

L2A 67	P l a n Q u a l i t é A G R O A L I M E N T A I R E E T E N V I R O N N E M E N T - U N I T E V é g é t a u x	
	Critères d'acceptation des échantillons Cas des pathogènes de quarantaine	RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

RECOMMANDATIONS POUR LES PRELEVEMENTS :

Le résultat des analyses est pour une partie tributaire des conditions d'échantillonnages, de prélèvement et d'expédition des échantillons. Le respect de ces consignes incombe au demandeur des analyses. Toutes ces consignes sont autant de conditions pour que le laboratoire puisse accepter les échantillons mais aussi mieux répondre à la demande.

- 1) Tout échantillon adressé au laboratoire doit être accompagné d'une demande d'analyse explicite, validée. La demande doit être **impérativement apposée à l'extérieur** du colis où figurera, selon la demande, la mention « QUARANTAINE PHYTOSANITAIRE » s'il s'agit d'un organisme de quarantaine (précision sous le nom de l'organisme dans chacun des tableaux)
- 2) Chaque échantillon doit être emballé séparément, porter une identification unique et identique à celle de la demande.
- 3) Prélever l'échantillon pour un envoi immédiat de végétal frais. Protéger les échantillons des échauffements et du gel en les enveloppant dans du papier journal ou du papier absorbant puis dans un sac plastique sur lequel est reporté le numéro d'identification
- 4) Prélever en plusieurs exemplaires les organes malades. Le prélèvement doit contenir également une partie indemne et ne doit pas être totalement mort ou desséché.
- 5) L'échantillonnage varie selon le type de matériel végétal. Il est souvent défini par les textes réglementaires des plans de surveillance ou de contrôle.
- 6) Isoler les racines dans un sac plastique noué autour du collet.
- 7) Pour une analyse sur plant de tomate, nous transmettre un plant entier
- 8) S'assurer que l'envoi des échantillons permet une réception de ceux-ci un jour ouvrable au laboratoire sans délai d'acheminement trop long surtout lorsque la température ambiante est élevée.
- 9) Lors d'envoi en quantité importante (plus de 10), prévenir le laboratoire.

En complément, se référer à la note de service ministérielle NS DGAL/SDQPV/N2013-8175 du 30/10/2013

Remarque : La taille des cartons ne doit pas être trop grande afin qu'il puisse passer dans le passe-plat et sous un PSM

L2A 67	P l a n Q u a l i t é A G R O A L I M E N T A I R E E T E N V I R O N N E M E N T - U N I T E V é g é t a u x	
	Critères d'acceptation des échantillons Cas des pathogènes de quarantaine	RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

CHAMPIGNONS :

Recherche	Technique et document de référence	Type de Prélèvement demandé	Conditionnement, envoi et stockage à réception	Quantité minimale
Détection in planta et identification en culture pure de <i>Phytophthora ramorum</i> ORGANISME DE QUARANTAINE	Technique PCR MOA 018 partie B	Rameaux, feuilles, tronc et branches des espèces suivantes : Rhododendron spp Viburnum spp Camellia spp	Le délai maximum entre la réception de l'échantillon et le début effectif de l'analyse doit être inférieur à 8 jours. Echantillon enveloppé dans un papier journal puis dans un sac plastique fermé hermétiquement. Traitement des échantillons dès leur arrivée au laboratoire, Report de l'analyse possible (7 max) (cf. convention client) ⇒ conservation des échantillons au réfrigérateur à 5°C +/- 3°C	Quelques feuilles : il faut environ 1 ml de feuilles en limite de contamination
Détection de <i>Plasmopara Halstedii</i> de graines de tournesol	Technique PCR MOA 032	Graines de tournesol non traitées. Uniquement sur semences d' <i>Helianthus annuus</i> .	Sac carton ou papier Conservation au réfrigérateur (5°C +/- 3°C) Les broyats de graines jusqu'à 3 mois au congélateur (< -18°C)	1000 graines minimum
Détection de <i>Monilinia fructicola</i> sur fruits, fleurs, tissus lignifiés ou sur culture fongique	Technique PCR MOA 025	Fruit, fleurs, tissus lignifiés ou sur culture fongique.	Les échantillons peuvent être conservés dans leurs tubes jusqu'à 6 mois au congélateur (< -18°C) Conservés au congélateur (< -18°C) avant envoi et elles doivent être envoyées par transport rapide.	<u>Unité d'analyse = fruit, chancre</u> Prélèvement de fines lamelles équivalent à 300 à 400µl conditionnés dans un tube de 2 ml <u>Unité d'analyse = fleur</u> Fleur entière placée dans un tube de 2 ml

L2A 67

**P l a n Q u a l i t é A G R O A L I M E N T A I R E E T
E N V I R O N N E M E N T - U N I T E V é g é t a u x**

**Critères d'acceptation des échantillons
Cas des pathogènes de quarantaine**

RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

Recherche	Technique et document de référence	Type de Prélèvement demandé	Conditionnement, envoi et stockage à réception	Quantité minimale
Détection de <i>Dothistroma pini</i> , <i>Dothistroma septosporum</i> et <i>lecanosticta acicola</i>	Technique PCR MA 002	Aiguille de espèces suivantes : Pinus spp. (aiguille de conifères) Pseudotsuga menziesii, Larix decidua et Picea abies	Délai maximum entre réception de l'échantillon et début de l'analyse inférieur à 30 jours. Conservation à 5 +/- 3°C Les prises d'essais en microtubes peuvent être conservées à une température <-16°C avant analyse pendant 6 mois	Quantité nécessaire pour un minimum 2 X 15 tronçons de 5 mm
Détection de <i>Hymenoscyphus fraxineus</i>	Technique PCR MA 001	Tissus, rameau, semis et sujets adultes de Fraxinus spp.	Délai maximum entre réception de l'échantillon et début de l'analyse inférieur à 15 jours. Conservation à 5 +/- 3°C Les prises d'essais en microtubes peuvent être conservées à une température <-16°C avant analyse pendant 3 mois	<u>Unité d'analyse = tissu / tronçon</u> Prélèvement de fines lamelles équivalent à 400 à 500µl conditionnés dans un tube de 2 ml Un minimum de 2 tubes est nécessaire
Détection de <i>Fusarium circinatum</i>	Caractérisation morphométrique MA052	Semis, plants et sujets adultes de Pinus spp. et de Pseudotsuga menziesii	Délai maximum entre réception de l'échantillon et début de l'analyse inférieur 10 jours. Conservation à 5 +/- 3°C	Répartir l'échantillon dans des tubes de 2 ml en veillant à ne pas dépasser 400 à 500 µl/tube
ORGANISME DE QUARANTAINE	Technique PCR MA 003	Semences de Pinus spp. et de Pseudotsuga menziesii	Délai maximum entre réception de l'échantillon et début de l'analyse inférieur à 21 jours Conservation à 5 +/- 3°C Conditionnement dans un récipient protégeant les graines de l'humidité. Les semences ne doivent pas être traitées.	Quantité graines : poids de 1000 graines

L2A 67	P l a n Q u a l i t é A G R O A L I M E N T A I R E E T E N V I R O N N E M E N T - U N I T E V é g é t a u x	
	Critères d'acceptation des échantillons Cas des pathogènes de quarantaine	RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

BACTERIES :

Recherche	Technique et document de référence	Type de Prélèvement demandé	Conditionnement, envoi et stockage à réception	Quantité minimale
Détection de <i>Ralstonia solanacearum</i> Et <i>Clavibacter michiganensis ssp sepedonicus</i> sur pommes de terre ORGANISMES DE QUARANTAINE	Technique PCR et immunofluorescence Directive 2006/56/CE du 10/06/2006 Et Directive 2006/63/CE du 14/07/2006 MOA010	Tubercules de pomme de terre	Les échantillons sont réceptionnés dans le garage au sec à une température ambiante hors gel (de 5°C +/- 3°C à 25 °C)	Un échantillon est constitué d'au maximum 200 tubercules. Un nombre plus important peut entraîner une inhibition ou une interprétation difficile des résultats, dans ce cas l'analyse portera sur la totalité du lot répartie en deux sous-échantillons (double facturation) Dans le cas où il y a moins de 200 tubercules, le lot sera accepté (mention sur le rapport d'essai du nombre exact, voir aussi UT_LOGO_COFRAC.doc) En cas de pourrissement, le lot sera refusé.

L2A 67

Plan Qualité AGROALIMENTAIRE ET ENVIRONNEMENT - UNITE Végétaux

Critères d'acceptation des échantillons
Cas des pathogènes de quarantaine

RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

<p>Détection de Xylella fastidiosa</p> <p>ORGANISME DE QUARANTAINE</p>	<p>Technique PCR</p> <p>MA 039</p>	<p>Pétioles et nervures centrales de toutes plantes hôtes. Rameaux non ligneux Tiges ou xylème sur rameaux ligneux</p>	<p>Les échantillons reçus pour analyse doivent être dans un bon état de conservation, c-à-d, ni desséchés, ni en cours de décomposition. Le délai maximum entre la réception de l'échantillon et le début effectif de l'analyse doit être inf à 7 jours calendaires pour des échantillons prélevés dans de bonnes conditions. En attente de traitement, l'échantillon devra être conservé à 5°C (+/- 4°C).</p>	<p>1) L'analyse est réalisée sur 1 g de matériel végétal (pétioles et/ou nervures centrales) prélevé sur au minimum 5 feuilles pour grandes feuilles et au minimum 25 feuilles pour les petites feuilles. 2) Pour Olea et Quercus, l'analyse est réalisée sur 1.5g de matériel végétal. 3) Pour échantillon composite de 11 à 50 échantillons regroupés : Un échantillon composite doit être constitué uniquement de plantes de la même espèce. L'échantillon composite doit être constitué de 2 tiges ou rameaux par échantillon, soit 100 tiges ou rameaux au total pour un échantillon composite de 50 échantillons. Ce protocole n'est pas adapté pour les matrices Olea europaea et Quercus spp. La prise d'essai est préparée en prélevant une section de tige de 2-3 cm prélevée sur chacune des 2 tiges différentes de chaque échantillon constituant l'échantillon composite. La masse totale prélevée sera adaptée proportionnellement au nombre d'échantillons en vue d'obtenir une masse de 5 g minimum pour un pool de 50 plantes (2 g pour 20 plantes, etc.) (pas d'exigences de masse par échantillon).</p>
---	------------------------------------	--	--	--

L2A 67**Plan Qualité AGROALIMENTAIRE ET ENVIRONNEMENT - UNITE Végétaux****Critères d'acceptation des échantillons
Cas des pathogènes de quarantaine**

RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

VIRUS

Recherche	Technique et document de référence	Type de Prélèvement demandé	Conditionnement, envoi et stockage à réception	Quantité minimale
Détection du virus de la Mosaïque du pépino sur semences (PepMV)	Elisa MOA 026	Semences de tomate n'ayant subi aucun traitement, ou si tel est le cas le lot doit être accompagné d'une fraction non traitée Si non respect ⇒ impossibilité d'analyse	Les échantillons doivent être conservés à 25°C +/- 5°C	Mini : 1000 graines pour chaque échantillon
Détection des virus Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) et Impatiens Necrotic Spot Virus (INSV)	Elisa VH/04/08 version a	Partie aérienne des plantes herbacées	Le matériel végétal doit arriver au laboratoire en état correct de propreté et de fraîcheur. Les échantillons doivent être traités rapidement sinon les conserver dans le congélateur, dans l'azote liquide.	3 grammes
Détection du tomato yellow leaf curl geminivirus(TYLCV) et autres géminivirus	Elisa VH./01/03 version a	Plants de Tomate entier ou parties infectées	Le matériel végétal doit arriver au laboratoire en état correct de propreté et de fraîcheur. Les échantillons doivent être traités rapidement sinon les conserver au réfrigérateur (5°C +/-3°C) pour 48 h max ou 3 mois au congélateur (< -18°C) sous forme de feuilles.	3 grammes
Détection du virus Plum Pox potyvirus (virus de la sharka) PPV	MA 021	Feuilles, fleurs et bourgeons de Prunus spp et sur fleurs de pêcher	Conservation 1 semaine à 5°C	3 grammes

L2A 67

**P l a n Q u a l i t é A G R O A L I M E N T A I R E E T
E N V I R O N N E M E N T - U N I T E V é g é t a u x**

**Critères d'acceptation des échantillons
Cas des pathogènes de quarantaine**

RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

<p>Détection du tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)</p> <p>ORGANISME DE QUARANTAINE</p>	<p>MA 066</p>	<p>Feuilles et fruits des plantes hôtes naturels confirmés (Solanum lycopersicum et Capsicum spp).</p>	<p>Les échantillons de feuilles ou fruits reçus pour analyse doivent être dans un bon état de conservation, c'est-à-dire, ni desséchés, ni nécrosés ni en cours de décomposition. Le temps entre le prélèvement et l'arrivée au laboratoire doit être le plus réduit possible. Si les échantillons ne sont pas envoyés le jour même, ils doivent être conservés au froid avant l'envoi.</p> <p>Chaque échantillon est conditionné individuellement dans un emballage hermétique et parfaitement identifié (référence figurant sur la fiche de demande d'analyse). Toutes les mesures doivent être prises pour conserver l'intégrité de l'échantillon et éviter les contaminations par d'autres échantillons. Pour les échantillons lyophilisés ou déshydratés, ils doivent être complètement déshydratés, c'est-à-dire sans développement de moisissures.</p>	<p>Supérieure à 2 grammes</p>
		<p>Semences des plantes hôtes naturels confirmés (Solanum lycopersicum et Capsicum spp).</p>	<p>Chaque échantillon est conditionné individuellement dans un emballage hermétique et parfaitement identifié (référence figurant sur la fiche de demande d'analyse). Toutes les mesures doivent être prises pour conserver l'intégrité de l'échantillon et éviter les contaminations par d'autres échantillons. Les échantillons de semences reçus pour analyses doivent préférentiellement être non traités. Cette méthode convient également pour les semences traitées par des procédés physiques ou chimiques (extraction acide, hypochlorite de calcium ou de sodium, phosphate trisodique, etc.) dans le but de désinfestation / désinfection. Dans le cas de semences pelliculées le rapport d'analyse précisera que les semences analysées étaient pelliculées. Cette méthode ne convient pas pour les semences enrobées.</p>	<p>De préférence 3000 graines. Une réserve sera émise en observation sur le rapport d'analyse si la quantité analysée est inférieure aux recommandations.</p>

L2A 67	P l a n Q u a l i t é A G R O A L I M E N T A I R E E T E N V I R O N N E M E N T - U N I T E V é g é t a u x	
	Critères d'acceptation des échantillons Cas des pathogènes de quarantaine	RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

NEMATODES

Recherche	Technique et document de référence	Type de Prélèvement demandé et conditions de réception	Conditionnement et stockage	Quantités requises
<i>Globodera pallida</i> et <i>Globodera rostochiensis</i> ORGANISME DE QUARANTAINE	MA019 (détection) MA067 (PCR)	Terre sèche en sachets de papier individuels, Terre humide en sachets plastifiés Sachets non percés, correctement identifiés	L'échantillon doit arriver au laboratoire dans un sachet fermé intègre. Sols, supports de culture et produits terreux : conservation à température ambiante inférieure à 35°C. Organes végétaux souterrains périssables : conserver à température réfrigérée (salle de tri ou 3 ^{ème} étage)	Pas de volume requis défini.
		Pommes de terre (éviter les pommes de terre humides) conditionnées en sac plastique, le tout dans un filet à pommes de terre, correctement identifié.	Les échantillons sont réceptionnés dans le garage au sec à une température ambiante hors gel	200 tubercules
		Kyste séché (identification uniquement), dans un microtube correctement identifié	Conservation à température ambiante <35°C ou +4°C en attente d'analyse 3 kystes sont conservés pour un besoin de confirmation éventuel selon la méthode ANSES/LSV/MA054 réalisé au sein du LNR	3 kystes minimum lorsque cela est possible (sinon analyse sur 1 ou 2 possible) Analyse sur 1-50 kyste par tube
<i>Heterodera</i>	Méthode interne LSV	Cf. <i>Globodera</i> .	Cf. <i>Globodera</i>	Cf. <i>Globodera</i>

L2A 67

**P l a n Q u a l i t é A G R O A L I M E N T A I R E E T
E N V I R O N N E M E N T - U N I T E V é g é t a u x**

**Critères d'acceptation des échantillons
Cas des pathogènes de quarantaine**

RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

Recherche	Technique et document de référence	Type de Prélèvement demandé et conditions de réception	Conditionnement et stockage	Quantités requises
Ditylenchus dipsaci et destructor	Méthode de détection et identification morphobiométrique MOA 013 parties A et B	Tubercules, bulbes, caïeux, semences, ... en sachets individuels non percés, correctement identifiés	Semences : conservation à température ambiante, conservation au froid positif si délai entre réception et analyse sup à 24H recommandé. Autres matrices: conservation au froid* ou recommandé si délai d'analyse >24h Conservation plusieurs semaines si matrice graines sinon (parties aériennes, bulbes) analyse dans les meilleurs délais	<u>Bulbes, tubercules, Ail, ...</u> : max de 200 unités <u>Graines</u> : max de 400 ml
		Larves (identification uniquement)	Envoi dans un microtube avec un peu d'eau, bien fermé et identifié	Envoi des larves détectées comme Ditylenchus sp.
Meloidogyne fallax et Meloidogyne chitwoodi	Méthode de détection NS/04/06 version a	Tubercules de pomme de terre	T° ambiante/Hors gel et à l'abri de la lumière	200 tubercules
ORGANISMES DE QUARANTAINE	MOA 024 partie A	Terre	L'échantillon doit arriver au laboratoire dans un sachet fermé et à T° ambiante.	Mini 300 ml

Rédaction		Validation		Vérification	
Nom: R ; LITTHISACK Fonction: Chargée d'analyses	Original signé	Nom: F. PATE Fonction: Resp Tech	Original signé	Nom: F. HEITZ Fonction: Resp Qual	Original signé