



Ressources naturelles
Canada

Natural Resources
Canada

*Centre de foresterie des Grands Lacs
Services de production d'insectes*

Procédure opérationnelle normalisée

Numéro de PON: SPI/012/002

Élevage d'Choristoneura occidentalis



Date d'entrée en vigueur : 5 mars 2015

Canada



TITRE : Élevage d'Choristoneura occidentalis (Co)

APPROUVÉE PAR :

Gestionnaire des Services de production d'insectes _____ JJ/MM/AA
_____/_____/____

MODIFICATIONS IMPORTANTES DEPUIS LA DERNIÈRE VERSION :

- Tous les formulaires associés à la présente PON ont été révisés.
- La date d'élimination des souches à diapause est passée à 37 semaines.
- Le calendrier d'élevage de Co est dorénavant officiel et prend la forme d'un formulaire.
- La procédure de stérilisation superficielle des nymphes a été ajoutée.

1.0 INTRODUCTION

1.1 Objectif

L'établissement de la présente procédure normale d'exploitation (PON) a pour objectif d'assurer que les procédures pertinentes à l'élevage de Co (tordeuse occidentale de l'épinette) sont mises en œuvre uniformément par le personnel de l'Unité de production d'insectes (UPI) et de réduire au minimum la propagation d'agents pathogènes et de contaminants microbiens dans et entre les colonies d'insectes.

1.2 Portée

Tous les membres du personnel de l'UPI observeront la présente PON pour l'élevage de Co.

1.3 Définitions

Copie contrôlée – Une copie d'une procédure opérationnelle normalisée (PON) distribuée à des employés sélectionnés du Centre de foresterie des Grands Lacs (CFGL) portant un numéro de copie unique et la signature datée du gestionnaire des Services de production d'insectes (SPI). Les copies contrôlées visent à garantir que les employés du CFGL suivent la version la plus récente des PON.

Date d'entrée en vigueur – La date à partir de laquelle les procédures indiquées dans une procédure normale d'exploitation (PON) doivent être mises en œuvre.

Enceinte de sécurité biologique (ESB) – Une enceinte de confinement de classe 2 conçue pour assurer la protection du travailleur et de l'échantillon. L'unité est conçue de telle manière que l'air ambiant passe par un filtre HEPA avant de passer dans l'aire de travail. Les particules en suspension dangereuses dégagées par les échantillons de l'aire de travail sont éloignées



du travailleur et l'air est recyclé dans la pièce après être passé dans un filtre HEPA. Ce type d'unité ne protège pas le travailleur contre les émanations chimiques.

Fiche signalétique (FS) – Une description sommaire d'un produit chimique, d'un réactif ou d'une substance préparée par le fabricant ou le fournisseur du produit. Cette description est exigée par la législation sur le SIMDUT afin d'informer les travailleurs des procédures requises pour travailler de manière sécuritaire avec cette substance.

Gestionnaire des Services de production d'insectes (SPI) – La personne ayant la responsabilité générale des activités de l'équipe des SPI.

Hotte à flux laminaire – Une enceinte de sécurité conçue pour protéger les échantillons, et non les travailleurs; elle est conçue de manière à ce que l'air de la pièce passe par un filtre HEPA avant de souffler sur l'espace de travail et de rentrer dans la pièce (c.--à--d. que l'air souffle directement vers le travailleur). Ce type d'enceinte ne convient pas au travail en présence de matières dangereuses.

Hotte chimique – Une enceinte de sécurité conçue pour protéger les travailleurs et non pas les échantillons; l'air de la pièce est tiré vers l'avant de l'enceinte, puis les vapeurs chimiques ou les particules atmosphériques dangereuses sont éloignées du travailleur et évacuées à l'extérieur de l'immeuble.

Laboratoire de contrôle de la qualité (CQ) – Un laboratoire d'analyse contrôlé par les Services de production d'insectes (SPI) et utilisé par l'Unité de contrôle de la qualité (UCQ) pour surveiller et contrôler la production, les processus et les produits de toutes les colonies d'insectes de l'Unité de production d'insectes (UPI) de même que pour mettre au point de nouvelles méthodes et procédures de CQ.

Laboratoire de mise au point de méthodes (MPM) – Une installation de recherche contrôlée par les Services de production d'insectes (SPI) et qui est utilisée exclusivement par l'Unité de production d'insectes (UPI) pour mettre au point de nouvelles méthodes d'élevage et pour établir de nouvelles colonies d'insectes.

Procédures opérationnelles normalisées (PON) – Directives décrivant les procédures administratives ou techniques de routine exécutées par les employés des Services de production d'insectes (SPI) ou par les utilisateurs de l'installation de quarantaines d'insectes (QI).

Superviseur de la production d'insectes – Un membre des Services de production d'insectes (SPI) exerçant une autorité de supervision sur les activités quotidiennes de l'insectarium.



Unité de contrôle de la qualité (UCQ) – Une unité de travail des Services de production d'insectes (SPI) constituée d'employés qui effectuent les essais de contrôle réguliers de la production, des processus et des produits et qui élaborent de nouvelles méthodologies de contrôle de la qualité (CQ) à l'appui des activités de l'Unité de production d'insectes (UPI).

Unité de production d'insectes (UPI) – Une unité de travail des Services de production d'insectes (SPI) constituée d'employés qui travaillent à des activités d'élevage d'insectes, d'élaboration de régimes alimentaires et de mise au point de méthodes au Centre de foresterie des Grands Lacs (CFGL).

1.4 Sécurité

- 1.4.1 L'équipement de protection individuelle (c.--à--d. un sarrau de laboratoire et des gants jetables résistants aux produits chimiques) est à porter pour la réalisation des activités décrites aux points **2.3 à 2.13**.
- 1.4.2 La manipulation d'adultes aura lieu dans une enceinte de sécurité biologique (ESB) ou une hotte chimique afin de protéger le travailleur.
- 1.4.3 Les consignes de sécurité énoncées dans les PON citées en référence sont à respecter.
- 1.4.4 Le personnel aura accès aux fiches signalétiques (FS) pour le formaldéhyde et l'hypochlorite de sodium (c.--à--d. l'eau de Javel) et en connaîtra le contenu.

1.5 Matériel

- 1.5.1 Équipement de protection :
 - (a) ESB de classe II
 - (b) sarrau de laboratoire
 - (c) gants jetables résistants aux produits chimiques
 - (d) hotte chimique
- 1.5.2 Fournitures et équipements :
 - (a) équipements et fournitures sanitaires précisés dans la version courante de la PON numéro SPI/009 : *Les responsabilités du personnel de l'UPI*
 - (b) produits consommables, dont les suivants : godets; couvercles non cirés; milieu nutritif ordinaire; gaze passée à l'autoclave; Parafilm[®], papier essuie-tout stérile; papier ciré Cut-Rite[®]; eau de robinet passée à l'autoclave; plateaux en papier; sacs en plastique transparent (en format de 2, 6 et 40 lb); flacons à bouchon à vis de format 50 ml; boîtes de Pétri; liens torsadés; sacs à ordures en plastique; sacs en papier; solution d'eau de Javel à 1 %; solution d'eau de Javel à 10 %
 - (c) balance analytique
 - (d) flacon pulvérisateur
 - (e) plateaux perforés en métal
 - (f) entonnoirs
 - (g) boîtes en plastique dont les trous d'aération sont couverts, pour la conservation des nymphes



- (h) boîtes en plastique dont les trous d'aération sont couverts, pour l'accouplement
 - (i) bacs d'éclosion munis de couvercles
 - (k) ciseaux stériles
 - (l) passoire
- 1.5.3 Formulaires :
- (a) Co – *Distribution* (formulaire des SPI numéro 0127/002, annexe 1)
 - (b) Co – *Étiquette de sac* (formulaire des SPI numéro 0129/002, annexe 2)
 - (c) Co – *Suivi* (formulaire des SPI numéro 0120/002, annexe 3)
 - (d) Co – *Éliminations* (formulaire des SPI numéro 0130/002, annexe 4)
 - (e) Co *L2 – Compte* (formulaire des SPI numéro 0128/002, annexe 5)
 - (f) Co – *Calendrier d'élevage* (formulaire des SPI numéro 0131/002, annexe 6)

2.0 PROCÉDURES

2.1 Procédure d'assainissement des installations

La procédure énoncée dans la version courante de la PON numéro SPI/009 : *Les responsabilités du personnel de l'UPI* est à respecter.

2.2 Documents relatifs à la distribution d'insectes

- 2.2.1 Aucune distribution d'insectes n'aura lieu avant la réception des résultats de l'analyse de contrôle de la qualité (CQ) par l'UPI et la détermination des insectes comme acceptables pour utilisation (reportez-vous au point **2.13**).
- 2.2.2 Seules les commandes de Co passées par des clients internes et externes par l'entremise du magasin en ligne des SPI seront acceptées (c.--à--d. que les demandes soumises par courriel standard ou par téléphone ne seront pas acceptées).
- 2.2.3 Le compte courriel de l'UPI sera vérifié tous les jours (à l'exception des fins de semaine et des jours fériés) pour la réception de commandes du magasin. Les commandes sont à imprimer et à estampiller « Reçue », puis à signer et à dater par le technicien qui reçoit la commande. La copie électronique est à conserver dans les archives électroniques selon qu'il s'agit d'un client interne ou externe. La copie imprimée est à placer dans la corbeille d'arrivée (étiquetée « commandes à remplir ») pertinente, selon qu'il s'agit d'un client interne ou externe. Tous les jours (à l'exception des fins de semaine et des jours fériés), chaque technicien de l'UPI vérifiera les corbeilles d'arrivée et le personnel chargé de le faire assurera l'expédition des commandes à la date demandée (en fonction de la disponibilité d'œufs). Après l'expédition, la commande imprimée est à estampiller « Expédiée », puis à signer et à dater par le technicien pertinent et ensuite, placée dans la corbeille de sortie (étiquetée « commandes



remplies ») pertinente, selon qu'il s'agit d'un client interne ou externe. À la fin de chaque mois, le personnel de l'UPI fera des photocopies des commandes remplies pour des clients externes (c'est-à-dire celles qui n'ont pas déjà été payées par carte de crédit) et les acheminera au service des finances de la CFGFL pour facturation selon la grille tarifaire courante. Toutes les copies imprimées de commandes remplies (pour des clients internes et externes) sont à verser dans les dossiers des UPI. La distribution de tout *Co* à des clients à l'interne et à l'externe du CFGFL est à consigner sur le formulaire *Co – Distribution* (formulaire des SPI numéro 0127/002, annexe 1). Un formulaire unique est à employer pour chacune des cohortes de toutes les générations et à verser dans les dossiers de l'UPI.

- 2.2.4 Les données suivantes sont à consigner sur chaque nouveau formulaire *Co – Distribution* :
- (a) le code d'identification de la cohorte
 - (b) le nombre total de larves en diapause dans la cohorte (calculé à partir du formulaire *Co – Suivi* [formulaire des SPI numéro 0120/002, annexe 3] de la génération précédente; le total comprend la descendance qui aurait pu être éliminée pour des raisons de CQ fournies par l'UCQ)
 - (c) le nombre de larves retenues aux fins du maintien de la colonie (nombre que l'UCQ aura fourni)
 - (d) le nombre de larves éliminées pour des raisons de CQ (nombre que l'UCQ aura fourni)
 - (e) le nombre de larves disponibles pour distribution (nombre calculé en soustrayant le nombre de larves retenues aux fins du maintien de la colonie et le nombre de larves éliminées pour des raisons de CQ du nombre total de larves en diapause)
- 2.2.5 Les larves pour distribution à des clients *externes* du CFGFL sont à expédier pendant la diapause (c.--à--d. que l'UPI ne fera pas l'élevage de larves pour des clients externes); toute expédition est à consigner dans la partie inférieure du formulaire *Co – Distribution*; les données à consigner comprennent les suivantes :
- (a) la date de distribution
 - (b) le nombre de larves au deuxième stade larvaire (L2) demandées
 - (c) le nombre de larves L2 distribuées (un surplus d'au moins 5 % est à fournir pour compenser la mortalité en cours de diapause)
 - (d) le nom du destinataire et son affiliation
- 2.2.6 Les larves pour distribution à des clients *internes* du CFGFL peuvent être distribuées en cours de diapause ou mises en milieu nutritif (tel qu'il est décrit au point **2.3**) et distribuées avant la destruction sélective (c.-à-d. que l'UPI ne fera pas le changement de milieu nutritif pour les clients); toute distribution est à consigner tel qu'il est décrit au point 2.2.7.



- 2.2.7 À la discrétion de l'UPI, les larves destinées à l'élevage pour distribution à des clients *internes* du CFGL peuvent être sorties de diapause (c.-à-d. après 20 à 37 semaines de diapause; la quantité et le jour de la semaine sont aussi à la discrétion de l'UPI); l'élevage des larves et la distribution subséquente à des clients *internes* sont à consigner tel qu'il est décrit dans la partie supérieure du formulaire Co – *Distribution*; les données à consigner comprennent les suivantes :
- (a) la date de sortie de diapause
 - (b) le nombre de larves sorties à la date de sortie de diapause ci-dessus; le nombre de larves sorties à la discrétion de l'UPI en fonction des demandes réelles ou prévues des clients
 - (c) le nombre de godets préparés (30 larves par godet) à la date précisée ci-dessus
 - (d) la précision du milieu nutritif dans lequel les larves ont été mises (p. ex., godets remplis à $\frac{3}{4}$ de milieu nutritif ordinaire, 27/09/05)
 - (e) la date à laquelle le client est venu chercher les insectes
 - (f) le nombre de godets que le client est venu chercher à cette date
 - (g) le nom du ou des destinataires
 - (h) le nombre de godets éliminés (c.-à-d. les godets préparés à la date précisée au point [a] ci-dessus, mais qui n'ont pas été distribués)
- Remarque : la somme du nombre total de godets que les clients sont venus chercher et du nombre total de godets éliminés doit être égale au nombre total de godets préparés.
- 2.2.8 Les larves en cours de diapause distribuées à des clients *internes* sont à consigner dans la partie inférieure du formulaire Co – *Distribution*; les données à consigner comprennent les suivantes :
- (a) la date de distribution
 - (b) le nombre de larves L2 demandées
 - (c) le nombre de larves L2 distribuées (un surplus d'au moins 5 % est à fournir pour compenser la mortalité en cours de diapause)
 - (d) le nom du destinataire
- 2.2.9 Les larves ne sont pas à distribuer après 37 semaines de diapause, à moins que le client en fasse la demande précise; le nombre de larves éliminées de chacune des cohortes de toute génération est à consigner (y compris la date) dans la partie inférieure du formulaire Co – *Distribution*.
- 2.2.10 Lors de la distribution ou l'élimination de tous les insectes de chacune des cohortes, le personnel de l'UPI examinera le formulaire Co – *Distribution* pour s'assurer que la somme de toutes les distributions et élimination de larves est égale au nombre de larves qui étaient disponibles. Le personnel de l'UPI cochera les cases dans la partie inférieure du formulaire pour confirmer que la somme correspond au nombre de larves disponibles, ou notera l'écart s'il est impossible de le résoudre. Le formulaire est à verser dans les dossiers de l'UPI.



- 2.2.11 Le nombre de larves éliminées de chaque génération est à déterminer et à consigner tel qu'il est précisé ci-dessous :
- (a) À la sortie de diapause de chaque cohorte de *Co*, il faut consigner les données ci-dessous dans le formulaire *Co – Éliminations* (formulaire des SPI numéro 0130/002, annexe 4) :
 - i) le code d'identification
 - ii) la date d'entrée en diapause
 - iii) la date de sortie de diapause
 - iv) le nombre total de larves au deuxième stade larvaire (L2)
 - v) le nombre de larves retenues aux fins du maintien de la colonie
 - vi) le nombre de larves éliminées pour des raisons de CQ
 - vii) le nombre de larves disponibles pour distribution
 - viii) la date d'élimination après 37 semaines
 - (b) Une fois le formulaire *Co – Distribution* rempli pour chacune des cohortes (tel qu'il est précisé aux points 2.2.1 à 2.2.10), les données suivantes sont à obtenir et à consigner sur le formulaire *Co – Éliminations* :
 - i) le nombre de larves distribuées en cours de diapause
 - ii) la date d'élimination réelle
 - iii) le nombre total de larves utilisées
 - iv) le nombre total de larves éliminées
 - v) le pourcentage de larves éliminées
 - (c) Un formulaire *Co – Éliminations* unique est à employer pour chaque génération et à verser dans les dossiers de l'UPI, une fois rempli.

2.3 Préparation des larves au deuxième stade larvaire (L2)

- 2.3.1 La descendance de chacune des cohortes dans une chambre d'accouplement aura été déterminée par l'UCQ pour *maintien de la colonie* ou *distribution* à des clients (reportez-vous au point **2.13**).
- 2.3.2 La descendance destinée au *maintien de la colonie* est à sortir de la chambre froide prévue pour la diapause à la date précisée au calendrier d'élevage de *Co* (reportez-vous au point **2.15**).
- 2.3.3 À la discrétion de l'UPI, la descendance à élever pour distribution à des clients internes du CFGFL peut être sortie de diapause (c.-à-d. après 20 à 37 semaines de diapause; la quantité et le jour de la semaine sont aussi à la discrétion de l'UPI); l'élevage des larves et la distribution à des clients *internes* sont à consigner tel qu'il est décrit au point 2.2.7 :
- 2.3.4 Les larves sont à mettre en milieu nutritif le jour même de la sortie de la diapause (jour 0; d'habitude le lundi).
- 2.3.5 Dans une enceinte de sécurité biologique (ESB), utilisez des ciseaux passés à l'autoclave pour couper les feuilles de gaze contenant des



larves L2 en morceaux, contenant environ 30 larves; coupez le Parafilm excédentaire et jetez-le.



Découpe des morceaux

- 2.3.6 Les morceaux sont à placer dans des godets contenant un milieu nutritif artificiel (remplis à $\frac{3}{4}$ de milieu nutritif ordinaire contenant du formaldéhyde et un fongicide en aérosol préparé depuis une semaine au maximum) et munis de couvercles en carton non ciré; les larves pour *distribution* peuvent être mises en milieu nutritif préparé selon la demande de l'utilisateur final.
- 2.3.7 Les morceaux de gaze contenant des larves L2 sont à placer de manière à ce que le côté en Parafilm soit en face du couvercle et que le côté en gaze soit face au milieu nutritif; les godets sont à maintenir sens dessus dessous sur les plateaux d'élevage, le couvercle vers le bas; des plateaux perforés en métal réutilisable serviront pour les larves destinées au *maintien de la colonie* et des plateaux en papier serviront pour les larves destinées à la *distribution*; les plateaux en métal ne doivent pas quitter les installations de l'UPI.
- 2.3.8 La partie supérieure du formulaire *Co – Suivi* (formulaire des SPIS numéro 0120/002, annexe 3) est à remplir en fournissant les données suivantes :
- (a) le code d'identification de la cohorte
 - (b) la date de sortie de diapause
 - (c) le nombre de semaines (+ les jours) en diapause
 - (d) le nombre de larves sorties de diapause
 - (e) le nombre de godets contenant environ 30 larves mises en milieu nutritif
 - (f) la précision du lot de milieu nutritif utilisé (p. ex., godets remplis à $\frac{3}{4}$ de milieu nutritif ordinaire, 27/09/05)
 - (g) les initiales de la personne ayant effectué la mise en milieu nutritif des larves
- 2.3.9 En tout temps, la feuille de suivi est à fixer à une planchette à pince conservée avec la cohorte pertinente.



- 2.3.10 Le milieu nutritif destiné à toute activité d'élevage de larves ne doit pas être conservé pendant plus de deux semaines avant de l'utiliser.
- 2.3.11 Les plateaux de larves sont à marquer du code d'identification de la cohorte et à conserver dans une chambre environnementale maintenue à 23 ± 3 °C, à une humidité relative (H.R.) de 55 ± 10 % et dont la photopériode est de 16L:8N; les larves aux fins du *maintien de la colonie* et pour *distribution* sont à conserver sur des tablettes différentes.



Larves aux fins du maintien de la colonie et pour distribution

- 2.3.12 Les larves pour *distribution* sont à distribuer avant la destruction sélective.

2.4 Destruction sélective

- 2.4.1 Seules les larves destinées au *maintien de la colonie* doivent faire l'objet de destruction sélective. Les larves pour *distribution* sont à distribuer avant la destruction sélective.
- 2.4.2 La destruction sélective aura lieu au jour 10 ou 11 (d'habitude le jeudi ou le vendredi), selon les besoins opérationnels.
- 2.4.3 Au moment de la destruction sélective et dans une ESB, les morceaux de gaze seront retirés des godets destinés au *maintien de la colonie*; les larves qui ne se sont pas émergées seront retirées de la gaze; les morceaux de gaze dans les godets pour *distribution* ne sont pas à retirer.
- 2.4.4 Les morceaux de gaze sont à conserver dans un sac en plastique étiqueté du code d'identification et congeler aux fins d'analyse par l'UCQ.
- 2.4.5 La case dans la partie supérieure du formulaire Co – *Suivi* (formulaire des SPI numéro 0120/002, annexe 3) est à cocher pour indiquer que les morceaux ont été placés dans le congélateur pour une analyse de CQ ultérieure.
- 2.4.6 Dans une ESB, on procède à la destruction sélective des larves pour qu'il n'y ait que six larves par godet (rempli à $\frac{3}{4}$ de milieu nutritif



ordinaire contenant du formaldéhyde et un fongicide en aérosol préparé depuis deux semaines au maximum), les godets étant à maintenir à l'envers (couvercle vers le bas); si la préparation des morceaux a été retardée d'un jour en raison d'un jour férié, la destruction sélective peut être reportée d'un jour; si le temps manque, la destruction sélective peut avoir lieu sur deux jours consécutifs; les larves lentes à se développer sont à éliminer.



Destruction sélective

- 2.4.7 Si le développement d'une cohorte hebdomadaire entière est retardé, la destruction sélective peut être reportée; l'UCQ doit en être informé.
- 2.4.8 Les godets contenant des larves mortes sont à retirer du processus d'élevage (c'est-à-dire que les larves vivantes dans ces godets ne doivent pas être conservées); après avoir manipulé des larves mortes ou contaminées, remplacez les pinces par des pinces stériles et changez de gants.
- 2.4.9 En présence de dix godets ou plus contenant des larves mortes, ces godets sont à placer dans un sac en plastique étiqueté du code d'identification et à congeler pour une analyse de CQ ultérieure; la case dans la partie supérieure du formulaire *Co – Suivi* est à cocher pour indiquer que les godets ont été mis au congélateur; lorsqu'il y a moins de dix godets contenant des larves mortes, ces godets sont à placer dans un contenant fermé (p. ex., un sac en plastique scellé) aux fins d'élimination et aucune documentation supplémentaire n'est nécessaire.
- 2.4.10 La partie supérieure de la feuille de suivi est à remplir pour indiquer la date de la destruction sélective, le nombre de godets acceptables pour le *maintien de la colonie*, préciser le lot de milieu nutritif utilisé (p. ex., godets remplis à $\frac{3}{4}$ de milieu nutritif ordinaire, 27/09/05) et inscrire les initiales de la personne (ou des personnes) ayant effectué la destruction sélective.
- 2.4.11 Les godets colonisés par des champignons sont à retirer du processus d'élevage (ne conservez pas les larves vivantes dans ces godets) et la contamination est à noter sur le formulaire *Co – Suivi* à n'importe quel



endroit; l'UCQ est à informer si la contamination fongique est problématique.

- 2.4.12 Un ensemble de larves de chacune des cohortes peut être demandé périodiquement (p. ex., toutes les dix générations) par l'UCQ aux fins du maintien d'un dossier historique du profil d'ADN; au moment de la demande, l'UCQ fournira des directives que l'UPI est tenue de suivre.

2.5 Récolte des nymphes

- 2.5.1 Les larves feront l'objet d'un contrôle quotidien afin d'observer le début de la pupaison; les godets sont à mettre à l'endroit (c.-à-d. les couvercles vers le haut) au stade de la prépupaison; le début de pupaison aura probablement lieu au jour 22 (le mardi).
- 2.5.2 Une fois que le nombre en est important, les nymphes sont à récolter (dans une ESB) en deux séances séparées d'environ quatre jours; la date des séances de récolte sera à la discrétion de l'observateur, quoique la première récolte ait normalement lieu au jour 24 (d'habitude le jeudi) et la deuxième récolte, au jour 28 (d'habitude le lundi).



Récolte des nymphes

- 2.5.3 Lors de chaque séance de récolte, les godets contenant des larves mortes, des nymphes mortes et les godets colonisés de champignons sont à retirer du processus d'élevage (ne conservez pas les larves et les nymphes vivantes de ces godets); après avoir manipulé des insectes morts ou contaminés, remplacez les pinces par des pinces stériles et changez de gants; les nymphes récoltées de chacun des godets sont à placer dans un contenant temporaire afin de pouvoir déterminer la mortalité, ou la contamination fongique d'un godet, avant que les insectes ne soient intégrés aux autres de la cohorte; en présence de dix godets ou plus contenant des insectes morts, ces godets sont à placer dans un sac en plastique étiqueté du code d'identification et à congeler pour une analyse de CQ ultérieure; en présence de moins de dix godets contenant des insectes morts, ces godets sont à placer dans un contenant fermé (p. ex., un sac en



- plastique scellé) pour élimination et aucune documentation supplémentaire n'est nécessaire.
- 2.5.4 Lorsque des godets colonisés de champignons sont détectés et, ensuite, retirés, la contamination est à noter sur le formulaire *Co – Suivi* (formulaire des SPI numéro 0120/002, annexe 3) à n'importe quel endroit; l'UCQ est à informer si la contamination fongique est problématique.
- 2.5.5 Lors de la première séance de récolte, les larves restantes sont à transférer à un godet contenant un milieu nutritif frais (six larves par godet; godets remplis à $\frac{3}{4}$ de milieu nutritif ordinaire contenant du formaldéhyde et un fongicide en aérosol préparé depuis deux semaines au maximum).
- 2.5.6 Les larves qui ne se sont pas nymphosées au moment de la deuxième séance de récolte sont à éliminer (après être détruites par congélation ou dans l'autoclave).
- 2.5.7 Les nymphes obtenues lors de chaque séance de récolte sont à regrouper en fonction du sexe (les mâles ont quatre anneaux abdominaux derrière les ébauches alaires alors que les femelles en ont trois); les nymphes de taille inférieure à la norme ou déformées sont à éliminer le jour de la récolte; les nymphes sont à observer visuellement; seules les nymphes dont le poids est mis en doute sont à peser individuellement et à éliminer si le poids est inférieur à 70 mg (pour les mâles) ou à 100 mg (pour les femelles); le tri des nymphes aura lieu dans une ECB, mais, pour réaliser la pesée, il se peut que la table de laboratoire soit nécessaire; avant d'éliminer des nymphes, il faut d'abord les détruire par congélation ou dans l'autoclave.



Pesée des nymphes

- 2.5.8 La partie au milieu du formulaire *Co – Suivi* est à remplir après chaque séance de récolte en fournissant les données suivantes :
- la date de la récolte
 - le nombre retenu de nymphes mâles et de nymphes femelles



- (c) le nombre éliminé de nymphes mâles et de nymphes femelles
 - (d) le nombre de godets contenant des larves ou des nymphes mortes
 - (e) si, oui ou non, des godets contenant des nymphes mortes ont été mis au congélateur pour une analyse de CQ ultérieure
 - (f) les initiales de la personne ayant fait la récolte des nymphes
- 2.5.9 À la fin de la dernière séance de récolte, la partie au milieu du formulaire *Co – Suivi* est à remplir en fournissant les données suivantes :
- (a) le nombre total de mâles retenus (pour les deux séances de récolte)
 - (b) le nombre total de femelles retenues (pour les deux séances de récolte)
 - (c) le calcul de 75 % des mâles aux fins d'accouplement
 - (d) le calcul de 75 % des femelles aux fins d'accouplement

2.6 Stérilisation superficielle des nymphes

- 2.6.1 La stérilisation superficielle des nymphes est à effectuer dans une ESB ou une hotte chimique dans les deux jours suivants la deuxième séance de récolte. Placez les nymphes (regroupées selon le sexe et la séance de récolte) dans un bécher de format 1L, rempli à moitié d'une solution d'eau de Javel à 10 % (reportez-vous au point 2.16.2). Enfilez un gant et submergez les nymphes complètement afin d'assurer le contact entier avec la solution d'eau de Javel. Laissez tremper les nymphes pendant 10 minutes en les submergeant de la main au moins deux fois pendant l'intervalle de 10 minutes afin de libérer les bulles d'air et d'assurer le contact entier avec la solution d'eau de Javel.



Stérilisation superficielle des nymphes

- 2.6.2 Le contenu du bécher est à verser dans une passoire stérile pour séparer les nymphes de la solution d'eau de Javel; faute d'espace ou de drain dans l'enceinte ou la hotte, la décantation et le rinçage subséquent peuvent être réalisés sur la table de laboratoire.



Séparation des nymphes de la solution d'eau de Javel

- 2.6.3 Les nymphes sont à remettre dans le béccher rempli d'un litre d'eau de robinet passée à l'autoclave et à la température de la pièce; submergez-les de nouveau dans l'eau pendant environ 10 secondes et, ensuite, séparez-les à l'aide de la passoire.
- 2.6.4 Répétez l'étape décrite au point 2.6.3 (pour un total de deux rinçages). À l'aide de la passoire, séparez les nymphes, déposez-les sur un plateau stérile en métal (doublé de papier essuie-tout stérile) et laissez-les sécher dans une ESB pendant environ une heure.



Séchage des nymphes après la stérilisation superficielle

- 2.6.5 Transférez les nymphes (regroupées selon le sexe et la séance de récolte) dans des boîtes d'éclosion des adultes doublées de papier essuie-tout stérile et dont vous avez couvert les trous d'aération grillagés de papier essuie-tout stérile à l'aide de ruban adhésif (le papier essuie-tout prévient la propagation potentielle de contaminants microbiens dont les écailles des ailes sont porteuses et qui, autrement, passeraient à travers le grillage). Pour faciliter la manipulation et réduire au minimum l'accumulation d'humidité, le nombre maximal de nymphes dans une boîte est de 150.



- 2.6.6 Les boîtes d'éclosion sont à étiqueter selon le code d'identification, la séance de récolte et le sexe; les nymphes sont à conserver dans une chambre environnementale maintenue à 23 ± 3 °C, à une humidité relative (H.R.) de 55 ± 10 % et dont la photopériode est de 16L:8N jusqu'à l'éclosion des adultes.

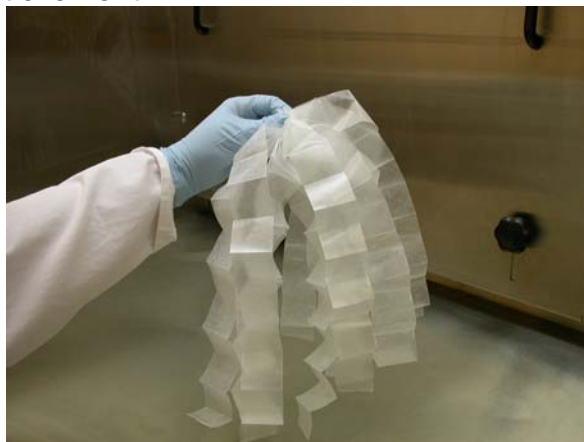


Boîtes d'éclosion des adultes

- 2.6.7 Les boîtes d'éclosion sont à examiner une fois par jour pour l'apparition des adultes; si l'accumulation de méconium et d'écaillés d'ailes devient trop importante, il faut remplacer le doublage en papier essuie-tout.

2.7 Accouplement

- 2.7.1 Les chambres d'accouplement sont à monter le jour où on en fait usage (le substrat d'oviposition peut être préparé et mis en réserve au préalable); chacune des chambres consistera en un sac en plastique transparent en format de 40 lb contenant un substrat d'oviposition, fait de papier ciré (légèrement humecté d'eau de robinet passée à l'autoclave) et gonflé d'air filtré, puis fermé à l'aide d'un lien torsadé.
- 2.7.2 Le substrat d'oviposition consistera en trois ensembles de cinq bandelettes de papier ciré (4 cm x 40 cm; de la marque Cut-Rite®) agrafées ensemble à une extrémité, plissées (plis de 3 cm) et, ensuite, lissées partiellement.



Bandelettes de papier ciré



- 2.7.3 À mesure que les adultes éclosent, ils sont à transférer (dans une hotte chimique ou une ESB) dans une chambre d'accouplement.
- 2.7.4 Les adultes sont à réfrigérer pendant 10 minutes et à environ 4 °C afin de les ralentir avant le transfert dans la chambre d'accouplement.



Placement des adultes dans le couvercle de la boîte d'éclosion pour transfert dans une boîte d'accouplement



Transfert des adultes dans une chambre d'accouplement

- 2.7.5 Les adultes placés dans chacune des chambres d'accouplement peuvent être issus de récoltes de nymphes de dates différentes, mais seulement d'une même cohorte bimensuelle; il ne faut pas mettre ensemble des adultes de cohortes bimensuelles différentes.
- 2.7.6 Chaque chambre d'accouplement sera établie en y intégrant 100 femelles nouvellement émergées et 100 mâles âgés d'un à deux jours.
- 2.7.7 L'établissement des chambres d'accouplement (maximum de 10) se poursuit jusqu'à ce que les premiers adultes, jusqu'à environ 75 % des deux sexes, y soient intégrés (c.-à-d. que seulement les adultes qui émergent les premiers serviront à l'accouplement en raison de la possibilité que les individus accusant un retard de développement soient malades); étant donné l'éclosion décalée des nymphes,



l'établissement des chambres d'accouplement aura normalement lieu sur une période de trois à quatre jours.

- 2.7.8 Lorsque le nombre d'adultes est insuffisant pour établir une chambre d'accouplement au complet en une séance, le sac peut être complété le jour suivant (le temps d'établissement de chaque sac est d'un maximum de deux jours, mais de préférence d'un jour); les chambres d'accouplement partiellement établies sont à conserver dans la chambre environnementale de plain-pied maintenue à 23 ± 3 °C, à une humidité relative (H.R.) de 55 ± 10 % et dont la photopériode est de 16L:8N pendant 24 heures au maximum, jusqu'au moment où il y a un nombre suffisant d'adultes pour compléter le sac.
- 2.7.9 Une fois l'établissement terminé et encore une fois au jour 3, l'intérieur de chacune des chambres d'accouplement est à humecter d'eau de robinet passée à l'autoclave. Immédiatement après avoir rempli des flacons vaporisateurs d'eau passée à l'autoclave, il faut y inscrire la date. Les flacons sont à remplacer au moins une fois par semaine.



Humectage des chambres d'accouplement

- 2.7.10 Notez les données suivantes sur chacune des chambres d'accouplement :
- (a) le code d'identification
 - (b) le numéro séquentiel du sac
 - (c) la date du début du sac
 - (d) la date à laquelle d'autres adultes sont ajoutés
 - (e) le nombre d'individus des deux sexes ajoutés lors de chaque date
- 2.7.11 Une fois établies, les chambres d'accouplement sont à conserver dans une chambre environnementale maintenue à 23 ± 3 °C, à une humidité relative (H.R.) de 55 ± 10 % et dont la photopériode est de 16L:8N.



Chambre d'accouplement établie

- 2.7.12 Lors de la préparation de chaque chambre d'accouplement, la partie supérieure du formulaire *Co – Suivi* (formulaire des SPI numéro 0120/002, annexe 3) est à remplir en fournissant les données suivantes :
- (a) la date du début du sac
 - (b) les initiales de la personne qui commence le sac
 - (c) la date à laquelle on complète chacun des sacs
 - (d) les initiales de la personne qui complète le sac
- 2.7.13 La date d'établissement de chacune des chambres d'accouplement sera considérée comme *Jour 0* aux fins de la récolte en masse des œufs.
- 2.7.14 Après l'établissement de l'ensemble des chambres d'accouplement pour la cohorte bimensuelle, les coques de nymphose vides de la première boîte d'éclosion des adultes des deux sexes sont à transférer dans des flacons à bouchon à vis différentes de format 50 ml, portant une étiquette indiquant le code d'identification et le sexe, et à conserver pour une analyse de CQ ultérieure; lorsqu'il reste plus de coques de nymphose qu'il n'est possible de contenir dans un flacon, les restes peuvent être éliminés; la partie inférieure du formulaire *Co – Suivi* est à remplir pour indiquer que les coques de nymphose ont été congelées.

2.8 Récolte des masses d'œufs

- 2.8.1 La récolte des masses d'œufs aura lieu dans une ESB.
- 2.8.2 Les bandelettes de papier ciré sur lesquelles des masses d'œufs ont été pondues sont à récolter qu'une seule fois, cinq jours après l'établissement de la chambre d'accouplement (c.-à-d., cinq jours après



l'intégration de 100 paires complètes); vu la possibilité que les dix chambres d'accouplement soient établies sur une période de trois à quatre jours, la récolte des masses d'œufs et la stérilisation superficielle subséquente pourraient avoir lieu sur une période de trois à quatre jours; afin de minimiser le travail la fin de semaine, la récolte des masses d'œufs peut avoir lieu au jour 4 ou 6, quoique le jour 5 soit idéal.

- 2.8.3 Dans l'ESB (nettoyée avant et après la manipulation de chacune des chambres), les bandelettes de papier ciré sont à retirer de la chambre d'accouplement et à mettre de côté alors que le sac est refermé à l'aide d'un lien torsadé.



Récolte des œufs

- 2.8.4 Les adultes sont à récolter de chaque chambre d'accouplement et à conserver à part pour une analyse de CQ; secouez le sac pour que les adultes tombent dans un coin inférieur du sac, coupez le coin et à l'aide d'un grand entonnoir stérile, faites-les passer dans un flacon à bouchon à vis de format 50 ml sur laquelle on a inscrit le code d'identification et le numéro du sac (sinon, faites passer les adultes du haut du sac directement dans l'entonnoir).

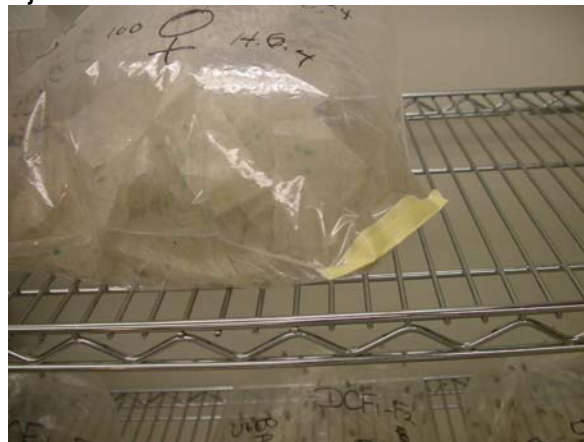


Préparation à la collecte d'adultes à des fins de CQ



Collecte d'adultes à des fins de CQ

- 2.8.5 Les adultes de chaque chambre d'accouplement sont à congeler jusqu'à leur transfert à l'UCQ pour analyse subséquente à la recherche d'agents pathogènes.
- 2.8.6 Dans une ESB, les bandelettes de papier ciré sur lesquelles des masses d'œufs ont été pondues sont à remettre dans les chambres d'accouplement d'origine respectives, les sacs fermés à l'aide d'un lien torsadé et le coin fermé à l'aide de ruban adhésif; les sacs sont ensuite placés sur la tablette en treillis métallique dans la chambre environnementale maintenue à 23 ± 3 °C, à une humidité relative (H.R.) de 55 ± 10 % et dont la photopériode est de 16L:8N pendant 24 heures, permettant ainsi aux œufs de durcir avant la stérilisation superficielle; la stérilisation superficielle des œufs récoltés au jour 6 aura lieu au jour de la récolte.



Durcissement des œufs

- 2.8.7 La partie inférieure du formulaire Co – Suivi (formulaire des SPI numéro 0120/002, annexe 3) est à remplir après la récolte des masses d'œufs (c.-à-d., la date à laquelle les adultes sont retirés) de chacune des chambres d'accouplement pour indiquer :
- (a) la date d'élimination des adultes



- (b) les initiales de la personne ayant fait la récolte des œufs
- 2.8.8 La personne chargée de la stérilisation superficielle subséquente des œufs (tel qu'il est décrit au point 2.9) doit inscrire ses initiales à l'endroit pertinent sur le formulaire *Co – Suivi*.

2.9 Stérilisation superficielle des masses d'œufs

- 2.9.1 Au préalable, les instruments de laboratoire en quantité suffisante (c.-à-d., un ensemble pour chaque chambre d'accouplement à défaire; reportez-vous à la photo ci-dessous) sont à préparer : emballez-les de papier d'aluminium, passez-les à l'autoclave et mettez-les sur la tablette jusqu'au moment de l'emploi.



Instruments de laboratoire pour la stérilisation superficielle des œufs

- 2.9.2 Les bandelettes de papier ciré sur lesquelles des masses d'œufs ont été pondues sont à retirer des chambres d'accouplement dans une ESB ou une hotte chimique (nettoyées avant et après l'ouverture de chaque chambre d'accouplement); enlevez les agrafes et conservez les bandelettes de papier ciré à part, en fonction de la chambre d'accouplement, dans des bécjers de format 2L, couverts de papier d'aluminium et marqués du code d'identification de la nouvelle génération (p. ex., la descendance de Co1-F₂ sera dorénavant identifiée du code Co1-F₃) et du numéro du sac.



Retrait des œufs de la chambre d'accouplement

- 2.9.3 Les masses d'œufs pondues sur la surface intérieure du sac sont à enlever en pliant le plastique ou en grattant la surface à l'aide de pinces; ajoutez les masses d'œufs aux autres de la même chambre d'accouplement.
- 2.9.4 La stérilisation superficielle de chaque béccher contenant des masses d'œufs est à faire successivement (et non pas simultanément); ne défaites pas les chambres d'accouplement et ne procédez pas à la stérilisation superficielle des œufs dans l'ESB tant que des lots antérieurs y sont suspendus pour sécher.
- 2.9.5 La stérilisation superficielle des masses d'œufs aura lieu dans une ESB, en ajoutant un litre de solution d'eau de Javel (reportez-vous au point 2.16.1) au béccher de format 2L.
- 2.9.6 Enfilez un gant et submergez les bandelettes de papier ciré afin d'assurer le contact entier entre les masses d'œufs et la solution d'eau de Javel.



Stérilisation superficielle des œufs

- 2.9.7 Laissez tremper les masses d'œufs pendant 10 minutes à la température de la pièce; submergez les bandelettes de papier ciré de



la main au moins deux fois pendant l'intervalle de 10 minutes afin de libérer les bulles d'air et d'assurer le contact entier avec la solution d'eau de Javel.

- 2.9.8 La solution d'eau de Javel est à décanter du bécber; pour prévenir des pertes, versez la solution en la faisant passer dans une passoire stérile afin de retenir les masses d'œufs détachées; faute d'espace ou de drain dans l'ESB, la décantation et le rinçage subséquent peuvent être réalisés sur la table de laboratoire.



Collecte des œufs détachés

- 2.9.9 Pour rincer les masses d'œufs, ajoutez un litre d'eau de robinet passée à l'autoclave au bécber et submergez les bandelettes de papier ciré de nouveau pendant environ 10 secondes.



Rinçage des œufs stérilisés superficiellement

- 2.9.10 L'eau de rinçage est à décanter et à remplacer, pour un total de trois rinçages; pour prévenir des pertes, versez l'eau en la faisant passer dans la passoire afin de retenir les masses d'œufs détachées.



Collecte définitive des œufs détachés

- 2.9.11 Dans une ESB ou une hotte à flux laminaire, suspendez les bandelettes de papier ciré auxquelles s'attachent des masses d'œufs d'une à deux heures; l'humidité relative ambiante de la salle de travail est à maintenir au-dessous de 50 % H.R. afin que les masses d'œufs sèchent suffisamment.



Bandelettes de papier ciré suspendues pour sécher

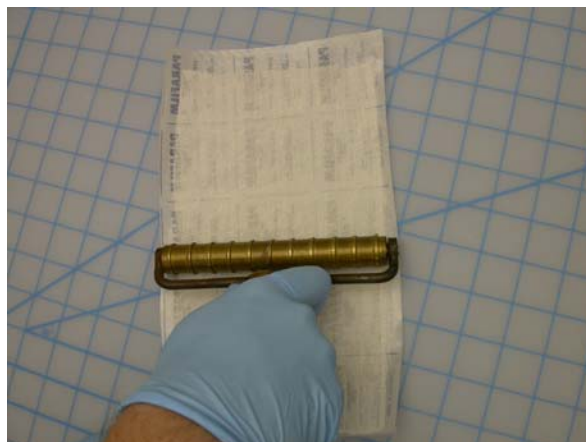
- 2.9.12 Les masses d'œufs détachées sont à placer sur du papier essuie-tout passé à l'autoclave surélevé (à l'aide d'un plateau perforé en métal posé sur la surface de la table) pour sécher dans l'ESB ou dans une hotte à flux laminaire; il est important de séparer ces masses d'œufs avant de les sécher; il faut s'assurer de bien faire l'étiquetage pour que les masses d'œufs soient regroupées selon le code d'identification et le numéro de la chambre d'accouplement.



Séchage des œufs

2.10 Éclosion des œufs

2.10.1 Le substrat de gaze ou de Parafilm (pour le tissage subséquent d'un hibernaculum par les larves nouvellement écloses) est à préparer avant la préparation du bac d'éclosion; la préparation aura lieu dans une ESB ou dans une hotte à flux laminaire; pour préparer la feuille supérieure et la feuille inférieure, faites adhérer des morceaux de gaze passés à l'autoclave de 5 po x 9 po à des morceaux de Parafilm de 16 po x 20 po (feuille supérieure) et de 6 po x 10 po (feuille inférieure) à l'aide d'un rouleau nervuré à main et d'un tapis de découpe souple; le substrat de gaze ou de Parafilm est à conserver dans des sacs en plastique scellés jusqu'au moment de les utiliser.



Gaze roulée sur Parafilm sur une planche de découpage

2.10.2 Les bacs d'éclosion (12 po x 18 po; passés à l'autoclave) sont à préparer pour chaque chambre d'accouplement dans une ESB ou une hotte à flux laminaire.



- 2.10.3 Fixez solidement la feuille inférieure de gaze/Parafilm au fond du bac (pour empêcher aux larves en éclosion d'aller en dessous) en traçant les bords exposés de Parafilm à l'aide de pinces et ensuite, en appuyant fermement dessus d'une main gantée.



Placement de la feuille inférieure de gaze/Parafilm dans le bac d'éclosion



Fixage de la feuille inférieure de gaze/Parafilm au bac d'éclosion

- 2.10.4 Dans une ESB ou une hotte à flux laminaire, pliez légèrement les bandelettes de papier ciré de chaque chambre d'accouplement (évités des plis prononcés; évitez d'écraser les œufs) et placez-les sur le côté dans le fond des bacs (sans qu'elles touchent la gaze ou le Parafilm).



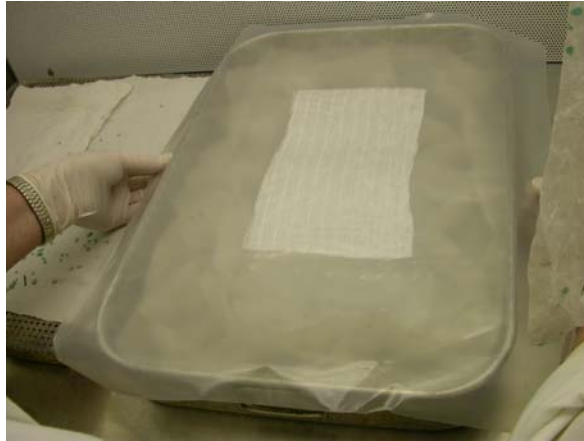
Mise en bac d'éclosion des bandelettes d'œufs

- 2.10.5 Les masses d'œufs détachées sont à placer individuellement dans les bacs (sans qu'ils touchent la gaze ou le Parafilm); les masses d'œufs d'une seule chambre d'accouplement sont à placer dans un même bac.



Mise en bac d'éclosion des œufs individuels

- 2.10.6 Dans l'ESB ou dans la hotte à flux laminaire, la feuille supérieure de gaze/Parafilm est à placer sur le dessus du bac, sans mettre de pression.



Placement de la feuille supérieure de gaze/Parafilm dans le bac d'éclosion

- 2.10.7 Le bac peut ensuite sortir de l'ESB ou de la hotte à flux laminaire. Pour sceller la feuille supérieure, étirez le Parafilm de manière à dépasser les bords du bac. Scellez d'abord les quatre côtés et, ensuite, les coins.



Scellage de la feuille supérieure au bac d'éclosion

- 2.10.8 Pour s'assurer que le bac est bien scellé, passez le bord d'un stylo ou d'un feutre le long du bord supérieur du bac.



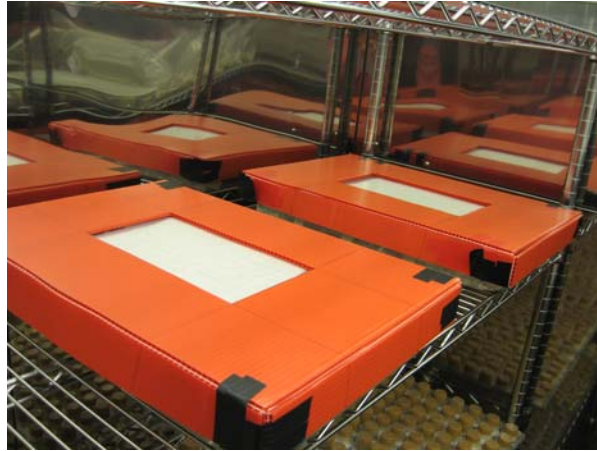
S'assurer du scellage de la feuille supérieure de gaze/Parafilm au bac d'éclosion

- 2.10.9 Chaque bac est à marquer du code d'identification, du numéro de la chambre d'accouplement, de la date de préparation du bac ainsi que des dates dans 3 jours et dans 13 jours (c.-à-d., la date où les couvercles seront mis et la date où les Co L2 seront comptés). Les bacs d'éclosion sont à conserver dans une chambre environnementale maintenue à 23 ± 3 °C, à une humidité relative (H.R.) de 55 ± 10 % et dont la photopériode est de 16L:8N pendant 13 jours afin de permettre aux œufs d'éclore et aux larves de tisser un hibernaculum (pour un total de 14 jours depuis la récolte des œufs).



Bac d'éclosion établi

- 2.10.10 Après le délai de trois jours, chacun des bacs est à couvrir d'un couvercle en coroplaste (dans lequel on a fait une découpe de 5 po x 9 po).



Bacs d'éclosion dont les couvercles sont en place

- 2.10.11 La partie inférieure du formulaire *Co – Suivi* (formulaire des SPI numéro 0120/002, annexe 3) est à remplir après avoir préparé le bac d'éclosion de chacune des chambres d'accouplement pour indiquer la date de la préparation et les initiales de la personne qui l'a effectuée.
- 2.10.12 Tous les jours, à l'exclusion des jours fériés et les jours de repos lors desquels le personnel est absent des installations, les bacs dans la chambre environnementale sur les tablettes supérieures sont à échanger avec les bacs sur les tablettes inférieures.
- 2.10.13 Après les 13 jours d'éclosion et de tissage d'hibernacula, les larves obtenues de chaque bac sont à quantifier comme est décrit au point **2.11**; s'il n'y a pas suffisamment de temps pour faire le compte des larves au jour prévu, les bacs peuvent être laissés pendant encore deux ou trois jours et la durée de la période de prédiapause sera réduite du même nombre de jours.

2.11 Quantification des larves

- 2.11.1 Avant de compter les larves et avant de retirer le Parafilm, la feuille supérieure de gaze est à examiner pour la présence de champignons; si des taches fongiques au nombre de cinq et plus sont observées, les Co L2 dans le bac ne seront pas comptés (les Co L2 dans les bacs présentant moins de cinq taches fongiques seront comptés comme il est décrit aux points 2.11.2 à 2.11.5); le bac contaminé est à mettre de côté et défait dans une ESB ou une hotte chimique une fois que les bacs à faire l'objet d'un compte auront été analysés; les comptes de Co L2 pour les deux feuilles de gaze/Parafilm dans le bac contaminé (et les pertes dans le bac) sont à estimer visuellement; les directives précisées au point **2.12** pour la conservation et l'emballage des feuilles de gaze/Parafilm sont à suivre, à la seule exception suivante : les comptes sont à inscrire entre parenthèses et le niveau de



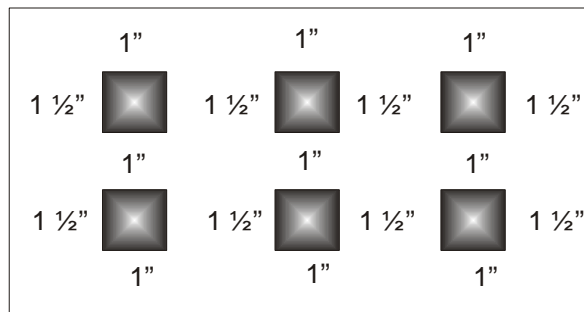
contamination fongique est à indiquer comme il est décrit au point **2.11.6**.

- 2.11.2 Le nombre moyen est à déterminer à l'aide d'une loupe à foyer fixe, à partir de six champs échantillons mesurant 1 po x 1 po sur chaque feuille supérieure de gaze.



Loupe pour le compte des larves de Co L2

- 2.11.3 Estimez visuellement l'emplacement des six champs échantillons selon les positions approximatives présentées dans le diagramme ci-dessous :



Emplacement des champs échantillons pour Co L2

- 2.11.4 Le nombre de larves dans chaque champ échantillon est à consigner sur le formulaire *Co L2 – Compte* (formulaire des SPI numéro 0128/002, annexe 5) de pair avec le code d'identification et le numéro du sac d'accouplement.
- 2.11.5 Faites les calculs suivants et inscrivez-les sur le formulaire :
- (a) le somme des comptes des six champs échantillons
 - (b) la moyenne des comptes des six champs échantillons
 - (c) une estimation du nombre de larves dans la feuille supérieure de 45 po^2 , en multipliant la moyenne par 45.
- 2.11.6 Dans l'ESB, la feuille couverture de gaze/Parafilm est à retirer pendant 20 minutes afin de permettre à l'excès d'humidité d'évaporer; le contenu du bac est à examiner pour la présence de contamination fongique, à classer en fonction de l'un des niveaux suivants :



Niveau 0 : Aucun signe visible de champignons sur un substrat (les masses d'œufs, le papier ciré ou la gaze)

Niveau 1 : L'un ou l'autre des éléments suivants :

- moins de 10 % des masses d'œufs sont contaminés
- traces sur le papier ciré
- deux taches fongiques ou moins sur la gaze (les deux feuilles)

Niveau 2 : L'un ou l'autre des éléments suivants :

- de 10 à 50 % des masses d'œufs sont contaminées
- en quantité considérable sur le papier ciré
- cinq taches fongiques ou moins sur la gaze (les deux feuilles)

Niveau 3 : L'un ou l'autre des éléments suivants :

- plus de 50 % des masses d'œufs sont contaminées
- en grande quantité sur le papier ciré
- plus de cinq taches fongiques sur la gaze (les deux feuilles)

Remarque : Les taches fongiques entre le niveau 2 et le niveau 3 seront classées de niveau 3; lorsque les niveaux de contamination fongique des deux feuilles dans un même bac sont différents, classez les deux feuilles du niveau supérieur.

- 2.11.7 Les Co L2 dans la feuille inférieure sont à compter (tel qu'il est précisé au point 2.10.7) seulement lorsque la contamination fongique du bac est de niveau 2 ou inférieur; lorsque la contamination fongique est de niveau 3, fermez le bac et mettez-le de côté dans l'ESB pour être défait après l'analyse des bacs restants pour le compte de larves; les deux feuilles de gaze/Parafilm du bac contaminé sont à conserver en les emballant et en les étiquetant selon les directives au point **2.12**, à la seule exception que les comptes précis n'y seront pas inscrits (à moins que les larves dans la feuille supérieure ont déjà été quantifiées); elles seront identifiées plutôt en y inscrivant une estimation visuelle entre parenthèses ainsi que le niveau de contamination fongique.
- 2.11.8 Les comptes des Co L2 dans la feuille inférieure sont à effectuer et à consigner selon la procédure décrite du point 2.11.2 au point 2.11.5; afin d'éviter d'écraser des larves lors du compte, placez la feuille inférieure sur un autre bac vide recouvert de Parafilm; la somme des larves dans les deux feuilles est à consigner sur le formulaire Co L2 – *Compte*.
- 2.11.9 Lorsque des champignons sont observés dans un bac, le niveau de contamination est à inscrire sur les éléments suivants :
- (a) le formulaire Co – *Suivi* (formulaire des SPI numéro 0120/002, annexe 3);
 - (b) l'emballage de la feuille de gaze;
 - (c) le formulaire Co – *Étiquette de sac* (formulaire des SPI numéro 0129/002, annexe 2);
 - (d) le formulaire Co – *Compte* (formulaire des SPI numéro 0021/00, annexe 5).



- 2.11.10 Lorsque les taches fongiques sont au nombre de cinq ou moins, coupez-les des feuilles contaminées.
- 2.11.11 Une estimation visuelle du nombre de larves n'étant pas entré dans les feuilles de gaze (et éliminé par la suite) est à faire pour chaque bac et à consigner sur le formulaire *Co L2 – Compte*; une fois rempli, le formulaire est à verser dans les dossiers de l'UPI.
- 2.11.12 La date du compte, le nombre de larves n'étant pas entré en diapause, le nombre de larves dans chaque feuille et le niveau de contamination fongique sont à consigner sur le formulaire *Co – Suivi*, tout comme les initiales de la personne (ou des personnes) effectuant le compte.

2.12 La prédiapause et la diapause

- 2.12.1 La feuille supérieure et la feuille inférieure de chacun des bacs sont à placer chacune dans un sac en plastique transparent individuel (après avoir découpé le Parafilm superflu); fermez-les à l'aide d'un lien torsadé et inscrivez-y le code d'identification correspondant, le numéro de la chambre d'accouplement, la quantité de larves et le niveau de contamination fongique (s'il y a lieu) et indiquez s'il s'agit de la feuille supérieure ou inférieure.
- 2.12.2 Tous les sacs en plastique contenant des larves des cinq premières chambres d'accouplement sont à placer dans un sac en papier, et ceux des cinq dernières chambres d'accouplement sont à placer dans un autre sac en papier; fermez chaque sac à l'aide d'un trombone et fixez-y une étiquette dûment remplie (reportez-vous au formulaire des SPI numéro 0129/002, *Co – Étiquette de sac*, annexe 2); les sacs de larves sont à conserver dans une chambre environnementale maintenue à 23 ± 3 °C, à une humidité relative (H.R.) de 55 ± 10 % et dont la photopériode est de 16L:8N pendant deux semaines de prédiapause; la date à laquelle la diapause commencera est à inscrire sur l'étiquette ainsi que sur la partie inférieure du formulaire *Co – Suivi* (formulaire des SPI numéro 0120/002, annexe 3); la diapause de l'ensemble de la progéniture de la cohorte commencera 27 jours après la date de préparation du bac pour la dernière chambre d'accouplement (c.-à-d., 13 jours pour l'éclosion des œufs + 14 jours de prédiapause).
- 2.12.3 À ce moment, l'UPI fournira une copie du formulaire *Co – Suivi* à l'UCQ; le formulaire original est à verser dans les dossiers de l'UPI.
- 2.12.4 À la fin de la prédiapause, les sacs de larves sont à transférer dans la chambre froide prévue pour la diapause pour la durée de la diapause.
- 2.12.5 La durée nécessaire de la diapause pour faciliter le *maintien de la colonie* est à déterminer tel qu'il est décrit au point **2.15**.

2.13 Destin des larves

- 2.13.1 Pendant la période de diapause, l'UCQ fournira les résultats du contrôle de CQ des parents des larves de chaque chambre



- d'accouplement à l'UPI à l'écrit; l'UPI sera informé quant au destin des larves issues de chaque chambre d'accouplement (p. ex., à retenir à des fins de *maintien de la colonie* ou de *distribution* ou à *éliminer* [ou à distribuer à des clients qui le souhaitent]).
- 2.13.2 Dès que l'UPI en est informé par l'UCQ, ces larves seront regroupées (selon le destin) dans des sacs en papier portant une étiquette sur laquelle sont inscrits le code d'identification et le destin, soit le *maintien de la colonie*, la *distribution* ou l'*élimination*.
- 2.13.3 Les larves pour *distribution* seront regroupées selon qu'elles soient pour expédition à des clients externes comme Co L2 en diapause ou pour établissement dans les installations de l'UPI à des fins de distribution avant la destruction sélective; les larves présentant des *traces* ou des niveaux *faibles* d'agents pathogènes, tel que l'UCQ l'aura déterminé, seront distribuées en état de diapause et ne seront pas élevées dans les installations de production d'insectes (l'UPI informera les clients des agents pathogènes possibles).
- 2.13.4 La distribution ou l'élevage des larves classées comme exposées à une contamination fongique procédera comme il est décrit ci-dessous :
- (a) Niveau 1 : les larves peuvent être distribuées (après avoir coupé les taches fongiques des feuilles), mais non pas élevées dans l'insectarium.
 - (b) Niveau 2 : les larves peuvent être distribuées (après avoir coupé les taches fongiques des feuilles) seulement si la demande de la clientèle est extrêmement élevée et que nos réserves sont faibles; ces larves ne seront pas élevées dans l'insectarium.
 - (c) Niveau 3 : les larves sont à éliminer.
- 2.13.5 En consultation avec l'UCQ, il peut être déterminé que certaines des larves destinées à la *distribution* soient retenues par l'UPI s'il faut développer davantage la colonie, ou pour remplacer des lots bimensuels de colonies malades.

2.14 Distribution des insectes

- 2.14.1 Le personnel de l'UPI réduira le travail au minimum par la distribution de larves à des clients externes pendant la diapause, ou à des clients internes avant la destruction sélective; les plateaux en métal ne doivent pas servir à la distribution.
- 2.14.2 Aucune larve ne sera distribuée à des clients avant le contrôle de CQ de la cohorte par l'UCQ.
- 2.14.3 La distribution d'insectes (peu importe le stade de développement) à des clients est à consigner sur le formulaire des SPI numéro 0127/002, *Co – Distribution* (annexe 1), tel qu'il est précisé au point **2.2**; le formulaire est à verser dans les dossiers de l'UPI.
- 2.14.4 Toute plainte reçue par l'UPI de la part d'un client concernant la qualité des insectes ou du milieu nutritif est à acheminer à l'UCQ.

2.15 Calendrier d'élevage



- 2.15.1 Le formulaire *Co – Calendrier d'élevage* (formulaire des SPI numéro 0131/002, annexe 6) est à conserver sous format électronique sur le lecteur *Insect Production*; le calendrier d'élevage aura été déterminé d'avance lors de discussions entre le superviseur de l'UPI et le technicien responsable de la colonie. Le calendrier prévoira une période de diapause de 20 à 37 semaines pour chaque famille, quoique 24 semaines soient idéales. Des concessions seront faites pour faciliter les congés (de Noël, de Pâques, d'été, etc.) et la division de familles d'insectes pour remplacer celles qui sont malades. Normalement, les *Co – L2* sont à sortir de la diapause toutes les deux semaines (d'habitude le lundi) pour répondre à la demande et pour maintenir 24 familles pour chaque génération.

2.16 Calculs

- 2.16.1 Une solution d'eau de Javel de 1 % est à préparer tous les jours, en ajoutant 10 ml d'eau de Javel (c.-à-d., 5,25 % d'hypochlorite de sodium) à 990 ml d'eau de robinet passée à l'autoclave, afin de produire une concentration de matière active de 0,0525 % en hypochlorite de sodium.
- 2.16.2 Une solution d'eau de Javel de 10 % est à préparer tous les jours, en ajoutant 100 ml d'eau de Javel (c.-à-d., 5,25 % d'hypochlorite de sodium) à 900 ml d'eau de robinet passée à l'autoclave, afin de produire une concentration de matière active de 0,525 % en hypochlorite de sodium.



Préparation de la solution d'eau de Javel

2.17 Documentation et rapports

- 2.17.1 Remplir et conserver les formulaires ci-dessous fait partie de la conformité à la présente PON :
- (a) Formulaire des SPI numéro 0127/002 : *Co – Distribution* (annexe 1)
 - (b) Formulaire des SPI numéro 0129/002 : *Co – Étiquette de sac* (annexe 2)
 - (c) Formulaire des SPI numéro 0120/002 : *Co – Suivi* (annexe 3)



- (d) Formulaire des SPI numéro 0130/002 : Co – Éliminations (annexe 4)
 - (e) Formulaire des SPI numéro 0128/002 : Co L2 – Compte (annexe 5)
 - (f) Formulaire des SPI numéro 0131/002 : Co – Calendrier d'élevage (annexe 6)
- 2.17.2 Tout autre renseignement pertinent (défaillance de la chambre environnementale, justification de retards dans les procédures énoncées dans la présente PON, observation de situations peu usuelles, etc.) est à consigner sur les formulaires de suivi pertinents.
- 2.17.3 Le formulaire Co – Suivi est à envoyer à l'UCQ en copie une fois que les larves entrent en prédiapause.
- 2.17.4 L'UPI donnera accès à tous ses dossiers à l'UCQ.

3.0 DISTRIBUTION ET ARCHIVAGE

3.1 Distribution

Le gestionnaire des SPI doit distribuer la présente PON à tout le personnel de l'UPI.

3.2 Archivage

- 3.2.1 Le gestionnaire des SPI conservera une copie de la présente PON lorsqu'elle est remplacée par une nouvelle version à des fins d'archivage.
- 3.2.2 Le superviseur de l'UPI s'assurera que les dossiers de tous les documents précisés au point 2.16 sont conservés afin de les récupérer en temps opportun.

3.3 Destruction des PON désuètes

Lorsque de nouvelles versions de cette PON sont publiées pour distribution, toute personne en possession d'une copie contrôlée s'assurera que l'ancienne version est rendue au gestionnaire des SPI sur demande.

4.0 VALIDATION DE LA PON ET CONFORMITÉ

4.1 Personne responsable

- 4.1.1 Le superviseur de l'UPI est responsable de s'assurer que la présente PON est valide.
- 4.1.2 Le superviseur de l'UPI est responsable de s'assurer que les membres du personnel de l'UPI se conforment à cette PON et qu'ils ont eu une formation appropriée à cet égard.
- 4.1.3 Les membres du personnel de l'UPI sont tenus de respecter les procédures énoncées dans une *copie contrôlée* de cette PON et ne suivront jamais des copies non contrôlées qui risquent d'être périmées.

5.0 RÉVISION DE LA PON

5.1 Personne responsable



Le superviseur de l'UPI est responsable de s'assurer que la présente PON est valide. Si nécessaire, le superviseur de l'UPI entamera le processus de révision.

5.2 Calendrier de révision

La présente PON fera l'objet d'une révision au moment où les dispositions qu'elle énonce ne correspondent plus aux pratiques courantes ou aux politiques du CFGF et sera approuvée par le gestionnaire des SPI.

6.0 ÉVENTUALITÉS

Lorsque le personnel de l'UPI prend conscience de circonstances qui empêchent la conformité à la présente PON, le superviseur de l'UPI sera consulté.

7.0 CONFIDENTIALITÉ

Les PON des SPI ne sont pas considérées comme des documents confidentiels et peuvent être distribuées à des parties externes. Les copies contrôlées ne doivent pas être reproduites.

8.0 RÉFÉRENCES

(a) PON numéro SPI/009 : *Les responsabilités du personnel de l'UPI*

9.0 ANNEXES

Annexe 1 : Formulaire des SPI numéro 0127/002 : *Co – Distribution*

Annexe 2 : Formulaire des SPI numéro 0129/002 : *Co – Étiquette de sac*

Annexe 3 : Formulaire des SPI numéro 0120/002 : *Co – Suivi*

Annexe 4 : Formulaire des SPI numéro 0130/002 : *Co – Éliminations*

Annexe 5 : Formulaire des SPI numéro 0128/002 : *Co L2 – Compte*

Annexe 6 : Formulaire des SPI numéro 0131/002 : *Co L2 – Calendrier d'élevage*



Annexe 1

Co - Distribution

Code d'identification :

(du formulaire de suivi de Co) ❶ N^{bre} total de larves en diapause :

(du rapport de CQ) ❷ N^{bre} retenu aux fins du maintien de la colonie :

(du rapport de CQ) ❸ N^{bre} éliminé pour des raisons de CQ :

❹ - (❷ + ❸) ❺ N^{bre} disponible pour distribution :

Approvisionnement du laboratoire

Date de sortie de la diapause (J/MM/AA)	N° de larves	N° de godets	Identification du milieu nutritif	Distribution			N ^{bre} de godets éliminés
				Date de collecte (J/MM/AA)	N° de godets	Destinataire	
Σ = ❶		Σ = ❷		Σ = ❸			Σ = ❹

Distribution pendant la diapause (Co L2 dans des feuilles de gaze)

Date de distribution (J/MM/AA)	N ^{bre} de Co L2		Destinataire	
	demandé	distribué	CFGL	Autres
❹ Σ =		❺ = ❸ + ❹		

N^{bre} éliminé après 37 semaines de diapause : ❻

Date d'élimination (J/MM/AA) :

Formulaire des SPI numéro 0127/002

❺ = ❸ + ❹

❻ = ❷ + ❸ + ❹



Annexe 2

Co – Étiquette de sac

Code d'identification :				Début de la diapause :	
				JJ/MM/AA	
N° de la chambre d'accouplement	Feuille supérieure de gaze	Feuille inférieure de gaze	Niveau de contamination fongique	Total dans la chambre d'accouplement	
1					
2					
3					
4					
5					
				Co L2 au total dans le sac :	

Code d'identification :				Début de la diapause :	
				JJ/MM/AA	
N° de la chambre d'accouplement	Feuille supérieure de gaze	Feuille inférieure de gaze	Niveau de contamination fongique	Total dans la chambre d'accouplement	
6					
7					
8					
9					
10					
				Co L2 au total dans le sac :	

Formulaire des SPI numéro 0129/002



Annexe 3

Co – Suivi (maintien de la colonie)

Code d'identification _____ Issue de : Génération précédente Autre _____

Date de sortie de diapause (JJ/MM/AA)	N ^{bre} de sem. ^{†1}	N ^{bre} sorti	Préparation des morceaux		Initiales	Destruction sélective				Initiales	
			N ^{bre} de godets	Identification du milieu nutritif		Date (JJ/MM/AA)	N ^{bre} de godets	N ^{bre} de godets contenant des insectes morts	Identification du milieu nutritif		

Larves mortes congelées pour CQ : Oui Non
Morceaux congelés pour CQ : Oui

Récolte des nymphes

N ^{bre} retenu	1 ^{re}		2 ^e		Total		
	Date : (JJ/MM/AA)		Date : (JJ/MM/AA)		♂	♀	Regroupés
	♂	♀	♂	♀			
N ^{bre} éliminé							
N ^{bre} de godets contenant des insectes morts							
Godets congelés pour CQ :	Oui	Non	Oui	Non			
Initiales							

♂ = 75% ♀ =

ξ = ξ = ξ =

N^{bre} éliminé N^{bre} éliminé N^{bre} éliminé

Chambres d'accouplement

N ^o	Date de début (JJ/MM/AA)	Initiales	Date de fin (JJ/MM/AA)	Initiales	Date d'élimination des adultes (JJ/MM/AA)	Initiales	Sélection des œufs (initiales)	Date de préparation des bacs (JJ/MM/AA)	Initiales	N ^{bre} de Co L2			Niveau de contamination biologique	Date du compte (JJ/MM/AA)	Initiales
										Feuille supérieure	Feuille inférieure	Portes			
1															
2															
3															
4															
5															
6															
7															
8															
9															
10															

Coques de nymphe conservées pour CQ : Oui

ξ = ξ = Début de la diapause :
π = % = (JJ/MM/AA)
SD =

Formulaire des SPI numéro 0120/002



Annexe 5

Co L2 – Compte

Code d'identification : _____

N° de la chambre d'accouplement : _____

Co L2 perdus au bord supérieur du bac : _____

Co L2 perdus au bord inférieur et aux côtés du bac : _____

Co L2 perdus au total dans le bac : _____

Niveau de contamination fongique : _____

Compte dans la feuille supérieure de gaze

Champ 1 _____

Champ 2 _____

Champ 3 _____

Champ 4 _____

Champ 5 _____

Champ 6 _____

Total ÷ 6 champs = _____ x feuille de gaze de 45 po² = _____ Nbre de *Co* L2 dans la feuille supérieure de gaze

Compte dans la feuille inférieure de gaze

Champ 1 _____

Champ 2 _____

Champ 3 _____

Champ 4 _____

Champ 5 _____

Champ 6 _____

Total ÷ 6 champs = _____ x feuille de gaze de 45 po² = _____ Nbre de *Co* L2 dans la feuille inférieure de gaze

Formulaire des SPI numéro 0128/002



Annexe 6

Co – Calendrier d'élevage

Code d'identification	Date d'entrée en diapause (JJ/MM/AA)	Date de sortie de diapause (JJ/MM/AA)	N ^{bre} de sem. ⁷⁾ en diapause	Date d'élimination après 37 sem. (JJ/MM/AA)
Co 1-F_				
Co 2-F_				
Co 3-F_				
Co 4-F_				
Co 5-F_				
Co 6-F_				
Co 7-F_				
Co 8-F_				
Co 9-F_				
Co 10-F_				
Co 11-F_				



*Centre de foresterie des Grands Lacs
Services de production d'insectes*

Procédures opérationnelles normalisées

Élevage de Co

Numéro de PON : SPI/012/002/

Date d'entrée en vigueur : 5 mars 2015

[page blanche]

Pour obtenir des renseignements sur les droits de reproduction, veuillez communiquer avec Ressources naturelles Canada par courriel à droitdauteur.copyright@rncan-nrcan.gc.ca.