

ANALYSES 2024

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

1 – TARIFS DES ANALYSES

Pour faire une demande d'analyses, merci de compléter [le bon de commande](#) et de nous contacter au préalable pour programmer les tests.

| Analyse | Prix unitaire € HT |
|---|--------------------|
| Sensibilité au Tau Fluvalinate | 280 |
| Sensibilité à l'Amitrazé | 280 |
| Sensibilité au Tau Fluvalinate ET Amitrazé | 350 |



Attention : Si le nombre de varroas vivants est trop faible (varroas phorétiques < à 5% ou mauvaises conditions de transport), le test n'est pas possible. La prise en charge de l'échantillon sera facturée 35€ HT, correspondant au temps de recherche de varroas dans le couvain.

2 – PROTOCOLE DE PRELEVEMENT ET D'ENVOI DES COUVAINS

Veuillez suivre attentivement ce protocole pour les étapes de prélèvements et d'envoi de couvains afin de permettre une bonne exécution des tests.

Les tests de sensibilité nécessitent un grand nombre de varroas : **environ 150 varroas VIVANTS par molécule testée (amitrazé ou tau-fluvalinate)**. Les varroas sont prélevés dans des morceaux de couvains échantillonnés sur plusieurs ruches du même rucher.

2.1) Taux d'infestation minimum

Il est nécessaire d'effectuer un **suivi d'infestation sur les colonies** pour s'assurer d'une infestation suffisante avant prélèvement du couvain.

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 le taux varroas phorétiques est supérieur à 10%, le nombre de varroas pour réaliser le test est amplement suffisant.
- Comptage du nombre de varroas en chute naturelle / jour : > 5 varroas /jour

Si les colonies ne sont pas suffisamment infestées, il est inutile d'effectuer un prélèvement car les tests ne seront pas réalisables et le temps de recherche de varroas sera facturé.

2.2) Prélèvement de couvains

Pour une bonne représentativité de la sensibilité du rucher, le prélèvement de couvains doit être réalisé **sur 3 colonies différentes** (d'un même rucher). Néanmoins, selon le taux d'infestation, 1 ou 2 colonies peuvent être suffisantes.



Il est important de prélever des couvains du **stade OPERCULE NYMPHAL à ABEILLE EMERGENTE**. Cela favorise la survie durant le transport et facilite la collecte des varroas. A l'inverse, le stade larvaire est à éviter car les larves sont trop fragiles.

Idéalement, le couvain de **FAUX-BOURDONS** est plus approprié pour réaliser les tests car il est généralement plus infesté. Cependant, le couvain d'ouvrières convient très bien lorsque la colonie est suffisamment infestée.

Les quantités de couvains à prélever sont indiquées dans le tableau ci-après :

| <u>Prélèvement sur 1 ruche d'un rucher</u> | <u>Prélèvement sur 3 ruches d'un rucher</u> |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">• 1 morceau de couvain de 25cmx15cm sur un seul cadre OU• 3 morceaux de 15x15cm sur différents cadres | <ul style="list-style-type: none">• 1 morceau de couvain de 15x15cm par ruche |
| ATTENTION : Ne pas prélever des morceaux moins de 15cmx15cm | |

2.3) Fiche de prélèvement

Remplir la fiche de prélèvement comportant les informations suivantes :

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Date de prélèvement• Rucher sédentaire / transhumant• Historique de traitement anti-varroa | <ul style="list-style-type: none">• Code postal du rucher• Nombre de ruches prélevées |
|--|--|

Remplir **1 fiche de prélèvement(s) par envoi**, chaque prélèvement étant constitué de 1 à 3 ruches d'un même rucher.

Cette fiche doit être envoyé par mail avec le numéro de suivi du colis (contact@apinov.com) + imprimé et envoyé avec les couvains.

Télécharger la fiche



PDF remplissable

2.4) Préparation des couvains

- Les couvains doivent être soigneusement emballés, individuellement, dans de l'**essuie-tout ou du papier journal** (pas de plastique qui empêcherait les couvains de respirer)
- Utiliser un **carton de transport** et **bien caler** les morceaux de couvains pour éviter qu'ils ne s'écrasent pendant le transport.
- **Joindre la fiche de prélèvement** préalablement renseigné
- Si plusieurs prélèvements dans le même envoi : bien identifier les prélèvements avec une étiquette mentionnant le code postal du rucher sur l'emballage de chaque morceau de couvain

2.4) Envoi des couvains

Merci de nous contacter avant tout envoi pour confirmer notre disponibilité pour réaliser les tests.

Pour assurer la survie des varroas, le transport doit être le plus rapide possible. Aussi, il est impératif d'envoyer les couvains en **transport express** type Chronopost, DHL ou autre transporteur privé avec une livraison pour le lendemain (jamais d'envoi en Colissimo). Eviter d'envoyer des couvains en cas de températures inférieures à 15°C ou supérieures à 35°C.



La réalisation des tests nécessitant 2 jours, les couvains doivent arriver chez APINOV au plus tard le jeudi matin. Afin d'anticiper les éventuels retards de livraison, les couvains doivent donc être expédiés en début de semaine, **le lundi ou mardi**.

Adresse de livraison : APINOV – 10 rue Henri Bessemer – 17140 LAGORD

Contact et téléphone / mail pour le suivi du colis :

Myriam LAURIE – 06 24 85 21 77 contact@apinov.com



Merci de nous transmettre systématiquement les numéros de suivi des colis par mail avec le(s) bordereau(x) de prélèvement(s).

3 – MODALITÉS DE REALISATION DES TESTS

Les tests sont réalisés dès réception des échantillons et les résultats sont envoyés au client au plus tard la semaine suivante.

3.1) Test de sensibilité

La méthode utilisée est celle de Almecija et al 2020¹, issue de Maggi et al, 2008² et Milani (1995)³ et Lindberg et al (2000)⁴. La méthode de Milani est la méthode référencée dans le Beebook (Dietemann et al, 2013)⁵.

Les varroas sont collectés directement dans le couvain puis mis en contact dans des boites de Petri contaminées avec le principe actif (ici amitraz ou tau-fluvalinate).

Entre trois et 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.

3.2) Témoins et mortalité corrigée

Pour une validation optimale des résultats, le taux de mortalité des témoins ne doit pas dépasser 30%. 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 et M : Mortalité des varroas à la concentration testée

¹ Almecija G, Poirot B, Cochard P, Suppo C. Inventory of Varroa destructor susceptibility to amitraz and tau-fluvalinate in France. *Exp Appl Acarol*. 2020 Sep;82(1):1-16. doi: 10.1007/s10493-020-00535-w. Epub 2020 Aug 18. PMID: 32809187.

² Maggi, M. D., Ruffinengo, S. R., Gende, L. B., Egúaras, 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.

³ Milani, N. (1995). The resistance of Varroa jacobsoni Oud to pyrethroids: a laboratory assay. *Apidologie*, 26(5), 415-429.

⁴ Lindberg, C. M., Melathopoulos, A. P., & Winston, M. L. (2000). Laboratory evaluation of miticides to control Varroa jacobsoni (Acar: Varroidae), a honey bee (Hymenoptera: Apidae) parasite. *Journal of economic entomology*, 93(2), 189-198.

⁵ 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.



Si la mortalité des témoins est inférieure à 5%, aucune correction n'est nécessaire⁶.

3.3) 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 sédentaires non traités depuis plus de 5 ans au tau-fluvalinate et à l'amitrace.

La CL90 pour l'amitriptyline a été définie à 0,4 µg/mL à partir de 8 populations considérées sensibles (n=8). La CL90 pour le tau-fluvalinate a été définie à 20µg/mL à partir de 6 populations considérées comme sensibles (n=6).

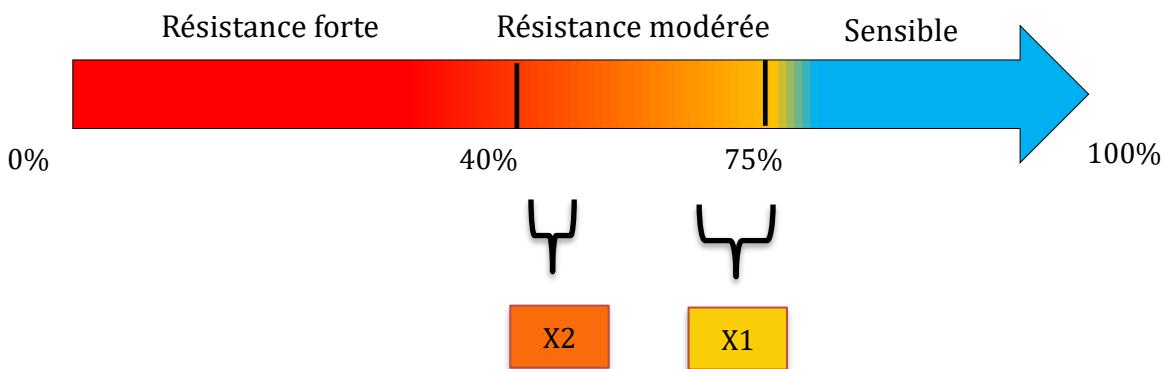
A partir des populations de référence, les populations de varroas peuvent être phénotypées en différentes classes de sensibilité :

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

4 – EXEMPLE DE RÉSULTATS

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

- Taux de mortalité du témoin : 8%
 - Mortalité corrigée : $73\pm3\%$ pour X1 et $45\pm1\%$ pour X2
 - Conclusion du test de sensibilité à l'**amitraze** : **Modérément Résistant pour X1 et X2**



⁶ 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