Ordre de méthode

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE
ET DE
L'ALIMENTATION

Direction générale de l'alimentation **Service des actions sanitaires en production primaire** **Sous-Direction de la qualité, de la santé et de la protection des végétaux** **Bureau de la santé des végétaux** **251 rue de Vaugirard** **75 732 PARIS CEDEX 15** **0149554955**	**Note de service** **DGAL/SDQSPV/2018-449** **13/06/2018**

Date de mise en application : Immédiate
Diffusion : Tout public

Cette instruction n'abroge aucune instruction.
Cette instruction ne modifie aucune instruction.
Nombre d'annexes : 1

Objet : Instruction spécifique pour la détection de nématodes vivants dans les extraits d'écorces et de sous-produits à base de bois de conifères (sauf les genres Taxus et Thuja) - étape supplémentaire de la MA020 relative à la détection du nématode du pin par PCR temps réel

Destinataires d'exécution
DRAAF DAAF Anses - Laboratoire de la santé des végétaux (LSV) Laboratoires agrées

Résumé : Publication de l'instruction spécifique pour la détection de nématodes vivants dans les extraits d'écorces et de sous-produits à base de bois de conifères (sauf les genres Taxus et Thuja) - étape supplémentaire de la MA020 sur la détection du nématode du pin par PCR temps réel

Textes de référence : Articles R.202-2 à R.202-21 du code rural et de la pêche maritime
Arrêté ministériel du 19 décembre 2007 fixant les conditions générales d'agrément des laboratoires

d'analyses dans le domaine de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux

Cette instruction spécifique présente une étape supplémentaire (disponible en annexe) de la méthode officielle d’analyse MA 020 relative à la détection de *Bursaphelenchus xylophilus* par PCR temps réel sur bois de conifères.

Cette étape supplémentaire d’observation des extraits à la loupe binoculaire, à effectuer après migration et avant le conditionnement de l’extrait, vise à déterminer si des nématodes vivants sont présents dans les extraits d’écorces et de sous-produits à base de bois de conifères (sauf les genres Taxus et Thuja).

Il est important de noter que cette étape n’est pas requise systématiquement, elle sera mise en œuvre uniquement sur demande expresse de l’administration compétente.

Le directeur général adjoint de l'alimentation
Chef du service de la gouvernance
et de l'international
CVO
Loïc EVAIN

Annexe : Instruction spécifique pour la détection de nématodes vivants dans les extraits d'**écorces et de sous-produits à base de bois de conifères** (sauf genres Taxus et Thuja) - complément de la MA020 sur la détection du nématode du pin par PCR temps réel

Les écorces et les sous-produits à base de bois de conifères sont humidifiés à réception, placés en incubation 15 jours à 25°C puis mis en migration selon le procédé décrit §8.1 de la MA020.

A l'issue de la migration, l'eau de la cuvette est récupérée dans un contenant (pot de récupération[1]) après un passage à travers un tamis de 20 µm sur lequel sont retenus les nématodes.

Sur demande de l'autorité compétente, figurant sur le bordereau de l'échantillon**, une étape supplémentaire devra être effectuée avant l'étape d'extraction de l'ADN** (entre le §8.1 et le §8.2 de la MA020, logigramme Figure 1) : elle consiste à observer à la loupe binoculaire (Figure 2) l'extrait obtenu après migration directement dans le récipient de récupération et noter la présence ou non de nématodes vivants, c'est-à-dire flexueux et mobiles.

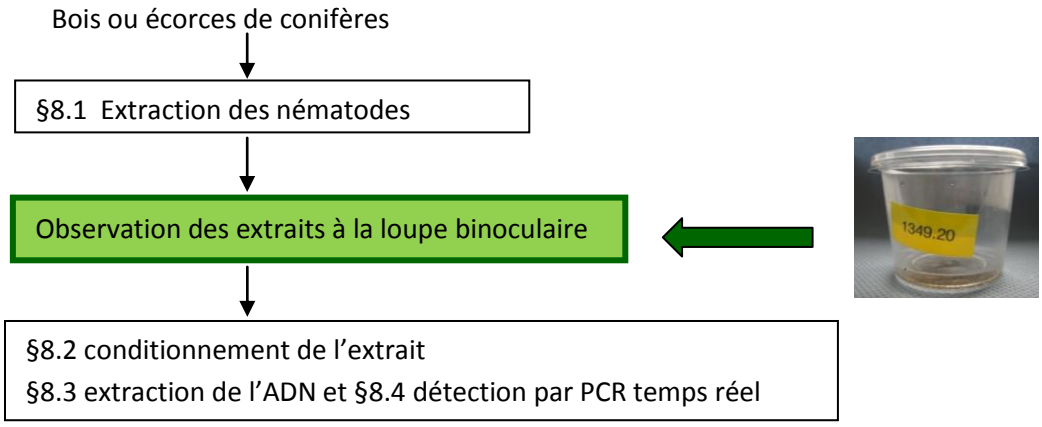


Figure 1 : identification de l'étape supplémentaire dans le logigramme du principe de la méthode MA020



Figure 2 : Observation à la loupe binoculaire

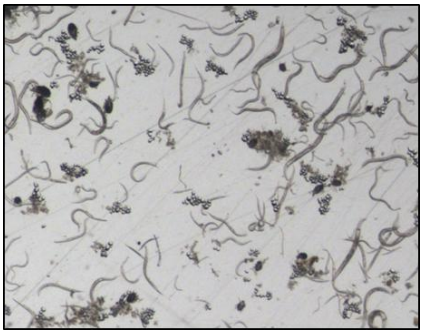


Figure 3 : Nombreux nématodes vivants

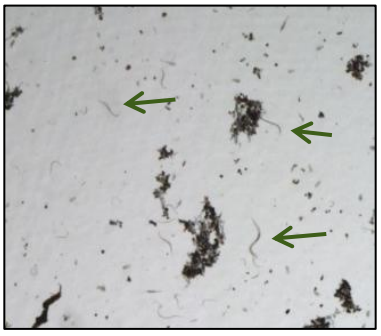


Figure 4 : quelques nématodes vivants

Les nématodes peuvent être très nombreux (Figure 3) ou peu nombreux (Figure 4), ils peuvent aussi être totalement absents. Dans tous les cas, cette remarque devra être portée en observation sur le rapport d'analyse sous la forme suivante :

- Présence de nématodes vivants observés à la loupe binoculaire,
Ou le cas échéant
- Absence de nématodes vivants observés à la loupe binoculaire.

[1] : à titre d'exemple le LNR utilise la référence La Bovida 0100190341 plastipot et 0100190335 pour le couvercle