever les pelotes tous les 3 jours afin d'éviter l'altération du pollen. En fonction de l'objectif de l'analyse ou du budget disponible, les échantillons prélevés consécutivement dans une même colonie peuvent être analysés soit indépendamment, soit après avoir été mélangés.

Préférer une analyse indépendante de chaque échantillon car elle offre une description (temporelle, qualitative et quantitative) précise de l'exposition de la colonie aux pesticides, mais elle a l'inconvénient d'être onéreuse car tous les prélèvements sont analysés.

L'analyse d'échantillons issus de mélange n'est pas à exclure, mais elle offre une description plus grossière de l'exposition de la colonie aux pesticides. En revanche, elle a l'avantage d'être moins onéreuse car tous les prélèvements ne sont pas analysés.

TRANSFERT DES ÉCHANTILLONS VERS LE LABORATOIRE PRESTATAIRE D'ANALYSE

- Contacter le laboratoire prestataire avant de leur transférer les échantillons afin de s'assurer des conditions d'envoi et de réception (éviter les jours précédant les week-ends, les jours fériés, les congés). Les échantillons sont envoyés à température ambiante et à l'abri de l'écrasement. 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.

L'analyse d'échantillons issus de mélange n'est pas à exclure, mais elle offre une description plus grossière de l'exposition de la colonie aux pesticides. En revanche, elle a l'avantage d'être moins onéreuse car tous les prélèvements ne sont pas analysés.

Si deux ou plusieurs prélèvements sont mélangés, il est important **de prendre certaines précautions avant de procéder au mélange** :

- Pour obtenir des résultats d'analyses **qualitativement représentatifs** de l'exposition aux pesticides, mélanger une masse équivalente de pollen collecté à chaque prélèvement ;
- Pour obtenir des résultats d'analyses **quantitativement représentatifs** de l'exposition aux pesticides, mélanger les échantillons en prenant en compte la masse de pollen présent dans la trappe à chaque prélèvement pour déterminer les proportions du mélange.

CALCUL

LE CALCUL À EFFECTUER EST LE SUIVANT :

- Déterminer la masse totale de pollen contenu dans la trappe avant de prélever l'échantillon ;
- Calculer le pourcentage que représente la masse de chaque prélèvement par rapport à la masse totale de pollen collecté sur l'ensemble des prélèvements ;
- Calculer les masses de pollen à mélanger.

LE CALCUL EST ILLUSTRÉ CI-DESSOUS :

Tableau illustrant la relation entre la masse de pollen contenu dans les trappes, la proportion de chaque prélèvement et la masse de pollen à mélanger.

Prélèvements	Masse de pollen dans la trappe (g)	Proportion de chaque prélèvement (%)	Masse de pollen à mélanger (g)
Prélèvement 1 1-3 mai	100	57 (100x100/175)	5,7 (10x57/100)
Prélèvement 2 4-6 mai	50	29 (50x100/175)	2,9 (10x29/100)
Prélèvement 3 7-9 mai	25	14 (25x100/175)	1,4 (10x14/100)
TOTAL	175	100	10



Le pain d'abeille peut être prélevé dans le cadre de suspicions d'intoxications ou dans le cadre d'états des lieux toxicologiques.

Réaliser de préférence 1 ou 2 prélèvements supplémentaires par colonie diagnostiquée pour d'éventuelles contre-analyses.

MATÉRIEL DE PRÉLÈVEMENT



Gants
(latex ou nitrile)



Couteau



Cutter



Eau chaude



Chiffon



Congélateur



Fiches commémoratives
de prélèvement¹



Marqueurs
permanents



Contenants de stockage
propres et fermants
préalablement tarés²

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

2. Un contenant taré est un contenant de masse connue (M_c), préalablement déterminée à l'aide d'une balance. Une fois rempli, il est alors possible de déterminer la masse de l'échantillon qu'il contient sans avoir à extraire l'échantillon du contenant.

PROCÉDURE

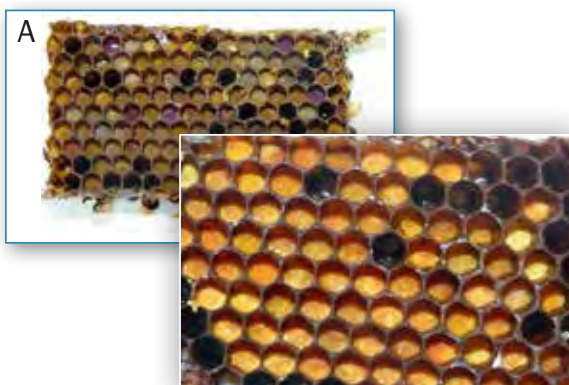
QUANTITÉ DE PAIN D'ABEILLE À PRÉLEVER

La quantité de pain d'abeille requise pour la recherche de résidus peut varier en fonction des méthodes mises en œuvre par les laboratoires. Plusieurs d'entre eux (**cf. www.itsap.asso.fr**) sont cependant capables de réaliser une analyse à partir de 10 g de pain d'abeille. Le prélèvement d'une quantité supérieure est toutefois conseillé par la plupart des laboratoires afin qu'ils puissent **répéter l'analyse si nécessaire**.

SÉLECTION DES SECTIONS DE CADRE À PRÉLEVER

- Pratiquer un examen des cadres de corps.
 - Sélectionner des sections de cadre à prélever, en préférant les zones dans lesquelles les cellules de pain d'abeille sont contiguës (**prélèvements A et B**). Les surfaces des sections à prélever peuvent être estimées à l'aide du **tableau 1**.
- **POUR RÉALISER L'ÉTAT DES LIEUX D'UNE COLONIE** : prélever aléatoirement des sections de cadre sur l'ensemble des zones de stockage de pain d'abeille.
- **POUR DIAGNOSTIQUER UNE COLONIE AVEC PRÉSENCE** :
- **de nourrices ou de butineuses symptomatiques** : sélectionner les rayons de pain d'abeille les plus frais.
 - **de couvain symptomatique** : sélectionner de préférence les rayons de pain d'abeille sur les cadres de couvain symptomatique.

Prélèvements de haute qualité (A)



Prélèvements de basse qualité (B)



TAILLE DE L'ÉCHANTILLON

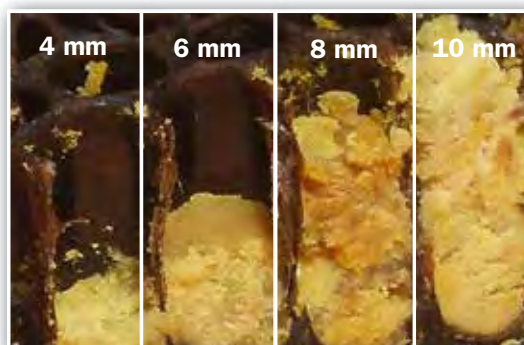


Tableau 1 : Relation entre le nombre de cellules et la surface de cadre à prélever.

Cellules*	Surface	Côtés (cm)	Pain d'abeille	Cellules à prélever			
				0,12 g	0,18 g	0,24 g	0,3 g
25	7 cm ²	2,6 x 2,6					
50	14 cm ²	3,7 x 3,7	1 g	> 8	> 6	> 4	> 3
75	20 cm ²	4,5 x 4,5	5 g	> 45	> 30	> 20	> 15
95	25 cm ²	5 x 5	15 g	> 125	> 85	> 65	> 50
115	30 cm ²	5,5 x 5,5	25 g	> 210	> 150	> 105	> 85
150	40 cm ²	6,3 x 6,3					

* Valeurs données pour une face de cadre.

- Estimer la surface de cadre à découper en fonction du nombre de cellules à prélever.
- Estimer le nombre de cellules à prélever en fonction de la quantité de pain d'abeille à collecter et du niveau de remplissage des cellules.

PRÉLÈVEMENT

- Identifier le contenant de stockage par un code spécifique à l'échantillon et le reporter 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.

- Brosser ou secouer les abeilles présentes sur les cadres.
- Prélever les sections de cadre en réalisant une découpe qui passe par le centre des cellules contenant du pain d'abeille et évite celles qui contiennent de miel (**ultérieurement, l'extraction du pain d'abeille sera facilitée par l'absence de miel et le non-écrasement des rayons**). Placer les sections de cadre dans le contenant de stockage en les disposant de façon à minimiser l'écoulement des rayons qui pourraient contenir du miel.

TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

- Transporter les échantillons à température ambiante jusqu'au lieu de stockage.
- Stocker les pains d'abeilles entre 4 et 6 °C si l'extraction et l'envoi sont réalisés dans les 48 heures qui suivent le prélèvement. Au-delà, stocker les échantillons à une température inférieure à -18 °C dès que possible.

Préparer une zone de travail bien éclairée, pourvue d'une balance de précision, des instruments d'extraction, d'un récipient d'eau tiède et d'une planche à découper recouverte d'un papier aluminium.

Se munir d'une paire de gants. Laisser décongeler les prélèvements à température ambiante si nécessaire.

MATÉRIEL D'EXTRACTION



Gants
(latex ou nitrile)



Couteau



Cutter
ou scalpel



Pince brucelles



Chiffon



Fiches commémoratives
de prélèvement¹



Contenants de stockage
propres et fermants
préalablement tarés²



Papier aluminium



Spatule fine



Récipient d'eau tiède
(35-40°C)



Seringue
5 ou 10 ml



Planche
à découper



Congélateur



Balance

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

2. Un contenant taré est un contenant de masse connue (M_c), préalablement déterminée à l'aide d'une balance. Une fois rempli, il est alors possible de déterminer la masse de l'échantillon qu'il contient sans avoir à extraire l'échantillon du contenant.

PROCÉDURE

PRÉPARATION À L'EXTRACTION

- Éliminer le miel des cellules pour limiter la contamination du pain d'abeille et faciliter son extraction.
- Éliminer les cellules de miel situées en périphérie du prélèvement à l'aide d'un cutter. Durant cette opération, il est préférable d'effectuer les découpes dans les cellules de pain d'abeille adjacentes aux cellules de miel afin d'éviter l'écoulement du liquide sur le reste du prélèvement.
- Éliminer le nectar frais des cellules intercalées entre les cellules de pain d'abeille à l'aide d'une seringue. Pour ce faire, insérer l'embout de la seringue dans la cellule à évacuer, aspirer le nectar et rincer la seringue dans un récipient d'eau tiède.

EXTRACTION

- Identifier un nouveau contenant de stockage par le 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.



1



2

- Fendre les sections de cadre à l'aide d'un cutter afin de dégager les rayons du plan central formé par le vestige de cire gaufrée. L'opération est ensuite répétée sur l'autre face des sections (**photos 1 et 2**).

- Ouvrir les cellules contenant les pains d'abeille en réalisant une découpe passant par le centre des rayons (**photos 3 et 4**).
- Extraire les pains d'abeille maintenant accessibles au moyen d'une spatule ou d'un instrument fin et rigide (**photo 5**).
- Séparer les débris de cire et de cocon du pain d'abeille à l'aide de pinces brucelles.
- Transvaser les pains d'abeille dans le contant de stockage (**photo 6**).
- Peser le prélèvement à l'aide d'une balance et reporter la masse (M_p) sur la fiche commémorative de prélèvement.

STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

- Stocker les échantillons à une température inférieure à -18°C dès que possible.

TRANSFERT DES ÉCHANTILLONS VERS LE LABORATOIRE PRESTATAIRE D'ANALYSE

- Contacter le laboratoire prestataire avant de leur transférer les échantillons afin de s'assurer des conditions d'envoi et de réception (éviter les jours précédant les week-ends, les jours fériés, les congés). Les échantillons peuvent être envoyés à température ambiante et à l'abri de l'écrasement. 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 .

