



anses

# Santé des abeilles

**Rencontre scientifique**

jeudi 7  
décembre 2023

Fiap - Paris 14

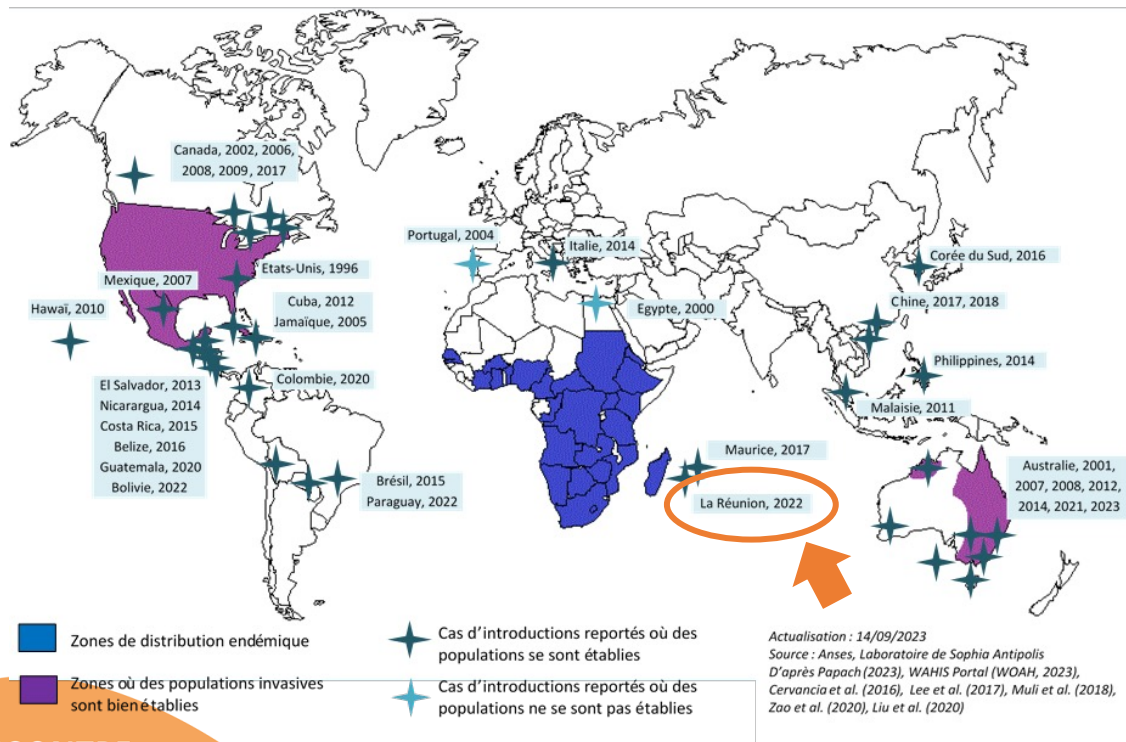
# « *Aethina tumida* à La Réunion : l'appui scientifique et technique du laboratoire national de référence »

**Stéphanie Franco & Véronique Duquesne**

Responsables du LNR Santé des abeilles

Anses - Laboratoire de Sophia-Antipolis

# Originaire d'Afrique sub-saharienne, *A. tumida* s'est dispersé sur plusieurs continents au cours des vingt dernières années

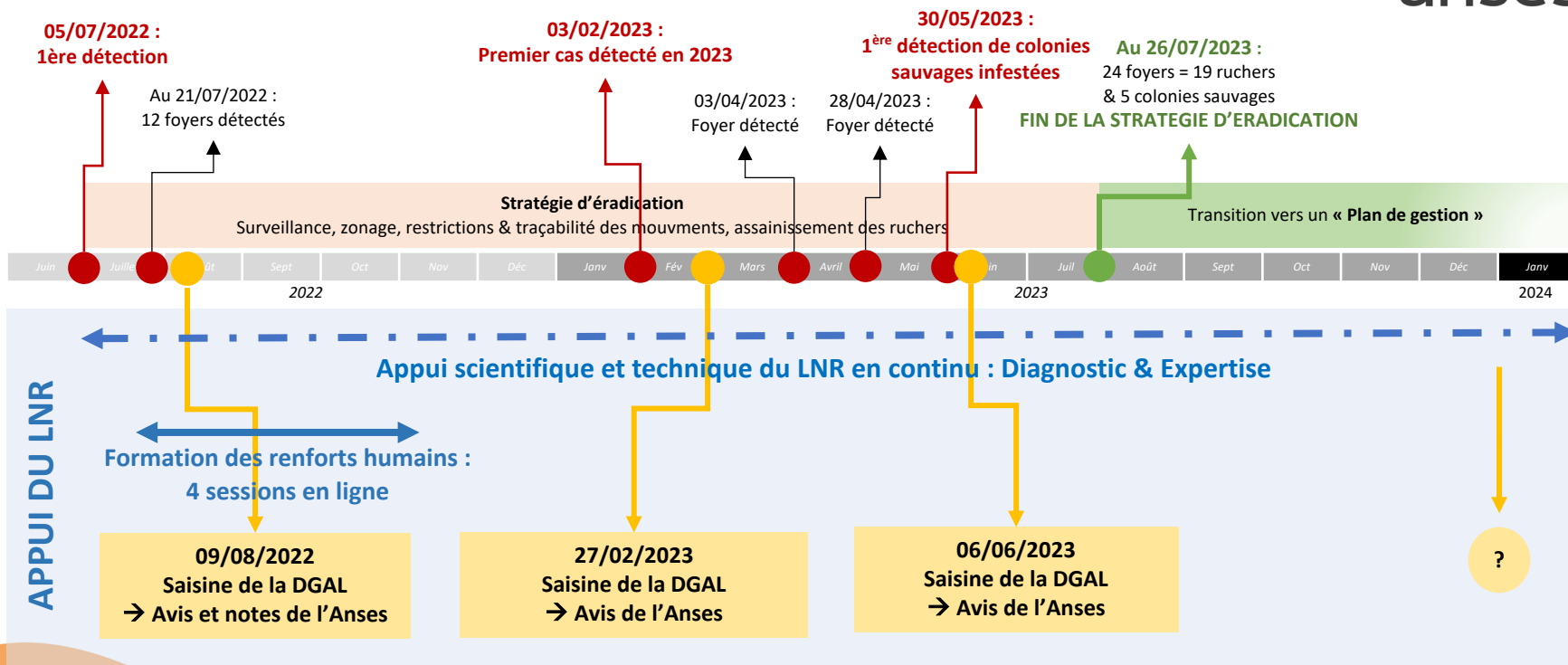


## Dans l'Union Européenne :

- Cas d'introduction maîtrisé au Portugal en 2004
- Présent dans le sud de l'Italie (Calabre) depuis 2014

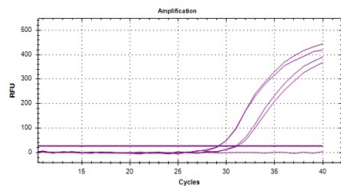
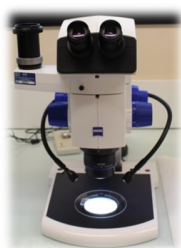
**5 juillet 2022 :**  
**détecté dans le sud**  
**de l'île de La Réunion**

# L'appui scientifique et technique du Laboratoire national de référence au cours de la crise



# 1 – Les analyses de confirmation des suspicions

# Chronologie du diagnostic pour l'identification d'*A. tumida*



## 1<sup>ère</sup> étape

Identification par des critères morphologiques (adultes/larves)

## 2<sup>ème</sup> étape

Confirmation par des outils moléculaires de type PCR / séquençage (adultes / larves)

**1<sup>ère</sup> étape d'identification pour les matrices :** œufs / nymphes / environnementales

## 3<sup>ème</sup> étape

Communication des résultats

**Méthodes « officielles » validées et accréditées selon les normes internationales**

# Qu'est qu'une méthode « validée » et « accréditée » ?



## La validation d'une méthode d'analyse : un gage de qualité

**Démarche** permettant caractériser les performances d'une méthode afin de démontrer qu'elle correspond à l'usage pour lequel elle est prévue

**Plusieurs critères de performances sont évalués** : sensibilité/inclusivité, spécificité...

**Sur la base de référentiels reconnus**

- Normes françaises : Association Française de Normalisation (AFNOR) / NF
- Référentiels européens : Comité Européen de Normalisation (CEN) / EN
- Référentiels internationaux : Organisation internationale de normalisation / ISO, Organisation Mondiale pour la Santé Animale (OMSA)



Organisation mondiale  
de la santé animale  
Fondée en tant qu'OIE

## L'accréditation des laboratoires : une reconnaissance de la qualité des prestations et des méthodes employées



Comité  
d'Accréditation  
Français

# Mardi 5 juillet 2022 : première suspicion

## Appel de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) suite à la forte suspicion d'un foyer d'*A. tumida* sur l'île de La Réunion

Des photos et des vidéos prises sur le terrain sont envoyées par email au LNR (Anses, laboratoire de Sophia Antipolis) :



➔ **LNR : Confirmation d'une FORTE suspicion**

Besoin de photos de meilleure qualité et/ou d'une analyse des spécimens  
pour confirmer le cas



Mercredi 6 juillet 2022 : nouvelles photos des spécimens

Photos réalisées par le CIRAD  
de l'île de La Réunion  
à la demande de la DGAI et de la DAAF



**Confirmation morphologique selon la  
méthode du Laboratoire de référence de l'UE  
qui est aussi référencée par l'Organisation  
mondiale pour la santé animale (OMSA)**

CIRAD = Centre de coopération internationale  
en recherche agronomique pour le développement

DAAF = Direction de l'alimentation,  
de l'agriculture et de la forêt

© G. Lebreton (Cirad)

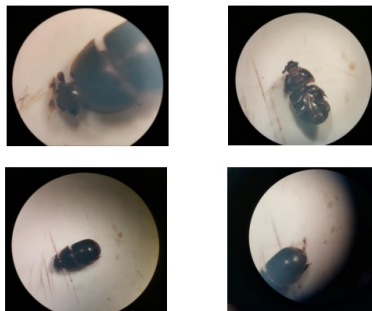


# Rapport LNR basé sur l'identification À l'aide de critères morphologiques sur photos



**Jeudi 7 juillet 2022 : Mise en œuvre des mesures  
d'urgence par la DAAF dans le rucher infesté**

Photos réalisées en première intention le 05/07/2022:



Dossier suivi par :  
Stéphanie FRANCO  
Vétérinaire DUCQUIÈRE

Ligne directe :  
04 92 94 37 00

E-mail :  
lvr.ducquiere@anses.fr

Objet : Avis du Laboratoire National de Référence (LNR) sur la Santé des abeilles  
suite à une suspicion d'*Aethina tumida* sur l'île de La Réunion.

Le LNR a été alerté le 05/07/2022 suite à une très forte suspicion de petit coléoptère  
des ruches (*Aethina tumida*) dans un rucher situé sur la commune de Saint Pierre sur  
l'île de La Réunion.

La DAAF a sollicité le LNR pour donner un avis diagnostique sur la suspicion, sur la  
base de différents éléments d'informations transmis par email par la DAAF et la  
DAAF de La Réunion :

- Photos (6 et vidéos (3), prises sur le terrain par les intervenants sanitaires  
(OIS) ayant réalisé la visite du rucher suspect le 05/07/2022.

- Photos/vidéos spécimens réalisées en laboratoire par le Cirad de La Réunion  
le 06/07/2022 (ces photos ont été prises par du matériel spécialisé et sont de très  
bonne qualité).

- Fiche de la visite de rucher réalisée le 05/07/2022.

Ces éléments informent :

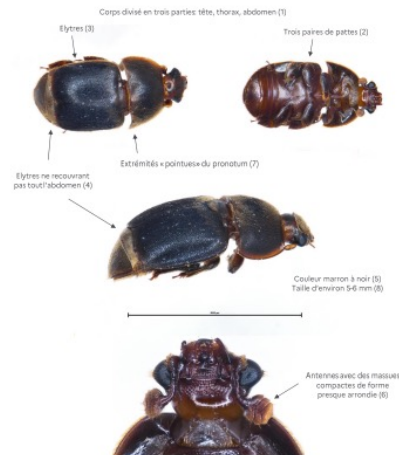
- Que les caractéristiques morphologiques des coléoptères adultes détectés  
dans les ruches correspondent aux critères d'identification d'*A. tumida*, décrits dans  
la méthode officielle d'identification de cette espèce (cf. détails en annexe).

- Que le comportement des coléoptères dans la ruche, observé sur les vidéos  
(mode de déplacement notamment), correspond également à celui du petit  
coléoptère des ruches.

Ils permettent de confirmer l'identification d'*A. tumida*.

Stéphanie FRANCO  
Responsable du LNR

Photos réalisées en laboratoire par le Cirad, avec du matériel spécialisé le 06/07/2022:



2- Résultats de l'identification morphologique d'*A. tumida* réalisée sur la base des photos reçues par le  
LNR

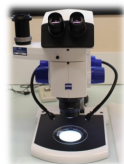
	Présent	Absent
1. Corps divisé en trois parties: tête, thorax et abdomen	x	
2. Présence de trois paires de pattes	x	
3. Présence d'élytres	x	
4. Les élytres ne recouvrent pas tout l'abdomen: certains segments abdominaux sont apparents en vue dorsale	x	
5. Couleur du corps globalement uniforme (absence de tâches), marron clair à noir	x	
6. Extrémité des antennes présentant des massues compactes et de forme presque arrondie	x	
7. Le pronotum dans ses parties postérieures latérales se termine par une pointe	x	
8. Taille : longueur 4 à 7 mm (à +/- 1 mm près); largeur 3 mm (à +/- 1 mm près)	x	

**RESULTAT FINAL :**

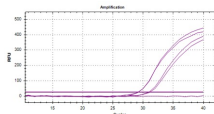
**Identification du petit coléoptère des ruches, *Aethina tumida*, positive (forme adulte).**

Note : Ces critères d'identification sont définis dans la méthode officielle du LNR/LRUE (ANAH.MOA.15) Cette méthode est également référencée dans le Manuel terrestre de l'Organisation mondiale pour la Santé animale<sup>(2)</sup> (OMSA).


# Vendredi 7 juillet 2022 : réception de spécimens par le LNR pour confirmation analytique



- **Morphologie : POSITIVE**



- **PCR : POSITIVE**

  
**anses**  
Laboratoire de Sophia  
Antipolis

RAPPORT D'ANALYSE N° 2207-00970-01

**COPIE CONFORME  
A L'ORIGINAL**

**ECHANTILLON : 22S000760**


Référence externe : 158020020705  
Nature de l'échantillon : Coléoptère  
Prélèvement effectué le : 05/07/2022  
Date de réception : 08/07/2022  
Etat de l'échantillon : Satisfaisant

Analyse	Référence de la méthode	Date de début d'analyse	Paramètres de l'analyse	Résultats
• Identification du petit coléoptère de la Ruche <i>Aethina tumida</i> par examen morphologique	Méthode interne ANA-11.MOA.15	08/07/2022	<i>Aethina tumida</i>	Positif
• Identification du petit coléoptère de la Ruche <i>Aethina tumida</i> par PCR en temps réel	Méthode Interne ANA-11.MOA.37	11/07/2022	<i>Aethina tumida</i>	Positif

Observations sur l'échantillon :  
4 spécimens présents dans l'échantillon et analysés par examen morphologique.  
2 spécimens analysés par PCR.

Conclusion sur l'échantillon :  
Identification du petit coléoptère des ruches, *Aethina tumida*, positive (forme adulte) (\*).

A Sophia-Antipolis, le 12/07/2022

  
Stéphanie FRANCO  
Responsable Technique

Copie à :  
Sans objet

# Confirmation des suspicions suivantes

## Analyses morphologiques basées sur des photos de spécimens en première intention (larves et adultes)

Durée et coût  
du transport des  
échantillons  
vers le LNR en  
metropole

Réactivité  
pour assainir  
les ruchers  
infestés à La  
Réunion

PCR si nécessaire  
(e.g. oeufs, nymphes...)

➔ De juillet 2022 à juillet 2023 :

### 31 rapport diagnostiques produits sur photos



#### Annexe – Éléments d'identification morphologique d'*A. tumida*

1. Photos reçues par le LNR, réalisées en laboratoire par le Cirad de La Réunion :

Présence de 3 paires  
de pattes, une sur  
chacun des segments  
antérieurs (1)



Présence de  
pseudopodes (criste  
2 absent)

Absence sur chaque segment,  
de deux tubercules dorsaux  
(« épines ») de part et d'autre  
de la ligne médiane  
(criste 3 absent)



Couleur blanc-crème  
avec une capsule  
céphalique marron

2. Résultats de l'identification morphologique d'*A. tumida* réalisée sur la base des photos reçues par le LNR

	Présent	Absent
1. Présence de 3 paires de pattes, une sur chacun des segments antérieurs	X	
2. L'ensemble des segments postérieurs aux pattes sont nus et ne présentent pas de fausses pattes (aussi appelées pseudopodes) sur leur partie ventrale		X
3. A partir du mésothorax, présence sur chaque segment, de deux tubercules dorsaux de part et d'autre de la ligne médiane. Ces tubercules sont terminés par une courte soie fine. Ils ressemblent à des « épines »		X
<b>AVIS FINAL :</b> Identification du petit coléoptère des ruches, <i>Aethina tumida</i> , <b>négative</b> .		

Note : Ces critères d'identification sont définis dans la méthode officielle du LNR/RUE (ANA-IT-MOA-15). Cette méthode est également référencée dans le Manuel terrestre de l'Organisation mondiale pour la Santé animale (OMSA).



# Un diagnostic différentiel avec d'autres espèces de coléoptères détectés dans les ruches réunionnaises

Exemples  
d'espèces de  
coléoptères  
adultes détectés  
lors des  
inspections  
de ruchers

## Nitidulidae

© U. Schmidt



*Carpophilus nepos*



*Eपुरaea ocularis*



*Urophorus humeralis*

## Curculionidae Scolytinae

© F. Soldati



*Xyleborus affinis*

## Cryptophagidae

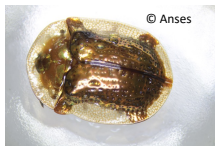
© Anses



*Cryptophagus* sp.

## Chrysomelidae

© Anses



*Aspidomorpha quinquefasciata*

## Cerylonidae

© Anses



*Euxestus phalacroides*

## Silvanidae

© P. Sagatti



*Cryptamorpha desjardinsii*

## Scarabaeidae

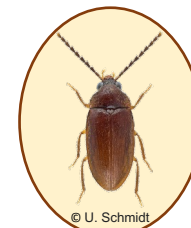
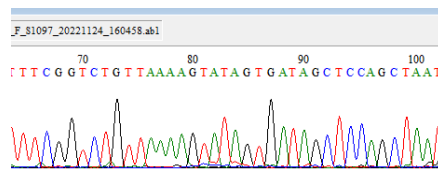
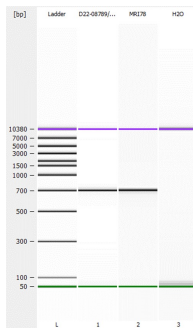
© D. Martiré



*Ontophagus sellatus*

# Un diagnostic différentiel avec d'autres insectes détectés dans les ruches réunionnaises

Confirmation  
par PCR  
et séquençage



Nymphe

*Ptilodactylidae*  
sp.



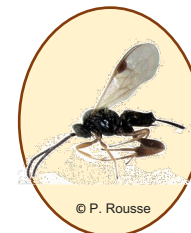
Larves

*Urophorus humeralis*  
(Nitidulidae)  
« Coléoptère de l'ananas »



Œufs dans une matrice  
environnementale

*Talitroides*  
*topitotum*

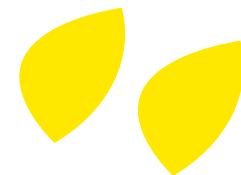


Œufs/cocons ?

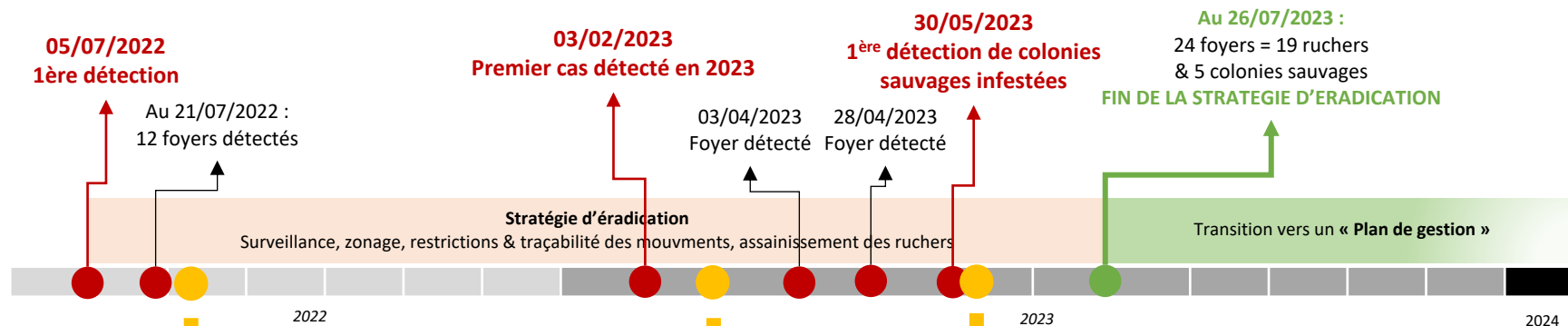
*Apanteles galleriae*



## 2 – Activités d'expertise concernant la surveillance et les mesures d'urgence



# Réponses à différentes saisines de la DGAL



**09/08/2022**

**Saisine de la DGAL**

Questions sur la stratégie de surveillance, de gestion et de prévention  
→ 2 avis et 2 notes d'AST de l'Anses

**27/02/2023**

**Saisine de la DGAL**

Actualisation des précédents avis de l'Anses / évolution de la situation épidémiologique  
→ 1 avis Anses

**06/06/2023**

**Saisine de la DGAL**

Actualisation des précédents avis de l'Anses / détection de colonies sauvages infestées  
→ 1 avis Anses

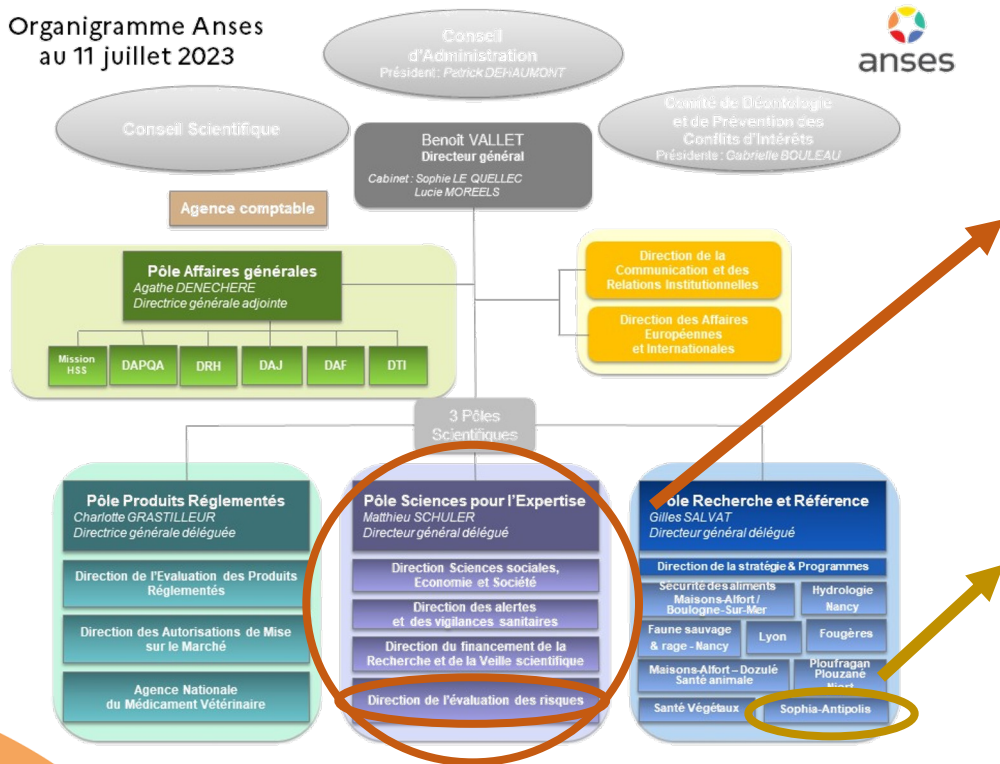


**Délais attendus de réponse courts**



# Organisation de l'expertise à l'Anses

Organigramme Anses  
au 11 juillet 2023



**Un Pôle spécialisé dans l'expertise et une Direction dédiée à l'évaluation des risques**

→ Création d'un « **GECU** » sur *Aethina*  
= Groupe d'expertise collective d'urgence

**Unité Pathologie de l'Abeille :**

- LNR / LRUE Santé des abeilles
- Laboratoire de référence OMSA sur *A. tumida*

# Composition du « GECU Aethina »

- **Coordinateurs (Anses, Direction de l'Évaluation des Risques) :**

**Florence ETORE** - Cheffe de l'unité Evaluation des risques liés au bien-être, à la santé et à l'alimentation des animaux, et aux vecteurs

**Catherine COLLIGNON & Émeline BARRES** - Cheffes de projet scientifique

- **Présidente :**

**Monique LHOSTIS** - Retraitée / Professeur de Parasitologie à Oniris Nantes, responsable de la formation « Diplôme inter-écoles en apiculture et pathologie apicole »

- **Membres :**

**Eric CARDINALE** - Directeur Adjoint UMR Astre / CIRAD, Coordinateur du dispositif de recherche en partenariat One Health Océan Indien

**Véronique DUQUESNE** - Adjointe responsable LNR Santé des abeilles (Anses Sophia Antipolis), chargée de projet scientifique en parasitologie et en entomologie

**Stéphanie FRANCO** - Responsable LNR Santé des abeilles (Anses Sophia Antipolis), expert OMSA Aethina, chargée de projet scientifique diagnostics macro-microscopiques

**Yves LE CONTE** - Retraité / Directeur de recherche à l'INRAE, Co-animateur de l'UMT Prade

**Franco MUTINELLI** - Directeur du département d'expérimentation et bien-être animal (IZPV), responsable du LNR italien sur les maladies des abeilles, Centre de référence FAO pour l'apiculture



**Quatre avis et une note  
en réponse à trois saisines  
rendus dans un délai  
de quelques semaines**

# Les avis du « GECU Aethina »

Saisine  
2022-SA-0141  
du 09/08/2022

- Avis relatif à l'évaluation des mesures de gestion mises en place sur l'île de La Réunion en vue de l'éradication du petit coléoptère des ruches *Aethina tumida*, Réponse à la question 1 (relative aux « risques associés aux options alternatives à la destruction totale d'un rucher »)
- Avis relatif à l'évaluation des mesures de gestion mises en place sur l'île de La Réunion en vue de l'éradication du petit coléoptère des ruches *Aethina tumida*. Réponses aux questions 2 et 3 (relatives au risque lié « réservoir sauvage » et au risque pour la métropole)

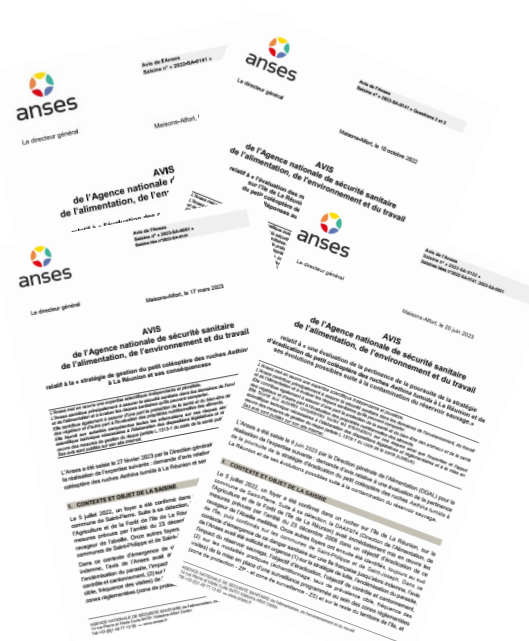
Saisine  
2023-SA-0051  
du 27/02/2023

- Avis relatif à la stratégie de gestion du petit coléoptère des ruches *Aethina tumida* à La Réunion et ses conséquences

Saisine  
2023-SA-0122  
du 06/06/2023

- Avis relatif une évaluation de la pertinence de la poursuite de la stratégie d'éradication du petit coléoptère des ruches *Aethina tumida* à La Réunion et de ses évolutions possibles suite à la contamination du réservoir sauvage

Les avis sont disponibles en ligne sur le site de l'Anses : <https://www.anses.fr>



# Appui scientifique et technique (AST) du Laboratoire National de Référence (LNR)



## ▪ Coordination & expertise :

Stéphanie FRANCO - Responsable LNR Santé des abeilles, expert OMSA *Aethina*, chargée de projet scientifique diagnostics macro-microscopiques

## ▪ Expertise :

Véronique DUQUESNE - Adjointe responsable LNR Santé des abeilles, chargée de projet scientifique en parasitologie et en entomologie moléculaire

Marion LAURENT - Chargée de projet scientifique en épidémiologie

Marie-Pierre CHAUZAT - Responsable du LRUE Santé de l'Abeille, expert OMSA sur les loques, la nosérose et la varrose



Deux notes d'Appui  
Scientifique  
et Technique (AST)

Saisine  
2022-SA-0141  
du 09/08/2022

- Note d'appui scientifique et technique relatif à la surveillance et la gestion du petit coléoptère des ruches (*Aethina tumida*), suite à sa détection sur l'île de La Réunion début juillet 2022 (questions sur la « surveillance » et l'« endémisation »)

### En cours de publication :

- Note d'appui scientifique et technique relatif à la « prévention » du petit coléoptère des ruches



# Conclusion & Perspectives

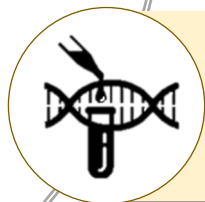


**Réactivité pour le diagnostic et l'expertise dans un contexte d'urgence sanitaire et face à des contraintes d'éloignement géographique**



**Une expérience « enrichie » en prévision d'autres alertes sanitaires**

- **Amélioration des outils analytiques** → Spécificité confortée grâce aux spécimens négatifs → Modification de la méthode d'identification moléculaire (PCR) pour augmenter le signal sur les spécimens positifs
- **Expertise scientifique et technique** → Amélioration des plans de surveillance et de gestion



**Des perspectives en terme de recherche, en collaboration avec les acteurs locaux**

- **Etudes phylogénétiques** → Comparaison avec d'autres génomes disponibles dans les bases de données (en cours de publication)
- **Développement de nouveaux outils pour la détection d'*A. tumida*** (ex : PCR sur débris de ruche)

## Morphologie



Stéphanie  
FRANCO



Nicolas  
COUGOULE



Cristina  
GASTALDI

## Biologie moléculaire



Véronique  
DUQUESNE



Aurélie  
DEL CONT



Amandine  
TISON



Georgios KOUSTSOVOULOS

## Epidemiologie



Marion  
LAURENT



Marie-Pierre  
CHAUZAT

Un grand merci  
à l'ensemble des  
équipes mobilisées !