

G.D.S.A. 21



Au laboratoire !

Quels
prélèvements ?



L'hiver vient !

Vie du GDSA



Les prélèvements en apiculture

La médecine apicole s'exerce de façon similaire à toute autre médecine : si l'examen clinique reste toujours le support primordial de la réflexion, dans un bon nombre de cas les examens complémentaires de laboratoire sont utiles pour confirmer ou exclure un diagnostic.

La particularité de notre domaine demeure son sujet d'attention : l'organisme (le super-organisme !) auquel on s'intéresse est bel et bien la colonie dans son ensemble, et non pas l'abeille en tant qu'individu.

Les examens de laboratoire s'effectuent sur un échantillon qui recèle (ou pas) des indices sur l'état de santé de l'individu entier. Aussi, il faut connaître à l'avance précisément ce que l'on cherche afin de prélever le bon échantillon en maximisant les chances de trouver ces indices.

La plupart du temps, les prélèvements en apicultures seront réalisés par un vétérinaire, ou éventuellement un T.S.A. formé à cet acte : il faut savoir ce que l'on cherche, pourquoi on le cherche, où on doit le chercher, comment on le cherche (quelle méthode d'analyse), comment prélever, comment conserver, à quel laboratoire envoyer ... et les techniques évoluent !

Parfois, l'apiculteur lui même peut être amené à réaliser certains prélèvements : par exemple, pour réaliser un comptage de varroas phorétiques. Enfin, quelle que soit la raison qui nécessite un prélèvement, il est toujours utile et intéressant de comprendre ce qui se passe.

Prélèvement d'abeilles mortes :

Ce n'est pas forcément le plus intéressant : le problème peut être ancien, et les matrices biologiques se dégradent rapidement après la mort.

_ Il doit avoir lieu le plus tôt possible après la mort des insectes.

_ Pour les recherches virales ou parasitaires (nosérose, acarapidoze ...), quelques dizaines d'abeilles peuvent suffire (10 à 50 abeilles). Les virus seront détectés par P.C.R.¹, les parasites par dissection et observation, et/ou P.C.R.. Le prélèvement sera conservé au frais et transmis au plus tôt.

_ Pour les recherches toxicologiques, un minimum de 500 abeilles (un petit bol). Le prélèvement devra être **congelé**.

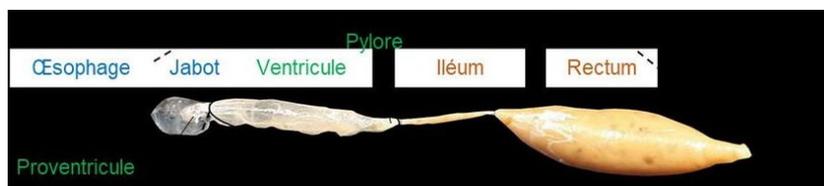
Exemples : recherche d'infestation parasitaire après dissection

1°) La dissection fine des trachées peut permettre d'observer l'acarien des trachées *Acarapis woodi*



Crédit : Lilia De Guzman, bugwood.org

2°) Le ventricule est le siège de multiplication de *Nosema apis* et *ceranae* (nouvellement *Vairimorpha* sp.)



Crédit : Camille Harrault-Houdelet, thèse de doctorat es sciences 2020

¹ P.C.R. : Polymerase Chain Reaction = technique de détection des molécules d'A.D.N. spécifiques, même en très petite quantité, grâce à une méthode d'amplification.

Beaucoup de molécules (parmi les toxiques) sont très vite dégradées au sein de l'abeille morte et ne seront plus retrouvées dans les analyses au-delà de 2 ou 3 jours. Aussi, si une procédure est en cours (déclaration de mortalité massive par exemple) ou si vous avez fait appel à un expert, il convient de ne rien modifier et de **laisser l'agent mandaté faire le prélèvement** (à cette seule condition, il pourra en certifier l'origine). Mais, si, exceptionnellement, l'agent en question ne peut se déplacer avant 48H, il peut être recommandé de prélever une partie des abeilles mortes et de les conserver au congélateur en attendant sa venue.

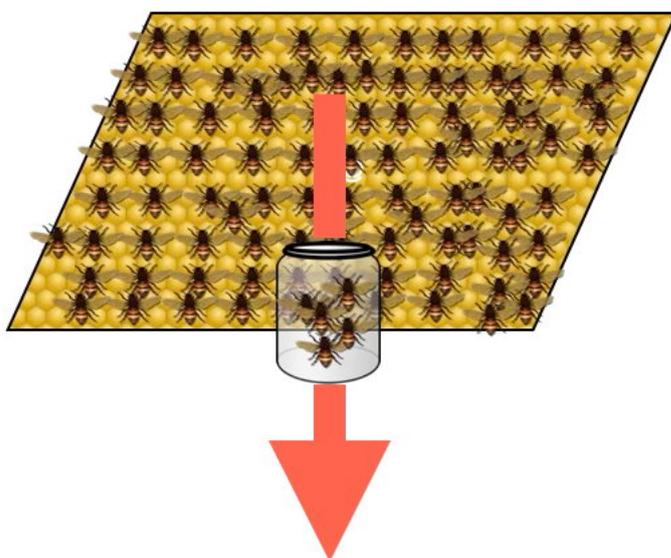
Prélèvement d'abeilles vivantes :

C'est un peu la « prise de sang » de la ruche : on peut être amené à sacrifier quelques abeilles dans un objectif de bilan de santé ou de diagnostic.

On peut recueillir :

- _ des abeilles saines en secouant un cadre (sans la reine !) au-dessus d'un toit à l'envers, puis en versant les abeilles dans un récipient
- _ des abeilles saines en faisant glisser le récipient de recueil de haut en bas en frottant délicatement le dos des abeilles sur un cadre rempli (les abeilles vont tomber dedans : voir fig. 3)
- _ des abeilles malades symptomatiques en les attrapant une à une à la pince par exemple.

Fig. 3^a) : Prélèvement d'abeilles vivantes sur cadre



Pour un comptage de varroas, il convient de recueillir entre 200 et 300 abeilles (l'idéale reste de peser le paquet d'abeilles pour en évaluer le nombre). Le prélèvement peut aussi être réfrigéré pour un comptage différé (par rinçage au détergent sur l'ensemble des prélèvements de la tournée une fois rentré).

Pour une recherche d'agent pathogène par examen direct ou P.C.R., de 10 à 30-50 abeilles environ sont généralement suffisantes. Les prélèvements sont soit réfrigérés et envoyés au plus tôt, soit congelés si l'envoi doit être retardé.

Pour les analyses toxicologiques, il faut toujours quelques centaines d'abeilles (+/_ 500) et le prélèvement devra être congelé au plus tôt (puis acheminé par transport spécial réfrigéré).

Enfin, gageons que dans un avenir plus ou moins proche, d'autres analyses seront proposées qui permettront d'évaluer la santé de la colonie (analyse du protéome², taux de réserves, vittellogénine, ou autres marqueurs ??...).

Prélèvement de couvain :

Il est particulièrement indiqué lorsqu'on recherche ... une maladie du couvain !

Généralement, il est conseillé de découper un carré d'environ 10 cm de côté (ou équivalent) d'une partie symptomatique de couvain malade (couvain mosaïque, par exemple). Le laboratoire identifiera les cellules malades et effectuera les recherches demandées (cultures bactériennes et identification, P.C.R. ...).

Un prélèvement de couvain est aussi indiqué pour évaluer le taux de contamination par varroa (comptage direct des cellules contaminées).

Il est aussi possible de prélever individuellement dans des tubes à essais des larves qui apparaissent malades.

Enfin, un écouvillon d'alvéoles placé ensuite dans un milieu d'ensemencement peut aussi servir à une recherche bactériologique.

Si l'envoi peut être fait rapidement, il peut être conservé à température ambiante, sinon, mieux vaut le réfrigérer ou, éventuellement, le congeler (il convient d'éviter de poster des prélèvements les veilles de WE).

Les prélèvements de cadres seront emballés dans une première couche absorbante (écoulements fréquents : miel, nectar, ...). Les sachets hermétiques sont à utiliser avec précaution (envoi rapide après emballage) car les fermentations ou moisissures peuvent rendre complètement inexploitable les échantillons.

Prélèvement de pain d'abeille :

Comme pour le couvain, on choisira de préférence souvent d'envoyer un morceau de cadre (10cm X 10cm ou équivalent) comportant, bien sûr, le pain d'abeille.

Il pourra servir à une analyse pollinique (afin de déterminer la richesse nutritionnelle potentielle de l'environnement).

Il pourra aussi être exploité en recherche toxicologique en l'absence de possibilité de recueil d'abeilles. Le pain d'abeille frais peut refléter la contamination de l'environnement d'un passé relativement proche (de l'ordre de quelques semaines). Les chances de retrouver des molécules toxiques sont

² = ensemble des protéines synthétisées par l'organisme à un moment donné, qui peut être caractéristique d'un état physiologique ou pathologique

néanmoins restreintes et atténuées avec l'éloignement du moment de contamination (dégradation enzymatique des produits).

Enfin, on pourrait aussi rechercher des défauts de conservation, contaminations bactériennes ou fongiques, mycotoxines, etc

Prélèvement de pollen :

La récupération de pollen implique l'existence d'un dispositif de collecte.

S'il est présent, l'analyse pollen frais se substituera avantageusement au pain d'abeille pour les recherches palynologiques et toxicologiques.

S'il est absent, on peut programmer d'en installer en vue d'une étude prospective avec les mêmes objectifs : étude de la richesse de l'environnement du rayon de butinage, recherche d'une potentielle source de contamination toxique.

Prélèvement de cire :

Là encore, la découpe d'un fragment de cadre fera parfaitement l'affaire (cette fois, sans couvain ni réserves de préférence).

On peut aussi envoyer une feuille de cire neuve, si c'est elle dont on souhaite connaître la qualité.

Il peut être intéressant aussi de faire analyser sa propre production de cire en récupérant de la cire d'alvéolées au moment de l'extraction du miel.

On recherchera essentiellement des traces d'adultérations ou de contamination par des pesticides. La cire, corps gras complexe, stocke et conserve longtemps de nombreuses molécules : elle peut être témoin sur le long terme de la contamination environnementale, mais ne peut renseigner sur une intoxication récente.

VARROAS RÉSISTANTS

L'étude de la résistance des varroas aux traitements se fait aujourd'hui sur des varroas vivants : les varroas sont collectés dans les alvéoles de couvain puis mis en contact avec des concentrations seuils de molécule. Le taux de mortalité est observé au bout de 24 H et comparé à un taux de mortalité de varroas témoins. Les varroas sont classés en « sensibles », « modérément résistants » ou « résistant » selon la concentration d'acaricide à laquelle ils peuvent survivre. La réalisation du test est très délicate et dépend beaucoup de la qualité des échantillons envoyés.

Dans un avenir plus ou moins proche, on pourrait espérer une possibilité d'identification moléculaire : recherche sur quelques individus des protéines ou des gènes responsables de la résistance (ce qui simplifierait beaucoup les protocoles d'analyse). Les principaux mécanismes de résistances aux pyréthriinoïdes sont aujourd'hui connus, mais en ce qui concerne l' amitraz, il pourrait bien y avoir plusieurs mécanismes différents en cause...

Enfin, on pourra encore prélever et faire analyser :

_ du **miel** : analyse qualitative pour obtenir une appellation, recherche de toxiques, de spores de loques ...

_ des **insectes** ou des **larves** capturés dans la ruche : lors de suspicion de contamination par *Aethina thumida* (**NE JAMAIS ENVOYER D'INSECTE VIVANT !**)

L'individu prélevé sera placé dans de l'alcool. Toujours prévenir la DDPP lors de suspicion.

_ des **photos** : lorsque la capture de l'insecte (*Aethina* ...) n'est pas possible (identification par l'ANSES, .. et toujours prévenir la DDPP)

_ des **varroas** : pour recherche de résistance aux traitements (envoyer un cadre entier avec du couvain fortement contaminé)

_ des **reines** ou des **cellules royales** : pour rechercher certains virus, effectuer des analyses génétiques

A propos de prélèvements ...

Nous vous rappelons que le système O.M.A.A. est désormais actif en Bourgogne_Franche-Comté au numéro unique : **03 62 02 28 20**

O.M.A.A. est avant tout un **Observatoire** dont l'objectif est de recenser et d'analyser les problèmes de santé des **Abeilles**, notamment les **Mortalités** mais aussi les **Affaiblissements** de colonies.

Ce recensement repose presque uniquement sur les déclarations des apiculteurs : sans déclaration, les problèmes n'existent pas ...

Aussi, nous vous invitons fortement à signaler (à ce numéro) tout soucis de santé, comportement anormal, déclin de colonie, pertes, etc ...que vous constatez dans vos ruchers (même si vous en connaissez la cause !).

En contre partie, si cela s'avère utile, une visite de rucher (par un vétérinaire formé en apiculture) vous sera proposée (sans frais pour l'apiculteur) afin d'essayer de comprendre l'origine du problème. Sous certaines conditions, les analyses de laboratoires nécessaires pourront elles aussi être entièrement prises en charge par le dispositif.

La préparation à l'hivernage

Avec la disparition des ressources alimentaires et l'arrivée du froid, les abeilles changent de comportement et de physiologie : il n'y aura plus de butineuses, mais des abeilles d'hiver à la longévité accrue, normalement suffisante pour surmonter la saison froide et permettre un redémarrage dès les premières floraisons l'année suivante.

Encore faut-il que l'apiculteur ait bien veillé à permettre que le processus se déroule bien.

Il faudra :

- suffisamment d'abeilles pour maintenir la chaleur durant l'hiver
- des abeilles fortes, avec une espérance de vie en conséquence
- des réserves énergétiques pour produire cette chaleur

En premier lieu : une abeille sera en bonne santé si elle peut se développer sans varroa. Pour naître vigoureuse fin octobre, il faudrait que, lorsqu'elle a été pondue début octobre, il n'y ait déjà plus de varroa dans la ruche (pour un traitement long à base de lanières, cela implique qu'il a été mis en place 10 semaines avant).

Mais ce n'est pas tout : une abeille d'hiver ne sera forte et avec suffisamment de réserves que si elle a été bien nourrie. Or, on sait que le varroa impacte fortement le développement des glandes hypopharyngiennes : la survie hivernale dépend aussi de la bonne santé des nourrices des abeilles d'hiver. Il faut donc que les nourrices de début octobre aient pu elles-mêmes se développer sans varroa ! Ce qui recule la nécessité d'un traitement efficace d'encore 3 semaines ! Idéalement, la première quinzaine de septembre, il ne devrait déjà plus y avoir un nombre de varroa préjudiciable dans la ruche.

En second lieu, il faut veiller à ce que la population soit suffisante. Les petites colonies peuvent éventuellement être réunies, au risque sinon qu'aucune ne survive.

Si un arrêt de ponte a eu lieu, un nourrissage de stimulation peut aider au redémarrage en septembre. Quoiqu'il en soit, il convient de s'assurer de la disponibilité de sources alimentaires, aussi bien glucidique (nectar) que protéique (pollen) et de pallier tout manque. Si, au contraire, la ruche est pleine de nourriture au point de manquer d'espace de ponte, le retrait d'un cadre, remplacé par un cadre vide construit, permettra à la reine de continuer son travail nécessaire avant la pause hivernal.

Les réserves doivent être suffisantes et accessibles.

Suffisantes : à évaluer selon la taille de la colonie, on considère qu'il faut une quinzaine de kilo de miel en réserve (de 7 à 20 Kg) pour une colonie moyenne. Si le stock est faible, le nourrissage sera nécessaire. Il faut se méfier de l'intensité du froid qui pourra modifier la quantité de réserve consommée.

Accessibles : un miel de réserve trop loin de la grappe ne sera pas recherché et donc consommé, ni s'il est trop dur (certains miels de miellats). On peut griffer les cadres de rive et les placer au-delà d'une partition afin que les abeilles ramène les réserves au plus près de leur future utilisation.

Du pollen est nécessaire à l'élevage des abeilles d'hivernage. Un reste de pain d'abeille sera le bien venu pour démarrer la saison suivante.

De l'eau (dans l'environnement) sera indispensable pour ramollir et consommer le miel cristallisé.

Enfin, il est souvent bon de limiter le travail nécessaire aux abeilles : restreindre le volume à chauffer, diminuer les pertes (isolation, restriction des entrées, plateaux amovibles ...). Resserrer une colonie en fin de saison en installant une ou des partitions reste un bon moyen de diminuer le volume tout en rapprochant les réserves de la grappe, et permet de préparer le renouvellement des cadres l'année suivante.

Si on a le choix de l'emplacement, on déplacera les ruches vers le mieux abrité. Il faut veiller à ce qu'il n'y ait pas trop d'humidité non plus.

Que fait le GDSA !

_ Le GDSA21 facilite l'accès aux médicaments de prophylaxie anti-varroa à ses adhérents à des tarifs avantageux. C'est sa première raison d'être.

Le P.S.E., rédigé et mis à jour tous les 5 ans au minimum pour validation par les autorités (DDPP, inspection de la pharmacie) en détaille les bonnes conditions d'emploi.

_ Le GDSA21 participe à la diffusion des bonnes pratiques sanitaires, par des articles publiés sur son site et par des exposés régulièrement proposés, notamment lors des assemblées générales

_ Le GDSA21 aide ses adhérents à faire face aux problèmes sanitaires qu'il peuvent rencontrer. Ses TSA et son vétérinaire sont disponibles pour répondre à vos questionnements et apporter des conseils sur le sanitaire en apiculture.

_ Le GDSA21 informe ses adhérents sur l'actualité sanitaire et diffuse les alertes en ce qui concerne la santé des abeilles.

_ Le GDSA21 propose des conférences, des formations, et relai celles organisées par la FNOSAD ou l'ADABFC.

_ Le GDSA21 est à l'origine du recensement des nids de frelons à patte jaune en Côte d'Or et de la mise en place d'une aide financière à leur destruction. Il reste un interlocuteur de la FREDON BFC qui doit reprendre le travail engagé et poursuivre la surveillance.

_ Le GDSA21 contribue à l'existence de l'O.V.S. (Organisme à Vocation Sanitaire) au sein du GDS multi-espèces en charge de la gestion des problèmes sanitaires des élevages.

...

Le GDSA21 reste une association, qui ne vit que par et pour ses membres. Si vous vous sentez concerné ou si vous êtes intéressé par le sanitaire apicole :

_ incitez vos connaissances à adhérer

_ venez participer (aux réunions, aux décisions, aux propositions ...)

_ venez vous engager dans l'association ! (contribuer à la gestion, aux formations, devenez TSA et faites des visites de rucher,...)

A bientôt !

Laurent Labourdette
vétérinaire conseil du G.D.S.A. 21
vetodi@netc.fr