

Modalités de prélèvement et d'envoi

Chaque échantillon, identifié et référencé de façon unique, est mis en poche plastique individuelle fermée (par exemple « ziploc ») et envoyé au laboratoire, rapidement, en évitant un envoi la veille d'un jour férié ou de week-end. Pour des feuilles, les envelopper d'abord dans du papier sec, puis dans une poche plastique.

Les fragments morts, contenus dans un échantillon, seront écartés et non analysés (client prévenu).

En cas de remise d'un nombre important d'échantillons, prévenir le laboratoire au préalable. Si l'envoi est différé, un stockage en chambre froide est vivement conseillé. Les échantillons doivent parvenir au laboratoire moins de 15 jours après leur prélèvement (bois et racines), voire moins de 7 jours (pour les feuilles). Le prélèvement et l'envoi sont à la charge et sous la responsabilité du client.

Analyses virologiques par les méthodes ELISA

- ▶ Champs de pied-mères à analyser dans le cadre de l'autocontrôle sanitaire.
- ▶ En cas de symptômes de viroses sur les ceps :
 - Dégénérescence, feuilles jaunes, déformées en éventail, entre-nœuds raccourcis, rameaux fourchus ou aplatis ; feuilles enroulées, rougies ou jaunies prématurément ; coulure, millerandage, hétérogénéité de maturation ; marbrure sur les feuilles...
- ▶ **Attention !** Tout regroupement de matériel (issu de pieds ≠) dans un même échantillon risque de ne pas permettre la détection d'un fragment faiblement contaminé (notamment dans le cas des GLRaV-1 et GLRaV-2).

Analyses réalisables par le laboratoire :

Le tableau ci-dessous permet de respecter les consignes d'un prélèvement optimal.

Virus	Regroupement maximum acceptable par échantillon et époque de prélèvement		
	Feuilles	Racines	Bois aouité, rameaux verts
ArMV et/ou GFLV (*)	20 plants - 1 feuille / plant 2 ^e à 4 ^e feuille étalée printemps, automne	10 plants 10 cm long- Ø ≥ 3 mm plants dormants	10 plants 10 cm long- Ø ≥ 10 mm
GLRaV-1 et/ou GLRaV-3 (*)	15 plants 1 feuille adulte mature / plant fin d'été, automne	4 plants 10 cm long- Ø ≥ 3 mm plants dormants	10 plants 10 cm long- Ø ≥ 10 mm
GLRaV-2	5 plants 1 feuille adulte mature / plant fin d'été, automne	4 plants 10 cm long- Ø ≥ 3 mm plants dormants	5 plants 10 cm long- Ø ≥ 10 mm Sauf juin à mi-août
GLRaV-4 strains, GLRaV-4 strain 6 GFkV	Pas encore de consigne	Pas encore de consigne	Pas encore de consigne

Seuls les virus suivis d'un astérisque (*) font partie de la portée d'accréditation COFRAC.

Les méthodes utilisées pour les analyses ELISA sous accréditation sont la technique immuno-enzymatique décrite dans le MO 01 (dans lequel le mode de lecture en bichromatisme des plaques au spectrophotomètre et l'analyse des GLRaV-1 + 3 en mélange, ont été validés) ou la méthode officielle du LNPV VV/04/05 et le MOA 001, versions en vigueur.

En cas d'autocontrôle de pied-mères, se référer à la méthodologie de prélèvement ci-dessous, préconisée par FranceAgriMer (novembre 2015).

Nombre de souches de la parcelle unitaire	Taux de prélèvement pratique	Protocole
Moins de 200	100 %	Toutes les souches
De 200 à 350	50 %	Toutes les souches, un rang sur 2 ou une souche sur 2 tous les rangs
De 351 à 600	25 %	Une souche sur 2, un rang sur 2
De 601 à 1000	17 %	Une souche sur 3, un rang sur 2 ou une souche sur 2, un rang sur 3
De 1001 à 5500	11 %	Une souche sur 3, un rang sur 3
Plus de 5500	8 %	Une souche sur 3, un rang sur 4 ou Une souche sur 4, un rang sur 3

Analyses en biologie moléculaire

► En PCR directe, en bio-PCR ou en qPCR : flavescence dorée, bois noir, *Agrobacterium vitis* (sur vigne et terre), *Xylella fastidiosa*, *Xylophilus ampelinus*, *Trichoderma atroviride* I-1237, *Glomus intraradices*, GRBaV, GVA, GVB, GFkV, GPGV. Contacter le laboratoire pour plus d'informations. Certaines de ces analyses sont réalisables en conditions de quarantaine.

Des travaux d'identification variétale ou de séquençage de gènes d'intérêt sont réalisables sur vigne. Prélever de très jeunes feuilles, du bois vert ou aoûté sur un seul pied = 1 échantillon.

Contrôle de Mycorhization

La symbiose mycorhizienne à vésicules et arbuscules dans les racines est colorée puis observée au microscope. L'étendue et le stade de la colonisation mycélienne dans les fragments racinaires observés est évaluée, ainsi que la présence d'arbuscules (= échanges actifs entre la plante et le champignon) et, celle des vésicules (= structures de réserves et de propagation).

Le prélèvement se fait au niveau du chevelu racinaire (= fines racines secondaires **vivantes**). L'analyse porte sur 10 à 30 segments racinaires prélevés sur une seule plante.

Les racines sont enveloppées dans du papier humide, puis dans un sac plastique hermétique pour ne pas se dessécher. Le délai entre prélèvement et réception au laboratoire doit être < 5 jours pour ne pas fausser les résultats. Des plantes entières peuvent aussi être envoyées.

Documents à joindre aux échantillons

Nous tenons à votre disposition (sur le site du groupe ou sur demande au laboratoire), une demande d'analyses (E TECH 17) à remplir et à joindre aux échantillons sans être à leur contact direct (en pochette sur le côté du colis) ; ou indiquer sur papier libre :

- Coordonnées de l'entité commanditaire des analyses à qui elles seront facturées (nom, adresse, téléphone, mail) + signature.
- Coordonnées de l'entité chez qui le prélèvement a été fait.
- A qui transmettre les résultats.
- Nombre d'échantillons expédiés, cible(-s) à rechercher, regroupement éventuel de pieds prélevés dans un échantillon, date de prélèvement, liste récapitulative des échantillons ;
- Référence de parcelle si autocontrôle de pieds-mère.

Analyses d'échantillons de « Quarantaine »

► Ce sont des analyses ELISA, PCR ou qPCR sur des échantillons provenant de zones de quarantaine pour la recherche de virus ou de champignons.

- Pour l'envoi de tels échantillons, il est nécessaire de prendre contact au préalable avec le laboratoire afin de remplir une **LOA**, de la faire signer par la DRAAF/SRAL des Pays de Loire et, demander un **Certificat Phytosanitaire** auprès des autorités compétentes de la zone d'envoi.

► Aucun échantillon « **racine** », « **terre** » ainsi que de **rameaux non ébourgeonnés** de quarantaine n'est accepté. Pas de diagnostic d'un organisme nécessitant qu'il soit vivant, donc pas de bio-PCR.

Le catalogue de nos prestations est sur www.mercier-groupe.com

Horaires d'ouverture du laboratoire :

Le laboratoire est ouvert du lundi au jeudi de 8h15 à 17h30 et le vendredi de 8h15 à 16h30.

Attention aux délais d'acheminement ! : des échantillons qui arriveraient le samedi matin risqueraient de ne pas être conservés dans les conditions optimales durant le week-end ! Le matériel doit arriver en conditions de fraîcheur maximale afin de préserver la viabilité des cibles éventuelles qu'ils contiennent. Privilégier un envoi rapide !

Délai de réalisation des analyses :

Le laboratoire s'engage à restituer des résultats d'analyses virologiques dans les 28 jours après réception des échantillons au laboratoire, exception faite des périodes estivale et de fin d'année, ainsi que pour les dossiers de plus d'une centaine d'échantillons. Dans le cas d'analyses en biologie moléculaire, le délai est de 21 jours. Ces délais peuvent être rallongés en cas d'analyses de quarantaine. Quant au contrôle de mycorhization, il est préférable de contacter le laboratoire au préalable.

Le Manuel Qualité du laboratoire est disponible sur demande.

