

<b>LDA 67</b>	<b>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</b>	
	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 ».
- 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

<b>LDA 67</b>	<b>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</b>	
	Critères d'acceptation des échantillons Cas des pathogènes de quarantaine	RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

## CHAMPIGNONS :

Prévenir systématiquement l'ANSES-LSV site de Nancy lors de la détection d'un échantillon non négatif (ex : *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Hymenoscyphus fraxineus*, *Fusarium*, ...). Ce dernier sera transmis ou non pour confirmation au laboratoire de référence en accord avec ce dernier

Personnes à prévenir avant transmission

*Phytophthora* : [nathalie.schenck@anses.fr](mailto:nathalie.schenck@anses.fr)

*Pasmopara* : [veronique.wilson@anses.fr](mailto:veronique.wilson@anses.fr)

*Hymenoscyphus fraxineus*, *Fusarium*, *dothistroma* : [renaud.ioss@anses.fr](mailto:renaud.ioss@anses.fr); [cecile.guinet@anses.fr](mailto:cecile.guinet@anses.fr); [celine.jeandel@anses.fr](mailto:celine.jeandel@anses.fr)

Coordonnée téléphonique de l'ANSES-LSV Site de Nancy :

03 83 29 00 02

Pour tout problème technique : [renaud.ioss@anses.fr](mailto:renaud.ioss@anses.fr)

Recherche	Technique et document de référence	Type de Prélèvement demandé	Conditionnement et stockage	Quantité minimale
Détection in planta et identification en culture pure de <i>Phytophthora ramorum</i>	Technique PCR  MOA 018 partie B	Rameaux, feuilles, tronc et branches des espèces suivantes : <i>Rhododendron</i> spp <i>Viburnum</i> spp <i>Camellia</i> 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

LDA 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 et stockage	Quantité minimale
Détection de <i>Plasmopara Halstedii</i> de graines de tournesol	Technique PCR MOA 032	Graines de tournesol non traitées	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
Détection et identification des espèces <i>Fusarium spp</i> et <i>Microdochium Nivale</i>	Isolement mycologique semi sélectif et étude microbiologique MH/03/16	Graines de céréales (blé, orge, seigle, maïs, avoine, ...)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Après prélèvement sur le terrain, les échantillons seront conditionnés dans des sachets en papier. L'emploi du sac plastique est à proscrire. Ils doivent être conservés à 5°C (+-3°C) avant envoi au laboratoire. Ce dernier devra s'effectuer par un envoi postal garantissant la livraison du colis sous 48 h.</li> <li>Avant analyse, les échantillons reçus au laboratoire peuvent être conservés dans leur sachet papier jusqu'à 6 mois à une température de 5°C (+-3°C).</li> </ul>	- 100 graines minimum pour l'identification des espèces <i>Fusarium spp</i> - 100 graines minimum pour l'identification de <i>Microdochium Nivale</i> En résumé la prise d'essai correspondant à un volume approximatif de 50 ml (céréales autres que maïs) ou de 100 ml (maïs). Ces grains analysés seront prélevés aléatoirement dans l'échantillon reçu en le mélangeant vigoureusement

**LDA 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

Détection de <i>Dothistroma pini</i> , <i>Dothistroma septosporum</i> et <i>lecanosticta acicola</i>	Technique PCR MA 002	Aiguille de Pinus spp. (aiguille de conifères)	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	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.	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
Détection de <i>Fusarium circinatum</i>	Technique PCR MA 003	Semences	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

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

<b>LDA 67</b>	<b>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</b>	
	Critères d'acceptation des échantillons Cas des pathogènes de quarantaine	RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

## BACTERIES :

En cas du problème contacter l'ANSES-LSV Station d'Angers

Coordonnée téléphonique de l'ANSES-LSV Angers

Analyse sur pommes de terre : Mme Carène Rivoal ([carene.rivoal@anses.fr](mailto:carene.rivoal@anses.fr)), Resp. unité de bactériologie

02 41 20 74 20

Analyses sur semences de tomates : Mme Valérie Olivier ([valerie.olivier@anses.fr](mailto:valerie.olivier@anses.fr))

Analyses pour Xylella : Mme Valérie Olivier ([valerie.olivier@anses.fr](mailto:valerie.olivier@anses.fr)) ou Mr Bruno Legendre ([bruno.legendre@anses.fr](mailto:bruno.legendre@anses.fr))

Tout échantillon non négatif doit faire l'objet d'un contact du laboratoire de référence pour discussion de la démarche à suivre. Pour Xylella, l'envoi est systématique.

Recherche	Technique et document de référence	Type de Prélèvement demandé	Conditionnement et stockage	Quantité minimale
Détection des bactéries <b><i>Ralstonia solanacearum</i></b> et <b><i>Clavibacter michiganensis ssp sepedonicus</i></b> sur pomme de terre	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 analyser la totalité du lot en deux sous-échantillons de 200 tubercules maximum 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) Si le lot est complètement pourri il sera refusé.

# LDA 67

## Plan Qualité AGROALIMENTAIRE ET ENVIRONNEMENT - UNITE Végétaux

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

RD\_VEG\_CRIT\_ACCEP.doc

Détection de <i>Clavibacter michiganensis ssp michiganensis</i> sur semences de tomate	Technique d'immunofluorescence indirecte Méthode BH/06/01 version a MOA 010	Semences de tomate	Les échantillons sont réceptionnés dans le garage au sec à une température ambiante hors gel (de 5°C +/- 3°C à 25 °C)	Au moins 5000 graines (environ 15g)
Détection de <i>Xylella fastidiosa</i>	Technique PCR MA 039	Pétioles et nervures centrales de toutes plantes hôtes. La méthode ne s'applique pas sur les végétaux en dormance	Les échantillons reçus pour analyse doivent être dans un bon état de conservation, c'est-à-dire, 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 inférieur 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).	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Pour les espèces végétales à pétioles (ou nervures centrales) de grande dimension (ex : caféiers, mûrier, vigne,...), l'analyse est réalisée sur <b>1 g</b> de matériel végétal (pétioles et/ou nervures centrales) prélevé sur <b>au minimum 5 feuilles</b></li> <li>2) Pour les espèces végétales à pétioles de petite dimension (ex : polygala) ou sans pétioles (ex : romarin) l'analyse est réalisée sur 1 g de matériel végétal prélevé sur au minimum 25 feuilles, rameaux, tiges.</li> </ol>

<b>LDA 67</b>	<b>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</b>	
	Critères d'acceptation des échantillons Cas des pathogènes de quarantaine	RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

## VIRUS

En cas de problème contacter l'ANSES-LSV Station d'Angers

Mr Pascal GENTIL : [pascal.gentil@anses.fr](mailto:pascal.gentil@anses.fr) (PepMV, ...)

Mme Isabelle RENAUDIN : [isabelle.renaudin@anses.fr](mailto:isabelle.renaudin@anses.fr) (BNYVV, ...)

ou le site de Clermont-Ferrand Mr Jean Philippe RENVOISE : [jean-philippe.renvoise@anses.fr](mailto:jean-philippe.renvoise@anses.fr) pour PPV, ...

Coordonnée téléphonique de l'ANSES-LSV Angers

02 41 20 74 20

Recherche	Technique et document de référence	Type de Prélèvement demandé	Conditionnement et stockage	Quantité minimale
Détection du virus de la rhizomanie <b>Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV)</b>	ELISA MA 056	Plants de Betteraves ou d'épinards avec appareil racinaire le plus préservé possible	Entreposé dans une chambre climatique à 5°C +/- 3°C au maximum un mois. Une fois préparée, la première fraction de prélèvement de racelles doit être traitée le jour même. La deuxième fraction sera conservée par toute méthode n'altérant pas les propriétés sérologiques du virus (par exemple : lyophilisation, congélation), pour permettre si nécessaire, une analyse de contrôle des résultats par le laboratoire de référence.	Un échantillon est constitué d'un prélèvement de 15 plantes dans une zone homogène de culture, excepté pour la Bretagne où un échantillon est composé de 30 plantes prélevées dans une zone homogène.
Détection du virus de la <b>Mosaïque du pépino</b> sur semences ( <b>PepMV</b> )	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 traité Si non respect ⇒ impossibilité d'analyse	Les échantillons doivent être conservés à 25°C +/- 5°C	Mini : 1000 graines pour chaque échantillon

# LDA 67

## Plan Qualité AGROALIMENTAIRE ET ENVIRONNEMENT - UNITE Végétaux

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 et stockage	Quantité minimale
Détection des virus <b>Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV)</b> et <b>Impatiens Necrotic Spot Virus (INSV)</b>	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 <b>tomato yellow leaf curl geminivirus(TYLCV)</b> 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 <b>cucumber mosaic virus</b> sur bananier	MOA 009 version 1a	Feuilles de bananier	Le délai entre la réception des échantillons frais et le début effectif de l'analyse doit être de préférence inférieur à 3 jours et ne doit pas dépasser 5 jours, les échantillons seront conservés à +5°C . Si les échantillons ne peuvent être traités dans ce laps de temps, ils seront congelés à une température inférieure à -18°C, en attente de traitement (maximum 1 mois). La prise d'essai sera alors préférentiellement effectuée avant la congélation.	Pour le matériel frais, chaque prise d'essai est constituée au minimum de 0,5g de matériel végétal Pour le matériel déshydraté la prise d'essai est constituée au minimum de 0,1g de feuille déshydratée. En deçà de cette quantité de matériel végétal, des réserves sont émises quant au résultat d'analyse si ce dernier est négatif.



# LDA 67

## Plan Qualité AGROALIMENTAIRE ET ENVIRONNEMENT - UNITE Végétaux

### 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 et stockage	Quantité minimale
Détection du <b>banana bunchy top virus</b> (BBTV)	MOA 014	feuilles de bananier fraîches ou déshydratées, symptomatiques ou asymptomatiques	Pour les feuilles prélevées dans de bonnes conditions, le délai entre la réception des échantillons frais et le début effectif de l'analyse doit être de préférence inf à 3 jours et ne doit pas dépasser 5 jours. Conservation des échantillons à +5°C. Si les échantillons ne peuvent être traités dans ce laps de temps, ils seront congelés à une température inf a -18°C, en attente de traitement (max 1 mois). La prise d'essai sera alors préférentiellement effectuée avant la congélation.	Pour le matériel frais, chaque prise d'essai est constituée au minimum de 0,5g de matériel végétal Pour le matériel déshydraté, la prise d'essai est constituée au minimum de 0,1g de feuille déshydratée. En deca de cette quantité de matériel végétal, des réserves sont émises quant au résultat d'analyse si ce dernier est négatif.
Détection des virus de la vigne	VV/04/05/version b	Sarment de bois, feuilles, racines	Conservation des feuilles 1 semaine à 5°C et pour les bois et racines, 1 mois à 5°C. sinon les prélèvement se conserve 1 an congelé	Bois environ 10 cm et diamètre >3 mm
Détection du virus Plum Pox potyvirus (virus de la sharka) PPV	MA 021	Feuilles, fleurs	Conservation 1 semaine à 5°C	3 grammes
Détection du tomato ringspot virus (ToRSV)	VH/06/13a	Uniquement feuilles de pelargonium	Quelques jours à 5°C ou pour une conservation plus longue congélation ou conservation dans l'azote liquide	3 grammes
Détection du tabacco ringspot nepovirus (TRSV)	VH/06/01 a	Plantes herbacées maraichères et ornementales	Quelques jours à 5°C ou pour une conservation plus longue congélation ou conservation dans l'azote liquide	3 grammes

<b>LDA 67</b>	<b>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</b>	
	Critères d'acceptation des échantillons Cas des pathogènes de quarantaine	RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

**NEMATODES** En cas de problème, contacter l'ANSES-LSV Station de Le Rheu

Coordonnées téléphonique

Mr Alain BUISSON: [alain.buisson@anses.fr](mailto:alain.buisson@anses.fr) pour Ditylenchus, Méloïdogyne sur pomme de terre

02 99 30 90 35

Mme Elsa RULLIAT : [elsa.rulliat@anses.fr](mailto:elsa.rulliat@anses.fr) pour Globodera

Mr Fabrice OLLIVIER: [fabrice.ollivier@anses.fr](mailto:fabrice.ollivier@anses.fr) pour Méloïdogyne sur terre

Mme Sylvie GAMEL : [sylvie.gamel@anses.fr](mailto:sylvie.gamel@anses.fr) pour Globodera par BM

Mme Anne-Marie CHAPPE : [anne-marie.chappe@anses.fr](mailto:anne-marie.chappe@anses.fr) pour Globodera par BM

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>	MA019 (détection) MA054 (identification)	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 <sup>ème</sup> 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	3 kystes minimum lorsque cela est possible (sinon analyse sur 1 ou 2 possible)

<b>LDA 67</b>	<b>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</b>	
	Critères d'acceptation des échantillons Cas des pathogènes de quarantaine	RD_VEG_CRIT_ACCEP.doc

<i>Heterodera</i>	Méthode interne LSV	Cf. Globodera.	Cf. Globodera	Cf. Globodera
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
Meloidogyne fallax et Meloidogyne chitwoodi	MOA 024 partie A	Terre	L'échantillon doit arriver au laboratoire dans un sachet fermé et à T° ambiante.	Mini 300 ml

\*MOA013

Rédaction		Validation		Vérification	
Nom:		Nom:		Nom:	
Fonction:		Fonction:		Fonction:	