S.A.S. APINOV
Bâtiment L'Hexagone
10 Rue Henri Bessemer
17140 Lagord - France

APINOV
CENTRE DE RECHERCHE & FORMATIONS APICOLES

TARIFS D'ANALYSES 2022

Test de sensibilité au tau-fluvalinate et l'amitraze sur *V. destructor*

Tarifs des analyses

Restriction : Si le taux en varroa dans le couvain est inférieur à 5-10% le test n'est pas possible. La prise en charge de l'échantillon sera facturée 35€.

Type d'analyses	Prix unitaire € HT
Taux d'infestation	70
Sensibilité au Tau Fluvalinate	280
Sensibilité à l'Amitraze	280
Sensibilité au Tau Fluvalinate **ET** Amitraze	350

Conditions d'envoi

Le nombre de varroas pour réaliser le test doit être suffisamment important pour obtenir un résultat fiable. Il est nécessaire d'effectuer un suivi d'infestation sur les colonies pour s'assurer d'une infestation suffisante avant prélèvement.

Dans l'idéal, le prélèvement de couvain sera réalisé sur **3 colonies** pour obtenir une meilleure représentativité de la sensibilité du rucher.

Infestation minimale : 5-10% de varroas phorétiques ou 5 varroas par jour en chute naturelle sur lange

Quantité de couvain envoyé : l'équivalent de 3 morceaux de couvain operculé de 15x15cm

Envoi : Chronopost avec les couvains protégés (attention pas de plastique pour qu'ils puissent respirer). Les couvains doivent être envoyés en **début de semaine**.

Voir document annexe 1 « protocole d'envoi » pour plus de détails

S.A.S. APINOV
Bâtiment L'Hexagone
10 Rue Henri Bessemer
17140 Lagord - France

Méthode utilisée

Taux d'infestation

Le taux d'infestation est mesuré dans le couvain sur 50 cellules ouvertes. Les cellules infestées et le nombre de varroas par cellule sont évalués. Le résultat est présenté sous forme de pourcentage d'infestation.

Test de sensibilité

La méthode utilisée est celle de Maggi *et al*, 2008[1], issue de Milani (1995[2] et Lindberg *et al* (2000[3].
La méthode de Milani est la méthode référencée dans le Beebook (Dietemann et al, 2013[4].
Les varroas sont récupérés directement dans le couvain puis mis en contact dans des boites de Petri contaminées avec une solution d'hexane et de principe actif (ici amitraze ou tau-fluvalinate. Trois à quatre réplicats sont réalisés par concentration en fonction du nombre de varroas disponibles. Ils sont laissés en contact avec la substance active pendant 1 heure puis déplacés dans des boites de Pétri non-contaminées, avec des nymphes. Le taux de mortalité est observé à 24 heures.

Témoins et mortalité corrigée

Pour une validation optimale des résultats, le taux de mortalité des témoins ne doit pas dépasser 20%. En fonction de la mortalité des témoins, une mortalité corrigée (Mc) est calculée par la formule : Mc= (M-Mt/(1-Mt avec Mt : Mortalité du témoin, M : Mortalité des varroas à la concentration testée. Si la mortalité des témoins est inférieure à 5% aucune correction n'est nécessaire sur les résultats du test[5].

Concentration Létale à 90% (CL90)

La Concentration Létale à 90% (CL90 correspond à la concentration de référence pour laquelle on observe une mortalité de 90% des varroas pour une population sensible. Elle est utilisée comme **concentration discriminante**. Elle varie selon la substance active. Cette CL90 est obtenue à partir de populations de varroas sensibles qui présentent une réaction de sensibilité optimale à la substance active. Ces populations sensibles proviennent de ruchers non traités depuis plus de 5 ans au tau-fluvalinate et à l'amitraze et sont des ruchers sédentaires.
La CL90 pour l'amitraze a été défini à 0,4 µg/mL à partir de 8 populations considérées sensibles (n=8). La CL90 pour le tau-fluvalinate a été défini à 20µg/mL à partir de 6 populations considérées comme sensibles (n=6).
A partir des populations de référence, les populations de varroas peuvent être phénotypées en différentes classes de sensibilité :

---

[1] Maggi, M. D., Ruffinengo, S. R., Gende, L. B., Eguaras, M. J., & Sardella, N. H. (2008). LC50 baseline levels of amitraz, coumaphos, fluvalinate and flumethrin in populations of Varroa destructor from Buenos Aires Province, Argentina. *Journal of apicultural research*, *47*(4), 292-295.

[2] Milani, N. (1995). The resistance of Varroa jacobsoni Oud to pyrethroids: a laboratory assay. *Apidologie*, *26*(5), 415-429.

[3] Lindberg, C. M., Melathopoulos, A. P., & Winston, M. L. (2000). Laboratory evaluation of miticides to control Varroa jacobsoni (Acari: Varroidae), a honey bee (Hymenoptera: Apidae) parasite. *Journal of economic entomology*, *93*(2), 189-198.

[4] Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S. J., Anderson, D. L., Locke, B., Delaplane, K. S., ... & Rosenkranz, P. (2013). Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research*, *52*(1), 1-54.

[5] Procédures pour tester la résistance aux insecticides chez les moustiques vecteurs du paludisme_ seconde édition. Genève : Organisation Mondiale de la Santé ; 2017. Licence CC BY-NC-SA 3.0 IGO

S.A.S. APINOV
Bâtiment L'Hexagone
10 Rue Henri Bessemer
17140 Lagord - France

APINOV
CENTRE DE RECHERCHE & FORMATIONS APICOLES

Phénotypage des varroas	Mortalité à la CL90 (M)
Sensible	M>75%
Résistance modérée	40%<M<75%
Résistante forte	M<40%

Exemple de Résultats

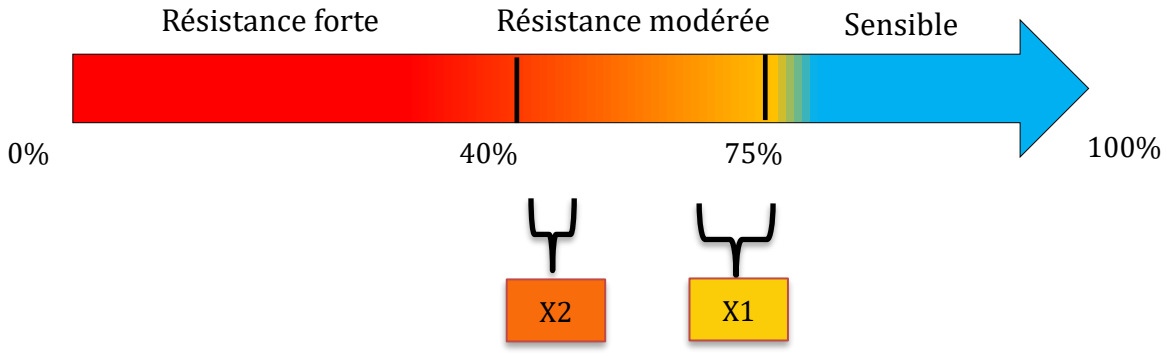
Taux d'infestation

N° Ruche	Nombre de cellules ouvertes	Nombre de cellules infestées	Nombre de fondatrice	Taux d'infestation (%)
X1	50	25	27	50
X2	50	15	15	30

Test de sensibilité

	Mortalité	
Réf client	Témoin (hexane)	AMITRAZE
X1	8%	73±3%
X2		45±1%

- Taux de mortalité du témoin : 8%.
- Mortalité corrigée : appliquée
- Résultats du test à l'**amitraze** : Modérément Résistant pour X1 et X2



S.A.S. APINOV
Bâtiment L'Hexagone
10 Rue Henri Bessemer
17140 Lagord - France

APINOV
CENTRE DE RECHERCHE
& FORMATIONS APICOLES

Annexe 1 : Protocole d'envoi

La sensibilité des varroas peut être testée pour l'amitraze et le tau-fluvalinate.
Les tests de sensibilité nécessitent un grand nombre de varroas. Pour connaitre la sensibilité d'un rucher, il faut compter environ 150 varroas VIVANTS prélevés dans des morceaux de couvains échantillonnés sur plusieurs ruches du même rucher.

Taux d'infestation minimum

Les taux d'infestation doivent être suffisamment importants pour réaliser le test de sensibilité. Si les colonies ne sont pas suffisamment infestées, il n'est pas utile de réaliser un prélèvement. Au sein d'un même rucher, les taux d'infestation peuvent être très hétérogènes. Il faut souvent tester plusieurs colonies pour en trouver une qui corresponde aux critères d'infestation minimum.

- Comptage en % de varroas phorétiques : Minimum 5% de Varroas phorétiques (pour 100 abeilles). Lorsque les %varroas phorétiques >10%, le nombre de varroas pour réaliser le test sera amplement suffisant
- Comptage du nombre de varroas en chute naturelle / jour : >5 varroas /jour

Collecte des varroas

Quelle(s) ruche(s) ?

Les colonies qui ne répondent pas aux critères d'infestation minimum ne doivent pas être prélevées. Si une colonie est suffisamment infestée, le prélèvement peut être réalisé. En fonction du taux d'infestation, la quantité de couvain peut être ajustée. Pour avoir un résultat plus fiable, il est préférable de prélever du couvain sur 2 à 3 ruches mais le test est également réalisable sur une seule ruche.

Quels morceaux de couvains ?

Les couvains vont voyager, il est préférable de prélever un couvain du stade OPERCULE NYMPHAL à EMERGENTE (éviter les larves) et si possible de FAUX-BOURDONS mais le couvain d'ouvrière convient très bien lorsque la colonie est suffisamment infestée.

Prélèvement sur 1 ruche d'un rucher	Prélèvement sur 2 à 3 ruches d'un rucher
-1 morceau de couvain de 25cmx15cm sur un seul cadre - 2-3 morceaux de 15x15cm sur différents cadres	1 morceau de couvain de 15x15cm par ruche
ATTENTION : ne pas prélever des morceaux moins de 15cmx15cm (tendance à s'écraser)	

Préparation pour l'envoi

- Le couvain doit être soigneusement emballé avec de l'essui-tout ou du papier journal.
- Essayez de caler le(s) morceau(x) de couvains dans le carton pour éviter qu'ils ne soient détruits pendant le transport.

S.A.S. APINOV
Bâtiment L'Hexagone
10 Rue Henri Bessemer
17140 Lagord - France

- Pour s'assurer d'une meilleure survie des couvains, ne par les emballer dans du plastique (pour que le couvain puisse respirer).
- Préparer les informations si connues (par écrit dans le colis ou par mail) :
    - Date de prélèvement
    - Emplacement du rucher (commune la plus proche)
    - Nombre de ruches prélevées
    - Rucher sédentaire / transhumant
    - Historique de traitement (chimique (avec AMM ou hors AMM), bio, absence de traitement)

L'envoi

Type d'envoi

Le transport doit être le plus court possible pour s'assurer que les varroas soient viables en arrivant :

- CHRONOPOST avant 13h
- Transporteur privé

Date de l'envoi

Le test en laboratoire se déroule sur 2 jours. C'est pourquoi les couvains doivent arriver au plus tard le jeudi matin. Appelez nous avant tout envoi, pour que nous puissions vous confirmer notre disponibilité pour la réception du couvain et la réalisation des tests de sensibilité.

***Chronopost* : Envoi le lundi et mardi**

A l'adresse d'expédition :

APINOV
10 rue Henri Bessemer
Bât l'Hexagone
17140 LAGORD FRANCE

Si possible, indiquez le numéro de téléphone portable de Myriam Laurie pour le suivi du colis (06.24.85.21.77). Nous vous communiquerons les résultats dans la semaine qui suit la réception du couvain.