

Consignes pour l'envoi d'échantillons végétaux pour analyses de laboratoire

Date de mise à jour : 19/07/2024

Version française

Ce document propose des consignes pour le prélèvement, la préparation et l'expédition d'échantillons à l'Unité de Quarantaine du Laboratoire de la Santé des végétaux de l'Anses. Ces consignes sont applicables en l'absence ou en complément de consignes spécifiques issues d'une note de service (ou document équivalent) ou d'une méthode officielle.

1- Prélèvement et préparation du matériel végétal

La qualité du prélèvement et les conditions de transport jusqu'au lieu de préparation, de la préparation et de la conservation avant expédition sont primordiales pour assurer une qualité d'échantillon optimale avant son transport au laboratoire.

Afin d'assurer les précautions sanitaires, il convient de prélever et expédier des échantillons dépourvus de terre (ou autre substrat), d'insectes, d'acariens, de champignons ou tout autre agent biologique et de veiller à l'absence de contaminations inter-échantillons.

Les prélèvements doivent privilégier les parties symptomatiques.

Le matériel végétal prélevé doit être non sénescé et non nécrosé.

Les prélèvements doivent être réalisés en conditions sèches (au besoin sécher le matériel végétal).

Les échantillons prélevés doivent être transportés en glacière avec blocs congelés puis conservés au réfrigérateur (température d'environ 5°C) en attente de préparation éventuelle et d'expédition.

Prélèvements

Feuilles

Les feuilles doivent être prélevées avec pétioles.

4 à 5 feuilles de taille moyenne sont suffisantes pour générer une masse de « feuilles » utilisable pour le laboratoire d'environ 1 g.

7 à 8 feuilles de taille moyenne sont suffisantes pour générer une masse de nervures/pétioles utilisable pour le laboratoire d'environ 1 g.

Ces estimations de masse sont données pour des feuilles de pêcher ou prunier et d'agrumes.

Rameaux

30 à 40 cm de rameaux de diamètre d'environ 8 à 10 mm sont suffisants pour générer une masse d'écorces utilisable pour le laboratoire d'environ 2 g (estimation donnée pour des rameaux d'agrumes).

30 à 40 cm de rameaux de diamètre d'environ 8 à 10 mm sont suffisants pour générer une masse de phloème utilisable pour le laboratoire d'environ 1 g (estimation donnée pour des rameaux d'arbres fruitiers hors agrumes).

Autres pièces végétales

Dans le cas de bourgeons, de fleurs ou d'autres pièces végétales, la masse d'une quantité donnée est extrêmement dépendante de l'espèce végétale. Il est recommandé d'utiliser une balance de terrain donnant la masse approximative pour prélever la masse minimale demandée.

Préparation du matériel végétal

Selon les prescriptions des méthodes officielles ou internes à l'unité de quarantaine, le matériel végétal peut nécessiter différents niveaux de préparation.

On peut citer à titre d'exemple :

- Élimination des feuilles, des épines et, si besoin, raccourcissement des rameaux pour le transport.
- Découpe, mise en sachet (ou équivalent) et stockage à l'état réfrigéré ou congelé (des feuilles, des tronçons de rameaux écorcés ou non, de bourgeons, de fleurs, etc...).
- Découpe, mise en sachet ou en fiole, congélation et lyophilisation.
- Préparation et extraction des acides nucléiques et stockage à l'état congelé (ADN, ARN) selon le protocole préconisé et conservation à l'état congelé (température inférieure ou égale à -18°C).
- Préparation et extraction des acides nucléiques destiné à séquençage haut débit (ADN, ARN) selon le protocole préconisé et stockage à l'état congelé (température proche de -80°C).

2- Conditionnement des échantillons

Principe général

Utiliser des conditionnements hermétiques individuels avec air chassé au maximum, eux-mêmes placés dans un deuxième conditionnement hermétique pour éviter tout risque d'échappement.

Placer en boîte isotherme ou en emballage rigide non isotherme (cas par exemple de matériel végétal lyophilisé ou déshydraté par un autre procédé).

Le matériel végétal doit voyager à plat dans la mesure du possible et être calé dans l'emballage.

En cas d'utilisation de blocs froid congelés, le matériel végétal ne doit pas être en contact direct avec les blocs.

Conditionnement des rameaux

Placer les rameaux individuellement dans du papier journal, puis en sachet hermétique zippé (ou équivalent) avec air chassé au maximum, le tout dans un deuxième sachet hermétique.

Placer en boîte isotherme avec un ou plusieurs blocs froids congelés dans le cas de transport de longue durée (supérieur à 48 h).

Conditionnement des feuilles et autres pièces végétales

Pièces végétales à l'état frais

- Dans des conditions de température ambiante de courte durée (24 h) à température extérieure modérée (20 à 25°C maximum), il est possible d'organiser un transport à température ambiante. Placer les pièces végétales à plat, en sachet hermétique zippé (ou équivalent) et air chassé au maximum, le tout dans un deuxième sachet hermétique. Placer en boîte isotherme avec un ou plusieurs blocs froids congelés.
- Dans des conditions de température ambiante de courte durée (24 h) à température extérieure élevée (supérieure à 25°C) ou de 48 h à température extérieure modérée (20 à 25°C maximum), organiser un transport à température contrôlée en froid positif de préférence pour des pièces végétales fragiles (par exemple : feuilles non vernissées). Pour des pièces végétales moins fragiles (par exemple : feuilles d'agrumes), il est possible d'organiser un transport à température ambiante. Dans tous les cas, placer les pièces végétales à plat, en sachet hermétique zippé (ou équivalent) et air chassé au maximum, le tout dans un deuxième sachet hermétique. Placer en boîte isotherme avec un ou plusieurs blocs froids congelés.
- Pour un transport de longue durée (entre 2 et 4 jours maximum), organiser un transport à température contrôlée en froid positif pour des pièces végétales fragiles ou à température ambiante pour des pièces végétales moins fragiles (par exemple : feuilles d'agrumes). Placer les pièces végétales à plat, de préférence de manière non chevauchante pour éviter les macérations, en sachet hermétique zippé (ou équivalent) et air chassé au maximum, le tout dans un deuxième sachet hermétique et transporter en boîte isotherme avec systématiquement un ou plusieurs blocs froids congelés. Au-delà de 4 jours de transport, malgré les précautions, les pièces végétales fraîches moins fragiles ne peuvent pas être transportées à température ambiante.

Pièces végétales lyophilisées ou déshydratées par un autre procédé

- Fermer hermétiquement et veillez à l'étanchéité parfaite des conditionnements fioles ou sachets (par exemple : thermosouder les sachets). Placer le tout dans un sachet hermétique et transporter en boîte rigide à température ambiante.

Pièces végétales découpées et conservées

- Le transport doit systématiquement être organisé à l'état congelé (température contrôlée ou carboglace) dans le conditionnement dans lequel elles ont été préparées. Veiller à l'étanchéité des conditionnements (par exemple : thermosouder les sachets). Placer le tout dans un sachet hermétique et transporter en boîte isotherme avec systématiquement un ou plusieurs blocs froids congelés ou dans la carboglace.

Extraits d'acides nucléiques

- Les extraits d'ADN peuvent être transportés à température ambiante pour une durée maximum de 4 jours. Les extraits doivent être transportés en microtubes fermés et parafilmés. Placer le tout dans un sachet hermétique et transporter en boîte rigide avec un ou plusieurs blocs froids congelés.
- Pour un transport supérieur à 4 jours, les extraits d'ADN doivent être transportés à température contrôlée en froid positif ou négatif et transportés en boîte isotherme avec un ou plusieurs blocs froids congelés. Ils peuvent également être transportés précipités dans l'éthanol et transportés en microtubes fermés et parafilmés, le tout dans un sachet hermétique et transportés en boîte rigide.
- Les extraits d'ARN peuvent être transportés à température contrôlée en froid positif pour un transport maximum de 24h ou de préférence à température contrôlée en froid négatif ou en froid négatif. Les extraits

doivent être transportés en microtubes fermés et parafilmés. Placer le tout dans un sachet hermétique et transporter en boîte isotherme avec un ou plusieurs blocs froids congelés.

- Les extraits d'ARN peuvent être transportés à température ambiante. Les extraits doivent alors être précipités dans l'éthanol et être transportés en microtubes fermés et parafilmés. Placer le tout dans un sachet hermétique et transporter en boîte rigide.
- Les extraits d'ARN ou ADN destinés au séquençage haut débit doivent impérativement être transportés en carboglace (microtubes ou plaques).

Identification

Chaque sachet, tube ou fiole, etc... doit être clairement identifié. Si plusieurs conditionnements issus du même arbre ou de la même plante sont regroupés dans un deuxième conditionnement unique, l'identification peut n'être portée que sur ce dernier.

Les identifications doivent être uniques et correspondre aux identifications des demandes d'analyses. Si tel n'était pas le cas, proposer un document établissant les correspondances entre identifications.

Conservation en attente d'expédition

Les échantillons frais en attente d'expédition doivent être gardés réfrigérés (température d'environ 5°C) le plus longtemps possible avant fermeture du colis.

Les échantillons déjà congelés en attente d'expédition doivent être gardés congelés (température inférieure ou égale à -18°C) le plus longtemps possible avant fermeture du colis.

3- Documents officiels : Fiches de demande d'analyse, LOA, ...

Placer l'original endossé (signé des deux parties) de la LOA (si celle-ci nécessaire) ainsi qu'une copie des fiches de demande d'analyse officielle à l'extérieur du colis de manière à ce qu'elles soient visibles.

L'original des fiches de demandes d'analyses doit être placé à l'intérieur ou envoyé par courriel.

Dans le cadre des analyses officielles, les échantillons circulent sous cadre dérogatoire prévu par le Code Rural et de la Pêche Maritime (CRPM) et sont exemptés de LOA (article 7 du règlement 2019/829) y compris pour les DROM, non considérés comme des pays tiers au sens du Règlement Contrôles Officiels 2017/625.

4- Transport et documents de transport

Livraison

Le transport doit être organisé de manière à ce que la livraison soit effective entre le lundi et le vendredi 10h à l'unité de Quarantaine, en dehors des jours fériés français et entre le lundi et le jeudi 10h si le vendredi est férié en France.

Bon de transport - Attestation de valeur / factures pro-forma

Selon le transporteur choisi, ces documents peuvent être générés directement sur le site internet du transporteur (de préférence) à partir du bon de transport, ou, à défaut, à rédiger par l'expéditeur.

Ils doivent être placés à l'extérieur du colis en plusieurs exemplaires (nombre variable selon le transporteur) et facilement accessibles des différents services.

Ils doivent comporter a minima nom et adresse de l'expéditeur et du destinataire, le descriptif exact du contenu, les codes douaniers des marchandises (ici, échantillons), les quantités, les informations de taille et de poids de chaque, le prix associé aux marchandises (échantillons) (valeur 5 € minimum pour l'ensemble du colis) et l'INCOTERM.

Par exemple incoterm DDP « Delivered Duty Paid » ou « rendu droits acquittés » : pour cet INCOTERM la totalité des frais (transport + douane) étant réglés par le demandeur du transport.

Dans le cas de transport d'échantillons pour analyses, il est opportun de préciser l'objectif.

par exemple : analyses officielles dans le cadre du règlement contrôles officiels 2017/625 et destructives et d'informer que l'ouverture du colis doit se faire uniquement dans le laboratoire confiné du destinataire.

Informations relatives à l'Anses- Laboratoire de la santé des végétaux-Unité de Quarantaine

Numéro EORI : FR13001202400183

SIRET : 13001202400183

TVA intracommunautaire : FR54130012024

This document provides instructions for taking, preparing and sending samples to the Quarantine Unit of the Anses - Plant Health Laboratory. These instructions are applicable in the absence of or in addition to specific instructions from an official regulatory document or an official method.

1- Plant material sampling and sample preparation

The quality of the sampling and the conditions under which it is transported to the preparation site, preparation and storage before dispatch are essential to ensure optimum sample quality before it is transported to the laboratory. To ensure sanitary precautions, samples should be taken and sent free of soil (or other substrate), insects, mites, fungi or any other biotic agent, and care should be taken to avoid inter-sample contamination.

Samples should be taken from symptomatic parts.

The plant material taken must not be senescent or necrotic.

Samples should be taken in dry conditions (if necessary, the plant material should be dried).

Samples should be transported in a cool box with frozen blocks, then stored in a refrigerator (at a temperature of around 5°C) pending preparation and dispatch.

Samples

Leaves

Leaves should be taken with petioles.

4 to 5 medium-sized leaves are sufficient to generate a mass of 'leaves' usable for the laboratory of approximately 1 g.

7 to 8 medium-sized leaves are sufficient to generate a mass of veins/petioles usable for the laboratory of around 1 g.

These mass estimates are given for peach or plum and citrus leaves.

Twigs

30 to 40 cm of twigs with a diameter of approximately 8 to 10 mm are sufficient to generate a mass of bark usable for the laboratory of approximately 2 g (estimate given for citrus twigs).

30 to 40 cm of twigs with a diameter of approximately 8 to 10 mm are sufficient to generate a mass of phloem usable for the laboratory of approximately 1 g (estimate given for twigs of fruit trees other than citrus trees).

Other plant parts

In the case of buds, flowers or other plant parts, the mass of a given quantity is extremely dependent on the plant species. It is advisable to use a field scale giving the approximate mass to take the minimum mass required.

Preparation of plant material

Depending on the requirements of official or in-house quarantine methods, plant material may require different levels of preparation.

For example

- Removal of leaves, thorns and, if necessary, shortening of branches for transport.

- Cutting, bagging (or equivalent) and refrigerated or frozen storage (of leaves, sections of branches, debarked or not, buds, flowers, etc.).

- Cutting, bagging, freezing and freeze-drying.

- Preparation and extraction of nucleic acids and storage in the frozen state (DNA, RNA) according to the recommended protocol and storage in the frozen state (temperature less than or equal to -18°C).

- Preparation and extraction of nucleic acids for high-throughput sequencing (DNA, RNA) according to the recommended protocol and storage in a frozen state (temperature close to -80°C).

2- Sample packaging

General principle

Use individual hermetically sealed containers with air expelled as far as possible, themselves placed in a second hermetically sealed container to avoid any risk of escape.

Place in an isothermal box or in rigid non-isothermal packaging (e.g. in the case of freeze-dried or otherwise dehydrated plant material).

The plant material should lie flat as far as possible and be secured in the packaging.

If frozen cold blocks are used, the plant material must not be in direct contact with the blocks.

Packing the branches

Place the twigs individually in newspaper, then in a hermetically sealed zip-lock bag (or equivalent) with air expelled as far as possible, then in a second hermetically sealed bag.

Place in an isothermal box with one or more frozen cold packs for long-term transport (more than 48 hours).

Packaging leaves and other plant parts

Fresh plant parts

- In conditions of short ambient temperature (24 h) at moderate outside temperature (20 to 25°C maximum), it is possible to organise transport at ambient temperature. Place the plant parts flat, in a hermetically sealed zip-lock bag (or equivalent), with as much air expelled as possible, all in a second hermetically sealed bag. Place in an isothermal box with one or more frozen cold packs.

- For short periods (24 h) at high outside temperatures (above 25°C) or for 48 h at moderate outside temperatures (20 to 25°C maximum), arrange for temperature-controlled transport in positive refrigeration, preferably for fragile plant parts (e.g. unglazed leaves). For less fragile plant parts (e.g. citrus leaves), it is possible to organise transport at room temperature.

In all cases, place the plant parts flat, in an airtight zip-lock bag (or equivalent) with as much air expelled as possible, all in a second airtight bag. Place in an isothermal box with one or more frozen cold packs.

- For long-term transport (between 2 and 4 days maximum), arrange transport at a controlled positive temperature for fragile plant parts or at room temperature for less fragile plant parts (e.g. citrus leaves). Place the plant parts flat, preferably not overlapping to avoid macerating, in an airtight zip-lock bag (or equivalent) with as much air expelled as possible, all in a second airtight bag and transport in an isothermal box, systematically including one or more frozen cold packs. After 4 days of transport, despite the precautions taken, the less fragile fresh plant parts cannot be transported at room temperature.

Plant parts freeze-dried or dehydrated by another process

- Close tightly and make sure that the vials or sachets are perfectly airtight (for example: heat-seal the sachets). Place in an airtight sachet and transport in a rigid box at room temperature.

Cut and preserved plant parts

- They should always be transported frozen (controlled temperature or dry ice) in the same packaging in which they were prepared. Make sure that the packaging is airtight (for example: heat-seal the sachets). Place everything in an airtight bag and transport in an insulated box with one or more frozen blocks or in dry ice.

Packaging of nucleic acid extracts

- DNA extracts can be transported at room temperature for up to 4 days. Extracts should be transported in sealed, parafilmed microtubes. Place in an airtight bag and transport in a rigid box with one or more frozen cold blocks.

- For transport over 4 days, DNA extracts should be transported at controlled temperature in positive or negative cold and transported in an isothermal box with one or more frozen cold blocks. They can also be transported precipitated in ethanol and transported in closed, parafilmed microtubes, all in an airtight bag and transported in a rigid box.

- RNA extracts can be transported at a controlled temperature in positive cold for a maximum of 24 hours or preferably at a controlled temperature in negative cold or negative cold. Extracts should be transported in closed, parafilmed microtubes. Place in an airtight bag and transport in an isothermal box with one or more frozen cold blocks.

- RNA extracts can be transported at room temperature. The extracts must then be precipitated in ethanol and transported in closed, parafilmed microtubes. Place in an airtight bag and transport in a rigid box.

- RNA or DNA extracts intended for high-throughput sequencing must be transported in dry ice (microtubes or plates).

Identification

Each sachet, tube or vial, etc. must be clearly identified. If several packages from the same tree or plant are grouped together in a single second package, the identification may appear only on the second package.

The identifications must be unique and correspond to the identifications on the analysis requests. If this is not the case, propose a document establishing the correspondence between identifications.

Storage pending shipment

Fresh samples awaiting dispatch should be kept refrigerated (at a temperature of approximately 5°C) for as long as possible before closing the package.

Frozen samples awaiting dispatch must be kept frozen (temperature less than or equal to -18°C) for as long as possible before closing the package.

3- Official documents : Analysis request form, LOA, ...

Place the endorsed original (signed by both parties) of the 'LOA' (=EU import permit) (if required) and a copy of the official analysis request forms on the outside of the parcel so that they are visible.

The original analysis request forms must be placed inside or sent by e-mail.

In the context of official analyses, samples circulate under the derogation provided for in the French Rural and Maritime Fishing Code (CRPM) and are exempt from LOA (article 7 of regulation 2019/829), including for the French overseas departments and territories, which are not considered third countries within the meaning of Official Controls Regulation 2017/625.

4- Transport and accompanying documents

Delivery

Transport must be organised in such a way that delivery takes place between Monday and Friday at 10 a.m. at the Quarantine Unit, outside French public holidays, and between Monday and Thursday at 10 p.m. if Friday is a public holiday in France.

Bill of lading - Statement of value / pro-forma invoices

Depending on the carrier chosen, these documents can be generated directly on the carrier's website (preferably) from the transport note, or, failing that, drawn up by the sender.

They must be placed on the outside of the parcel in several copies (the number varies depending on the carrier) and be easily accessible to the various departments.

They must include at least the name and address of the sender and recipient, an exact description of the contents, the customs codes of the goods (in this case, samples), the quantities, the size and weight of each item, the price associated with the goods (samples) (minimum value €5 for the whole package) and the INCOTERM.

For example Incoterm DDP 'Delivered Duty Paid': for this INCOTERM all costs (transport + customs) are paid by the party requesting the transport.

In the case of transport of samples for analysis, it is advisable to specify the purpose.

For example: official and destructive analyses within the framework of the official controls regulation 2017/625 and to inform that the package may only be opened in the recipient's confined laboratory.

Customs information relating to Anses- Plant Health Laboratory - Quarantine Unit

EORI number: FR13001202400183

SIRET : 13001202400183

Intracommunity VAT: FR54130012024