



Ressources naturelles  
Canada

Natural Resources  
Canada

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

# **Procédure opérationnelle normalisée**

**Numéro de PON: SPI/022/001**

***Contrôle de la qualité du  
Choristoneura pinus pinus***



*Date d'entrée en vigueur : 6 mai 2015*

Canada



---

**TITRE : Contrôle de la qualité du Choristoneura pinus pinus (Cpp)**

**RESPONSABLE DE L'APPROBATION :**

JJ-MM-AA

Gestionnaire, Services de production d'insectes (SPI) \_\_\_\_\_ / /

**CHANGEMENTS IMPORTANTS PAR RAPPORT À LA VERSION PRÉCÉDENTE :**

S.O.

**1.0 INTRODUCTION**

**1.1 Objectif**

La présente Procédure opérationnelle normalisée (PON) a été établie pour assurer le respect des procédures quant à la réception et au traitement d'échantillons de Cpp en vue de détecter des agents pathogènes et de réduire les incidences et la propagation d'agents pathogènes ainsi que de contaminants microbiens dans l'installation de production d'insectes du Centre de foresterie des Grands Lacs (CFGL).

**1.2 Portée**

Tous les employés de l'Unité de contrôle de la qualité (UCQ) doivent respecter la présente PON pour la détection microbienne et le contrôle des procédés liés à la Cpp.

**1.3 Définitions**

*Centre de foresterie des Grands Lacs (CFGL)* : L'une des cinq installations de recherche du Service canadien des forêts (SCF), située à Sault Ste. Marie (Ontario) au Canada.

*Date d'entrée en vigueur* : La date à partir de laquelle les procédures indiquées dans une PON doivent être mises en œuvre.

*Fiche signalétique (FS)* : Description sommaire d'un produit chimique, d'une substance ou d'un réactif préparés par le fabricant ou le fournisseur. Cette description est requise par la législation sur le SIMDUT afin d'informer les travailleurs des procédures requises pour travailler de façon sécuritaire avec le produit en question.

*Gestionnaire des Services de production d'insectes* : La personne ayant la responsabilité générale des activités de l'équipe des SPI.

*Groupe consultatif sur l'élevage d'insectes (GCÉI)* : Comité consultatif du CFGL qui surveille et donne des conseils relatifs aux activités et aux initiatives des



SPI, qui fournit un mécanisme pour la contribution des clients du SCF, qui veille à ce que les besoins et les priorités des utilisateurs soient satisfaits, et qui agit en tant qu'agent de liaison entre le personnel, les clients et la direction des SPI.

*Insectarium* : Installation pour l'élevage de multiples espèces d'insectes relevant des SPI et utilisée exclusivement par l'Unité de production d'insectes pour entretenir des colonies d'insectes et préparer des milieux nutritifs artificiels.

*Services de production d'insectes (SPI)* : Équipe de travail du CFGL composée d'employés de l'Unité de production d'insectes, de l'Unité de contrôle de la qualité et de l'installation de quarantaines des insectes, qui effectue des activités d'élevage d'insectes, de contrôle de la qualité et de quarantaines à l'appui des activités de recherche sur les ravageurs forestiers, à l'intérieur et à l'extérieur du SCF.

*Laboratoire de contrôle de la qualité* : Laboratoire d'analyse relevant des SPI et utilisé par l'Unité de contrôle de la qualité pour surveiller la production, le traitement et le contrôle des produits relativement à toutes les colonies d'insectes de l'Unité de production d'insectes, et pour mettre au point de nouvelles méthodes et procédures de CQ.

*Procédures opérationnelles normalisées (PON)* : Directives décrivant les procédures administratives ou techniques courantes qui sont effectuées par le personnel des SPI ou les utilisateurs de l'installation de QI.

*Technicienne ou technicien responsable du contrôle de la qualité (CQ)* : Membre des SPI qui dirige les opérations quotidiennes du laboratoire de CQ et les autres employés du CQ.

*Unité de contrôle de la qualité (UCQ)* : Unité de travail des SPI composée d'employés qui effectuent des essais de contrôle réguliers de la production, des processus et des produits et qui élaborent de nouvelles méthodologies de CQ à l'appui des activités de l'UPI.

*Unité de production d'insectes (UPI)* : Unité de travail des SPI composée d'employés qui mènent des activités d'élevage d'insectes, de fabrication de milieux nutritifs artificiels et d'élaboration de nouvelles méthodes au CFGL.

## **1.4 Sécurité**

- 1.4.1 De l'équipement de protection individuelle (c.-à-d., un sarrau de laboratoire et des gants de protection jetables contre les agents chimiques) doit être porté pour effectuer des opérations de coloration.
- 1.4.2 La procédure de coloration au naphthalène noir doit être effectuée à l'intérieur d'une hotte chimique en marche.



- 1.4.3 Les employés doivent avoir accès aux fiches signalétiques de tous les produits chimiques utilisés pour les procédures de coloration et bien les connaître.

## **1.5 Matériel**

Matériel requis :

- 1.5.1 Équipement de protection individuelle :
- (a) Sarrau de laboratoire
  - (b) Gants de protection jetables contre les produits chimiques
  - (c) Hotte chimique
- 1.5.2 Produits chimiques :
- (a) Colorant naphthalène noir 10B (CAS n° 1064-48-8)
  - (b) Colorant bleu de bromophénol
  - (c) Acide acétique glacial
  - (d) Méthanol (à 99 %)
  - (e) Dodécyl sulfate de sodium (à 1 %)
  - (f) FS
- 1.5.3 Outils :
- (a) Plaque chauffante avec de l'eau bouillante
  - (b) Platine chauffante pour lames
  - (c) Bain d'eau glacée
  - (d) Supports pour coloration de lames et cuves à coloration
  - (e) Lames de verre de microscope
  - (f) Microscope avec capacité d'immersion dans l'huile
  - (g) Microscope numérique Dino Lite (Hoskin Scientific) relié à un système informatique
- 1.5.4 Formulaire :
- (a) Formulaire SPI numéro 0170/001 (*Détection microbienne d'échantillons de Cpp, Annexe 1*)
  - (b) Formulaire SPI numéro 0171/001 (*Rapport de CQ des Cpp adultes, Annexe 2*)
  - (c) Formulaire SPI numéro 0173/001 (*Sommaire sur l'élevage de Cpp – Entretien de colonie, Annexe 3*)
  - (d) Formulaire SPI numéro 0172/001 (*Sommaire sur les générations multiples de Cpp, Annexe 5*)
  - (e) Formulaire SPI numéro 0174/001 (*Rapport de CQ des Cpp non adultes, Annexe 6*)
  - (f) Formulaire SPI numéro 0175/001 (*Taille des coques de nymphoses de Cpp, Annexe 7*)

## **2.0 PROCÉDURES**

### **2.1 Types d'échantillon et documents provenant de l'UPI**

- 2.1.1 Adultes :
- (a) Au moment du démantèlement des enceintes d'accouplement par l'UPI, les femelles adultes auront été recueillies par les employés de l'UPI et conservées séparément, par numéro d'enceinte, dans



des flacons avec bouchons à vis (portant l'étiquette du code d'identification et du numéro d'enceinte d'accouplement).

2.1.2 Larves :

- (a) Les gobelets de larves qui contiennent un ou plusieurs cadavres, au moment de l'éclaircissage ou des vérifications des pupes, seront retirés du processus d'élevage, porteront l'étiquette du code d'identification et seront remis à l'UCQ aux fins d'examen.
- (b) Dans le cas où des lots de larves auraient un faible taux de développement ou présenteraient des symptômes de maladie, l'étiquette du code d'identification sera apposée sur des échantillons représentatifs et ceux-ci seront remis à l'UCQ aux fins d'examen immédiat.
- (c) La détection de routine de larves apparemment saines ne sera pas effectuée à ce moment-là.

2.1.3 Échantillons historiques :

- (a) Périodiquement (c.-à-d., toutes les 10 générations), l'UCQ demandera à l'UPI de recueillir des larves pour la conservation de dossiers historiques d'ADN (afin de déterminer la dérive génétique).
- (b) L'étiquette du code d'identification doit être apposée sur les échantillons de chaque cohorte de *Cpp*, lesquels seront remis à l'UCQ.

2.1.4 Feuilles de suivi :

- (a) L'UPI consignera le processus d'élevage des générations de chaque cohorte de *Cpp* sur la version actuelle du formulaire SPI numéro 0132 (*Feuille de suivi des Cpp*) et fera une copie du formulaire rempli pour l'UCQ lorsque la progéniture larvaire entrera en diapause.

2.1.5 Bandes de gaze :

- (a) Des bandes de gaze provenant de chaque lot hebdomadaire de *Cpp* seront mises dans un sac étiqueté (code d'identification) et remises à l'UCQ.

2.1.6 Coques de nymphoses :

- (a) Des échantillons représentatifs de coques de nymphoses mâles et femelles de chaque cohorte seront fournis.

2.1.7 Œufs non éclos :

- (a) En cas de signe de faible éclosion, les œufs non éclos seront mis dans un sac étiqueté (code d'identification), que l'on remettra à l'UCQ aux fins d'examen.

## **2.2 Réception d'échantillons provenant de l'UPI**

Tout échantillon transmis par l'UPI sera consigné et suivi, comme précisé sur la version actuelle de la PON SPI/029 (*Suivi d'échantillons aux fins de CQ*).



- 2.2.1 Adultes : l'UCQ doit s'assurer que les récipients reçus (un maximum de 10 par cohorte hebdomadaire) sont correctement étiquetés, et doit congeler les échantillons immédiatement aux fins de détection microbienne, avant la fin de la diapause de la progéniture larvaire.
- 2.2.2 Larves, pupes ou œufs non éclos : l'UCQ doit s'assurer que les échantillons transmis par l'UPI portent une étiquette sur laquelle figurent le code d'identification, la date du prélèvement et le type d'échantillon (c.-à-d., décédé au moment de l'éclaircissage, développement lent, infection microbienne suspectée, etc.) et doit congeler les échantillons immédiatement, aux fins de détection microbienne subséquente, si une telle détection est jugée nécessaire par l'UCQ.
- 2.2.3 Échantillons historiques : l'UCQ s'assurera qu'un échantillon larvaire (n=10) de chaque cohorte lui soit transmis périodiquement (c.-à-d., toutes les 10 générations) par l'UPI, et qu'il soit conservé à -70 °C, pour servir de dossier historique d'ADN.
- 2.2.4 Bandes de gaze : l'UCQ doit s'assurer que les sacs de lots qui lui ont été envoyés par l'UPI portent l'étiquette du code d'identification, et il congèlera immédiatement les échantillons, aux fins d'analyse ultérieure.

### **2.3 Préparation d'échantillons pour la détection d'agents pathogènes**

- 2.3.1 Traitement des fioles d'adultes :
  - (a) Les adultes doivent être gardés congelés dans des récipients (étiquetés) distincts jusqu'au moment du traitement. Un examen ultérieur sera effectué avant la fin de la diapause de la progéniture résultante.
  - (b) Les adultes de chaque enceinte d'accouplement doivent être macérés, comme le décrit la version actuelle de la PON SPI/004 (*Homogénéisateur*).
  - (c) Un sous-échantillon de 500 µl doit être prélevé et mis dans un microtube stérile de 1,5 ml. Ensuite, 500 µl de SDS à 1 % (reportez-vous à l'article 2.8) doivent être ajoutés au sous-échantillon (c.-à-d., concentration finale = SDS à 0,5 %), lequel sera placé sur un agitateur de tubes pendant une à deux heures, à la température de la pièce.
- 2.3.2 Préparation de lames d'adultes :
  - (a) Deux préparations de chaque sous-échantillon doivent être faites aux fins d'examen au microscope, au moyen de différentes méthodes de coloration (c.-à-d., naphthalène noir et bleu de bromophénol).
  - (b) 5 µl de chaque sous-échantillon doivent être appliquée sur chacune des deux lames de verre étiquetées au préalable (code



- d'identification, numéro de sac, type d'échantillon et méthode de coloration).
- (c) Chaque sous-échantillon de 5 µl doit être étalé sur environ 1 cm<sup>2</sup> au moyen d'un nouvel embout de pipette stérile, et doit sécher à l'air avant de subir le processus de coloration au moyen d'une des deux méthodes. On peut appliquer jusqu'à cinq échantillons sur une lame.
- 2.3.3 Traitement d'échantillons de larves, de pupes ou d'œufs non éclos :
- (a) Les échantillons de larves, de pupes ou d'œufs non éclos doivent être traités et examinés en vue de détecter des agents pathogènes seulement si cela est jugé nécessaire par l'UCQ (c.-à-d., quand on découvre un nombre important de larves décédées lors de l'émergence, de l'éclaircissage ou de la vérification des pupes).
- (b) Un nombre représentatif de larves, de pupes ou d'œufs non éclos (à déterminer par l'UPI au moment du traitement) de chaque groupe d'échantillons doit être traité et examiné en temps opportun (c.-à-d., pour réduire le temps gaspillé à l'élevage de lots contaminés). Le nombre d'insectes examinés doit être consigné dans la section réservée aux commentaires du formulaire de détection (formulaire SPI numéro 0170/001, Annexe 1).
- 2.3.4 Préparation de lames d'échantillons de larves, de pupes ou d'œufs non éclos :
- (a) Deux préparations de chaque frottis d'insecte doivent être faites aux fins d'examen au microscope, au moyen de deux méthodes de coloration (c.-à-d., le naphthalène noir et le bleu de bromophénol).
- (b) Chaque insecte doit être étalé (en utilisant un nouveau cure-dent pour chacun d'entre eux) sur une lame de verre étiquetée au préalable (code d'identification, date du prélèvement, type d'échantillon et méthode de coloration), en s'assurant d'obtenir suffisamment de tissu du milieu de l'abdomen. Les lames doivent sécher à l'air avant de procéder à la coloration.
- 2.3.5 Examen des bandes de gaze :
- (a) Les bandes doivent être examinées en temps opportun, afin de réduire le temps gaspillé à l'élevage de lots contaminés.
- (b) Les bandes doivent être examinées au microscope numérique Dino Lite pour déterminer le nombre total de larves qui restent dans les bandes (c.-à-d., celles qui n'ont pas émergé de leurs hibernacula). Les larves qui ont été coupées en deux pendant la préparation des bandes par l'UPI seront comptées uniquement lorsque les têtes y sont attachées (afin d'éviter de compter un insecte deux fois).



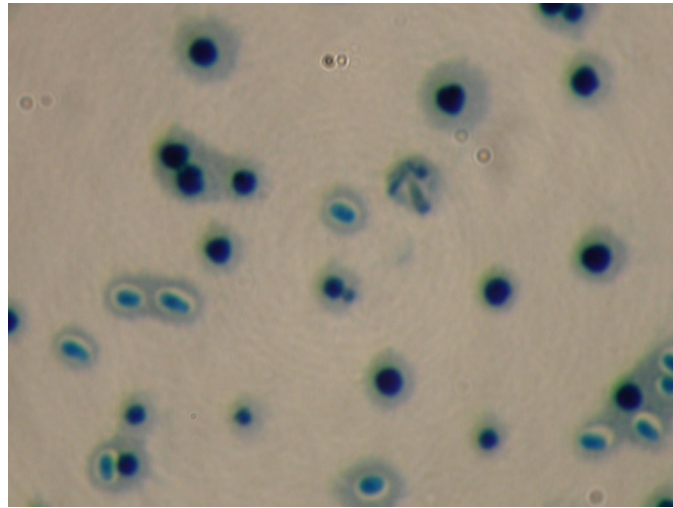
- (c) Le pourcentage de larves perdues (c.-à-d. le nombre de larves comptées ÷ le nombre de larves retirées de la diapause x 100) doit être déterminé et inscrit sur le formulaire SPI numéro 0170/001 (*Détection microbienne d'échantillons de Cpp*, Annexe 1). La date de l'examen doit également être inscrite.
- (d) Si le nombre de larves non écloses est supérieur à 10 %, un sous-échantillon de 120 larves doit être étalé et coloré de la manière indiquée aux articles 2.3.4 et 2.4.

## **2.4 Coloration et examen des lames**

### 2.4.1 Coloration avec du naphthalène noir :

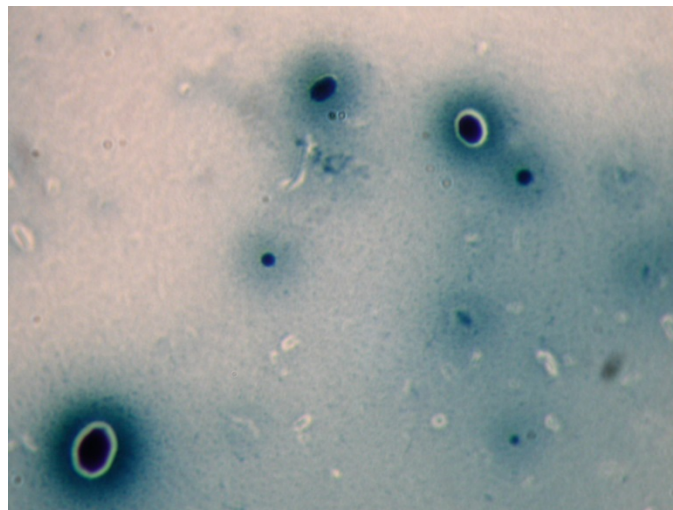
- (a) Un des deux ensembles de lames doit être coloré avec du naphthalène noir 10B et examiné en vue de détecter la présence d'agents pathogènes (c.-à-d., des corps d'inclusion viraux, des microsporidies, etc.).
- (b) La solution colorante doit être préparée en dissolvant 2,4 g de naphthalène noir 10B dans 130 ml d'eau distillée et 70 ml d'acide acétique glacial (utilisez un agitateur magnétique avec un peu de chaleur). Remplacez le colorant une fois par mois ou lorsque le volume est réduit par l'usage (c.-à-d., les lames ne sont plus couvertes). On peut remplacer le naphthalène noir 10B par du 12B.
- (c) Les lames doivent être immergées dans le colorant préchauffé (de 40 à 45 °C) pendant 10 minutes, puis retirées et rincées délicatement sous l'eau du robinet.
- (d) Les lames doivent être séchées à l'air ou sur une platine chauffante pour lames, avant l'examen.
- (e) Au moins 20 champs de vision pour chaque échantillon doivent être examinés, à un grossissement de 1 000, au moyen de l'immersion dans de l'huile (avec un système d'optique de champ lumineux).
- (f) Veuillez noter que les corps d'inclusion constitués de protéines (c.-à-d. le VPC et le VPN) prennent une couleur bleu-noir profond avec un fond bleu clair et ne peuvent être différenciés au moyen de cette coloration (du colorant bleu de bromophénol sera utilisé pour faire la distinction entre ces deux types d'inclusion, lorsqu'ils sont détectés au moyen d'un colorant naphthalène noir). Les microsporidies prennent une couleur bleu foncé distinctive à une extrémité et une couleur bleu clair à l'autre (aucune tentative de distinction entre les espèces de microsporidies ne sera faite) :





VPC, VPN et microsporidies dans un colorant 10B

L'entomopoxvirus prend aussi une couleur bleu-noir profond, mais il peut être différencié du VPC et du VPN par sa forme ovale et sa plus grande taille :



Entomopoxvirus et VPC dans un colorant 10B

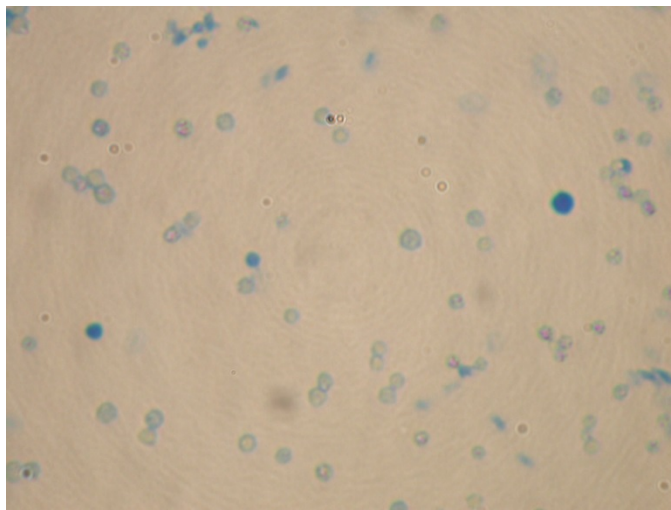
- (g) Les observations et la détermination préliminaire de contamination microbienne doivent être consignées sur le formulaire SPI numéro 0170/001 (*Détection microbienne d'échantillons de Cpp*, Annexe 1). Les agents pathogènes doivent être quantifiés en utilisant les catégories suivantes :
- Élevé (+++) = plus de 50 inclusions par champ de vision
  - Moyen (++) = une moyenne de 5 à 50 inclusions par champ de vision
  - Faible (+) = inférieur à une moyenne de 5 inclusions par champ de vision, mais supérieur à 3 dans 20 champs



- Trace (T) = total de 3 inclusions ou moins dans 20 champs de vision
- Négatif (-) = aucun agent pathogène observé dans 20 champs de vision

2.4.2 Coloration avec du bleu de bromophénol :

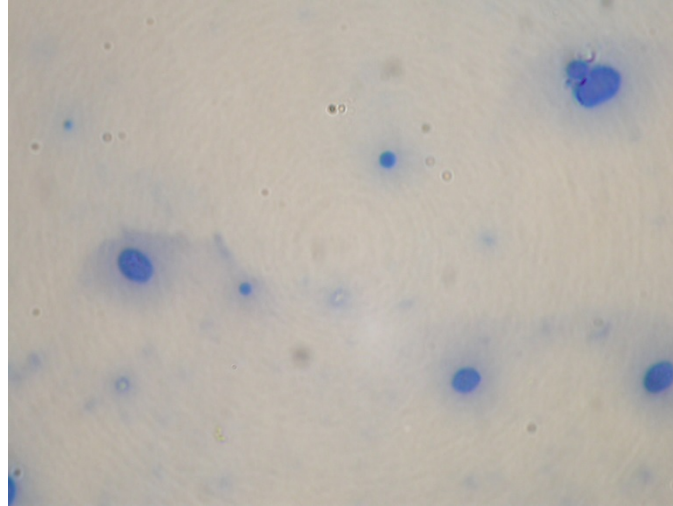
- (a) Le deuxième ensemble de lames doit être coloré avec du bleu de bromophénol à 0,1 % et examiné en vue d'y détecter la présence de corps d'inclusion de VPC.
- (b) La solution colorante sera préparée en dissolvant 0,2 g de bleu de bromophénol dans 199,8 ml d'eau distillée et sera entreposée à l'abri de la lumière. Remplacez le colorant une fois par mois ou lorsque le volume est réduit par l'usage (c.-à-d., lorsque les lames ne sont plus couvertes).
- (c) Les lames doivent être fixées par immersion dans du méthanol à 99 % pendant 90 secondes. Ensuite, elles doivent être immergées immédiatement dans de l'eau bouillante pendant 5 secondes, dans de l'eau glacée (moins de 5 °C) pendant 5 secondes, dans du colorant bleu de bromophénol à 0,1 % pendant 15 minutes, puis rincées délicatement sous l'eau du robinet.
- (d) Les lames doivent sécher à l'air avant l'examen.
- (e) Au moins 20 champs de vision pour chaque échantillon doivent être examinés, à un grossissement de 1 000, au moyen de l'immersion dans de l'huile (avec un système d'optique de champ lumineux).
- (f) Veuillez noter que le VPC prend une couleur bleu moyen, tandis que le VPN, les microsporidies et le fond restent relativement non colorés :



VPC, VPN et microsporidies dans un colorant bleu de bromophénol



L'entomopoxvirus prend une couleur bleu foncé, est de forme ovale et est beaucoup plus gros que le VPC :



Entomopoxvirus et VPC dans un colorant bleu de bromophénol

(g) Les observations et la détermination préliminaire de contamination du VPC doivent être consignées sur le formulaire SPI numéro 0170/001 (*Détection microbienne d'échantillons de Cpp*, Annexe 1). La contamination par le VPC doit être quantifiée en utilisant les catégories suivantes :

- *Élevé (+++) = plus de 50 inclusions par champ de vision*
- *Moyen (++) = une moyenne de 5 à 50 inclusions par champ de vision*
- *Faible (+) = inférieur à une moyenne de 5 inclusions par champ de vision, mais supérieur à 3 dans 20 champs*
- *Trace (T) = total de 3 inclusions ou moins dans 20 champs de vision*
- *Négatif (-) = aucune inclusion de VPC observée dans 20 champs de vision*

2.4.3 L'UCQ pourrait demander l'aide d'autres employés du CFGL (ou externes) pour la détermination de la présence d'agents pathogènes par tous les moyens jugés nécessaires. Les résultats des détections effectuées par d'autres personnes seront consignés dans les dossiers de CQ pour la cohorte applicable.

2.4.4 Les adultes ne seront pas examinés systématiquement en vue de détecter la présence de VPN au moyen de naphthalène noir, puisque les adultes contiennent de nombreuses inclusions constituées de protéines qui prennent une couleur semblable au VPN et ne peuvent être distinguées. On présume que la présence de VPN dans la

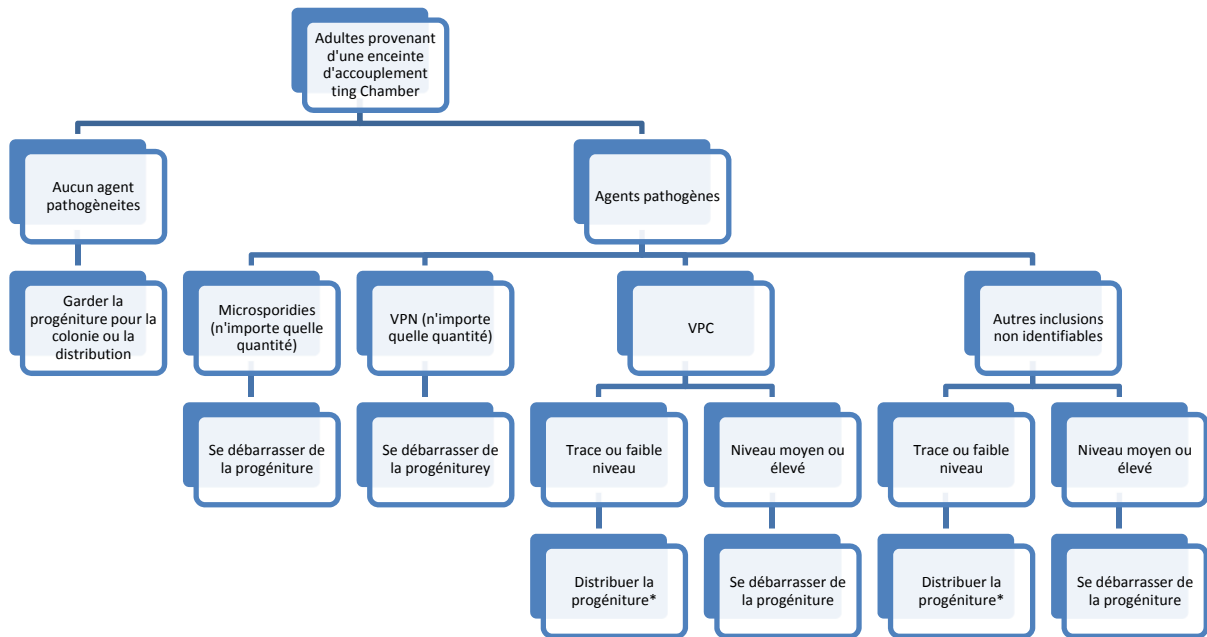


population d'insectes causerait un taux de mortalité larvaire élevé et serait facilement reconnue et détectée à un stade plus précoce.

- 2.4.5 L'UCQ doit conserver tous les échantillons et toutes les lames de dérivés, comme précisé dans la version actuelle de la PON SPI/029 (*Suivi d'échantillons aux fins de CQ*).

## 2.5 Diffusion des résultats à l'UPI

- 2.5.1 À la suite de l'examen des femelles adultes obtenues grâce aux enceintes d'accouplement, l'UCQ doit utiliser l'organigramme suivant pour déterminer les instructions à donner à l'UPI, concernant le sort de la progéniture de chaque enceinte :

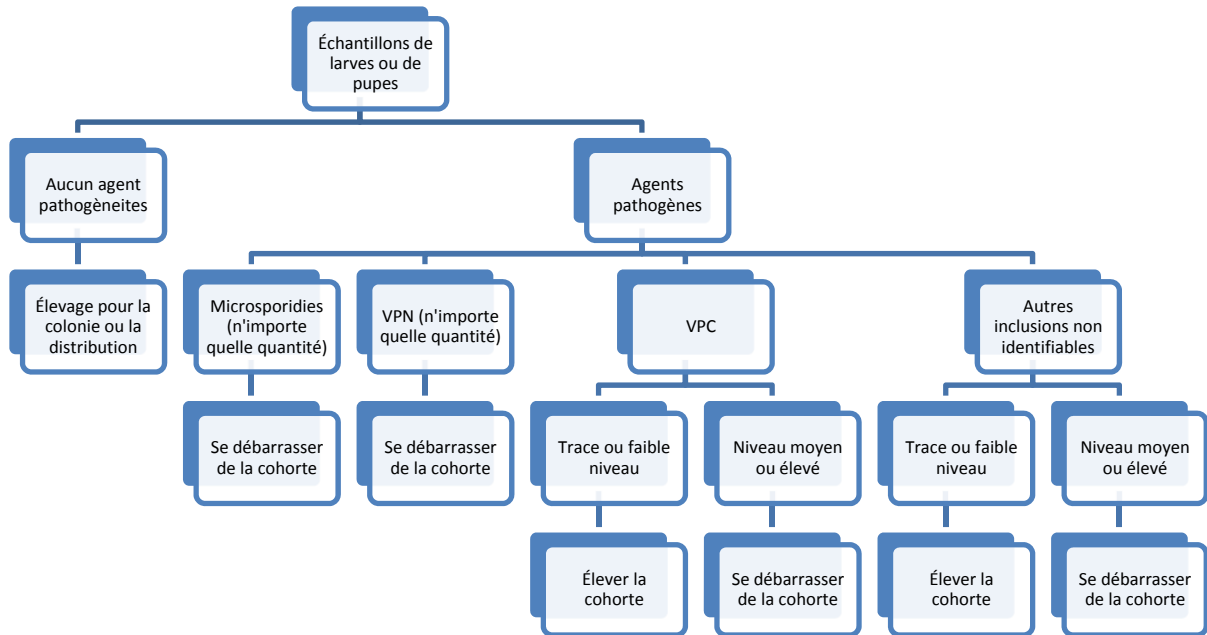


\*Ne conservez pas de colonie à moins qu'il y ait un nombre insuffisant d'insectes provenant des autres enceintes d'accouplement.

- 2.5.2 Les résultats de l'analyse des adultes en vue du CQ et une décision sur le sort de la progéniture provenant de chaque enceinte d'accouplement doivent être consignés sur le formulaire SPI numéro 0170/001 (*Détection microbienne d'échantillons de Cpp*, Annexe 1), ainsi que sur le formulaire SPI numéro 0171/001 (*Rapport de CQ des Cpp adultes*, Annexe 2).
- 2.5.3 Il faut envoyer le formulaire SPI numéro 0171/001 par Internet à l'UPI et leur transmettre les résultats consignés, comme l'indique la version actuelle de la PON SPI/029 (*Suivi d'échantillons aux fins de CQ*).
- 2.5.4 À la suite de l'examen des échantillons de larves ou de pupes obtenues grâce au processus d'élevage, l'UCQ doit utiliser



l'organigramme suivant pour déterminer les instructions à donner à l'UPI, concernant le sort de la cohorte :



2.5.5 Les résultats de l'analyse des échantillons de larves, de pupes ou d'œufs non éclos en vue du CQ et la décision sur le sort de la cohorte doivent être consignés sur le formulaire SPI numéro 0170/001 (*Détection microbienne d'échantillons de Cpp, Annexe 1*), ainsi que sur le formulaire SPI numéro 0174/001 (*Rapport de CQ des Cpp non adultes, Annexe 6*).

2.5.6 Il faut envoyer le formulaire SPI numéro 0174/001 par Internet à l'UPI et lui transmettre les résultats consignés, comme l'indique la version actuelle de la PON SPI/029 (*Suivi d'échantillons aux fins de CQ*).

## 2.6 Analyse des coques de nymphoses

2.6.1 Dix coques de nymphoses de chaque sexe doivent être mesurées et consignées sur le formulaire SPI numéro 0175/001 (*Taille des coques de nymphoses de Cpp, Annexe 7*).

2.6.2 Les 10 premières coques de nymphoses non endommagées observées doivent être mesurées au moyen d'un microscope numérique Dino Lite. Il faut prendre des mesures linéaires le long du plan dorsiventral du premier segment de la coque de nymphe postérieur aux ébauches alaires, comme l'indique le diagramme du formulaire de rapport. Les données peuvent être transmises à un chiffrier Excel, puis copiées sur le formulaire de rapport.



- 2.6.3 Les mesures des coques de nymphoses doivent être utilisées pour la surveillance de contrôle des processus statistiques, comme l'indique l'article 2.7.

## **2.7 Contrôle des processus statistiques**

- 2.7.1 L'UCQ doit consigner la surveillance de contrôle des processus statistiques, comme indiqué à l'Annexe 4 (*Procédure pour la tenue de dossiers sur le contrôle des processus liés à la Cpp*) chaque fois que l'UPI lui aura transmis un formulaire de suivi de cohortes.
- 2.7.2 L'UCQ doit conserver le formulaire SPI numéro 0173/001 (*Sommaire sur l'élevage de Cpp*, Annexe 3), qui fait partie de la Procédure pour la tenue de dossiers sur le contrôle des processus liés à la Cpp.
- 2.7.3 L'UCQ doit conserver le formulaire SPI numéro 0172/001 (*Sommaire sur les générations multiples de Cpp*, Annexe 5).

## **2.8 Calculs**

- 2.8.1 Une solution de travail de SDS à 1 % doit être préparée en ajoutant 10 ml de solution de réserve de SDS à 10 % à 90 ml de dH<sub>2</sub>O.
- 2.8.2 Une solution de réserve de SDS à 10 % doit être préparée en dissolvant 10 g de dodécylsulfate sodique (C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>O<sub>4</sub>SNa; FW 288.4) dans environ 90 ml de dH<sub>2</sub>O (chauffer à 68 °C pour faciliter la dissolution). Après la dissolution, il faut ajuster le volume final à 100 ml au moyen de dH<sub>2</sub>O et l'entreposer à la température de la pièce dans une bouteille hermétiquement fermée.

## **2.9 Documents et rapports**

- 2.9.1 Pour se conformer à la présente PON, il faudra notamment remplir les formulaires suivants :
- (a) *Feuille de suivi des Cpp* (version actuelle du formulaire SPI numéro 0132).
  - (b) *Détection microbienne d'échantillons de Cpp* (formulaire SPI numéro 0170/001, Annexe 1).
  - (c) *Rapport de CQ des Cpp adultes* (formulaire SPI numéro 0171/001, Annexe 2).
  - (d) *Sommaire sur l'élevage de Cpp* (formulaire SPI numéro 0173/001, Annexe 3).
  - (e) *Sommaire sur les générations multiples de Cpp* (formulaire SPI numéro 0172/001, Annexe 5).
  - (f) *Taille des coques de nymphoses de Cpp* (formulaire SPI numéro 0175/001, Annexe 7).
- 2.9.2 Pour se conformer à la présente PON, il faudra notamment remplir le formulaire SPI numéro 0174/001, quand des échantillons non adultes auront été transmis par l'UPI.



- 2.9.3 L'UCQ doit conserver les dossiers de tous les formulaires indiqués ci-dessus.
- 2.9.4 L'UCQ doit remettre à l'UPI des copies électroniques des rapports de CQ, comme l'indique l'article 2.5.
- 2.9.5 L'UCQ doit préparer et conserver des *graphiques sur le contrôle des procédés* à jour, comme l'indique l'Annexe 4.
- 2.9.6 L'UCQ doit mettre tous les dossiers à la disposition du Groupe consultatif sur l'élevage d'insectes.

### **3.0 DISTRIBUTION ET ARCHIVAGE**

#### **3.1 Distribution**

Le gestionnaire des SPI est tenu de distribuer la présente PON à tous les employés de l'UCQ.

#### **3.2 Archivage**

- 3.2.1 Le gestionnaire des SPI doit conserver un dossier historique de la présente PON, lorsque celle-ci est remplacée par une nouvelle version.
- 3.2.2 L'UCQ doit s'assurer que tous les formulaires dont il est fait mention dans la section 2.9 sont conservés de manière à pouvoir être récupérés au moment opportun.
- 3.2.3 L'UCQ doit conserver tous les échantillons et les lames de dérivés, comme précisé dans la version actuelle de la PON SPI/029 (*Suivi d'échantillons aux fins de CQ*).

#### **3.3 Destruction des PON désuètes**

Lorsque de nouvelles versions de la présente PON seront disponibles aux fins de distribution, toutes les personnes qui seront en possession d'une copie contrôlée s'assureront que la version retirée est retournée au gestionnaire des SPI, sur demande.

### **4.0 ASSURANCE DE LA VALIDATION ET DE LA CONFORMITÉ DE LA PON**

#### **4.1 Personne responsable**

- 4.1.1 La technicienne ou le technicien responsable du CQ est responsable de s'assurer de la validité de la présente PON.
- 4.1.2 Elle ou il doit s'assurer que les employés de l'UCQ se conforment à la présente PON et qu'ils ont reçu une formation adéquate en ce qui a trait à son application.
- 4.1.3 Les employés de l'UCQ sont responsables de se conformer aux procédures énoncées dans une *copie contrôlée* de la présente PON, et ne doivent jamais utiliser de copies non contrôlées qui pourraient être désuètes.

### **5.0 RÉVISION DE LA PON**

#### **5.1 Personne responsable**



La technicienne ou le technicien responsable du CQ doit s'assurer que la présente PON est actuelle. Au besoin, elle ou il entreprendra le processus de révision.

## **5.2 Calendrier de révision**

La présente PON devra être révisée lorsque ses dispositions ne concorderont plus avec les pratiques ou politiques actuelles du CFGL, et devra être approuvée par le gestionnaire des SPI.

## **6.0 CONTINGENCES**

Lorsque les employés de l'UCQ découvrent des circonstances qui ne permettent pas de se conformer à la présente PON, ils doivent consulter la technicienne ou le technicien responsable du CQ.

## **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**

Version actuelle des PON suivantes :

- a) PON SPI/004 (*Homogénéisateur*)
- b) PON SPI/029 (*Suivi d'échantillons aux fins de CQ*)

Version actuelle du formulaire suivant :

- a) Formulaire SPI numéro 0132 (*Feuille de suivi des Cpp*)

## **9.0 ANNEXES**

- Annexe 1 : Formulaire SPI numéro 0170/001 (*Détection microbienne d'échantillons de Cpp*)
- Annexe 2 : Formulaire SPI numéro 0171/001 (*Rapport de CQ des Cpp adultes*)
- Annexe 3 : Formulaire SPI numéro 0173/001 (*Sommaire sur l'élevage de Cpp*)
- Annexe 4 : *Procédure pour la tenue de dossiers sur le contrôle des processus liés à la Cpp*
- Annexe 5 : Formulaire SPI numéro 0172/001 (*Sommaire sur les générations multiples de Cpp*)
- Annexe 6 : Formulaire SPI numéro 0174/001 (*Rapport de CQ des échantillons de Cpp non adultes*)
- Annexe 7 : Formulaire SPI numéro 0175/001 (*Taille des coques de nymphoses de Cpp*)





Annexe 1

**Détection microbienne d'échantillons de Cpp**

Code d'identification :

**Détection d'adultes**

N° de sac	Colorant 10B			Colorant BPB			Commentaires
	Date de l'examen (JJ-MM-AA)	Résultats		Date de l'examen (JJ-MM-AA)	Résultats		
		Microsporidies	Autre		VPC	Autre	
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							

Effectué par : \_\_\_\_\_ Effectué par : \_\_\_\_\_

**Bandes de gaze**

Comptes de L2					Résultats de diagnostic				
Date de l'examen (JJ-MM-AA)	N° de Co sorties de diapause	N° de Co dans la gaze	% de pertes	Initiales	Date de l'examen (JJ-MM-AA)	VPC	Microsporidies	Autre	Initiales

**Détection à d'autres stades**

Date de l'échantillonnage (JJ-MM-AA)	Stade	Date de l'examen (JJ-MM-AA)	VPC	Microsporidies	Autre	Commentaires	Initiales

Formulaire SPI numéro 0170/001



Annexe 2

**Rapport de CQ des  
Cpp adultes**

Code d'identification :

Date du rapport :

JJ - MM - AA

Numéro du sac	Contaminants microbiens (détection d'adultes)			Instructions à l'UPI		
				Maintien de la progéniture aux fins de colonie	Distribution de la progéniture <sup>1</sup>	
	VPC	Micro-sporidies	Autre		L2	Arrière IPU
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						

<sup>1</sup> L'UPI doit informer les clients au sujet de la présence possible d'agents pathogènes.

Instructions supplémentaires pour l'UPI :

Rempli par :

Formulaire SPI numéro 0171/001





Annexe 4

4 mai 2015

**Procédure de conservation des dossiers de contrôle des processus relatifs à Cpp**

À la réception d'un formulaire Cpp – Suivi de l'UPI :

1. S'assurer que le formulaire est dûment rempli, lisible et en ordre séquentiel par rapport au dernier formulaire reçu.
2. Estampiller le formulaire et y inscrire la date et ses initiales.
3. À l'aide d'un crayon-feutre de couleur, surlignez les données importantes ou inhabituelles (p. ex., des feuilles de gaze contenant des larves L2 exposées à une contamination fongique).
4. Faire les calculs suivants à l'aide d'une calculatrice et inscrire les résultats directement dans le formulaire Cpp – Suivi :
  - a) Le nombre de nymphes mâles au total et le pourcentage de nymphes éliminées
  - b) Le nombre de nymphes femelles au total et le pourcentage de nymphes éliminées
  - c) Le nombre de nymphes au total des deux sexes et le pourcentage de nymphes éliminées
  - d) Le nombre de larves L2 entrant en diapause dans chacun des sacs (c.-à-d. le nombre total de larves L2 dans les feuilles supérieure et inférieure, sans compter le nombre de larves L2 perdues)
  - e) Le nombre total de larves L2 dans tous les sacs (faire la somme des totaux de larves L2 dans les sacs, calculés au point 4d); inclure l'écart moyen et standard (dresser une liste du nombre de larves L2 obtenues de chacun des sacs dans une feuille de calcul Microsoft Excel; se reporter au point 7a-i pour des directives sur le calcul)
  - f) Le nombre total de toutes les larves L2 perdues de tous les sacs (faire la somme du nombre total de larves L2 perdues dans chacun des sacs)
  - g) Le pourcentage perdu de tous les sacs; p. ex.  $[f \div (e + f)] \times 100$
  - h) Le délai de développement en jours (c.-à-d. le nombre de jours entre la date de sortie de diapause de la cohorte et la date d'entrée en diapause des larves de la descendance). Le site Web suivant permet de calculer le délai de développement en jours : <http://www.timeanddate.com/date/duration.html>
5. Entrer les données suivantes dans la feuille de calcul Excel *Sommaire de l'élevage de Cpp* :
  - a) Le nombre de larves L2 sorties de la diapause (du formulaire Cpp – Suivi)
  - b) La durée de la diapause (du formulaire Cpp – Suivi)
  - c) Le nombre de godets préparés avec des morceaux de gaze (du formulaire Cpp – Suivi)
  - d) Le nombre de larves L2 laissées dans les feuilles de gaze (des dossiers de CQ)
  - e) Le nombre de godets lors de la destruction sélective (du formulaire Cpp – Suivi)
  - f) Le nombre de nymphes (du formulaire Cpp – Suivi)
  - g) La taille des nymphes mâles, en mm (des dossiers de CQ)
  - h) La taille des nymphes femelles, en mm (des dossiers de CQ)
  - i) Le pourcentage de nymphes mâles éliminées (du formulaire Cpp – Suivi)
  - j) Le pourcentage de nymphes femelles éliminées (du formulaire Cpp – Suivi)
  - k) Le pourcentage de nymphes éliminées des deux sexes (du formulaire Cpp – Suivi)
  - l) Le pourcentage de pertes de larves L1 dans les bacs (du formulaire Cpp – Suivi)
  - m) Le délai de développement (du formulaire Cpp – Suivi)
  - n) Le nombre moyen de larves L2 dans chacun des sacs (du formulaire Cpp – Suivi; voir le point 4e)
  - o) Le nombre de sacs (du formulaire Cpp – Suivi)
  - p) Le nombre de larves L2 entrées en diapause (du formulaire Cpp – Suivi)
6. La feuille de calcul Excel *Sommaire de l'élevage de Cpp* calculera automatiquement ce qui suit :
  - a) Le nombre de larves L2 par godet
  - b) Le pourcentage de pertes de larves L2



4 mai 2015

- c) Le nombre de larves lors de la destruction sélective
  - d) Le pourcentage de pertes (larves L2 survivantes jusqu'à la destruction sélective)
  - e) Le pourcentage de pertes (de la destruction sélective jusqu'à la pupaison)
  - f) Le pourcentage de pertes (de la diapause jusqu'à la pupaison)
  - g) Le nombre de larves L2 par femelle
7. Utiliser la fonction d'analyse statistique dans Microsoft Excel pour calculer le nombre moyen de larves L2 dans chacun des sacs de la manière suivante :
- a) Dans une colonne d'une feuille de calcul Microsoft Excel, faire une liste du nombre de larves L2 pour chacune des chambres d'accouplement
  - b) Cliquer l'onglet *Tools* (outils)
  - c) Cliquer *Data Analysis* (analyse de données)
  - d) Cliquer *Descriptive Statistics* (statistique descriptive)
  - e) Sélectionner la *Input Range* (plage d'entrée), c.-à-d. le nombre de larves L2 dans chacun des sacs
  - f) Sélectionner la *Output Range* (plage de sortie), c.-à-d. là où les résultats apparaîtront dans la feuille de calcul
  - g) Cliquer *Summary Statistics* (statistiques sommaires)
  - h) Cliquer *OK*
  - i) Copier le nombre moyen de larves L2 dans chacun des sacs dans le *Sommaire d'élevage de Cpp* pour la génération courante. Le nombre de larves L2 par femelle sera calculé automatiquement dans la feuille de calcul Excel.
8. Automatiquement, l'application Excel présentera (en rouge) les données dans le *Sommaire d'élevage de Cpp* qui sont hors des limites supérieures et inférieures ciblées. Essayer de déterminer la source du problème en discutant avec le personnel de l'UPI à partir de notes sur le formulaire de suivi ou en examinant les documents sur le contrôle de la production; consigner la source du problème dans la partie « Commentaires » du sommaire de l'élevage et dans le formulaire de suivi pour chaque cohorte touchée; si possible, prendre des mesures correctives pour que cela ne se reproduise pas.
9. Ensuite, les données sur la taille moyenne des nymphes et le nombre moyen de larves L2 par femelle sont entrées dans deux *Tableaux de contrôle des processus* (l'un pour la génération courante de Cpp et l'autre pour chacune des familles de Cpp, tous deux sur le lecteur de réseau du CQ et de MPM). Automatiquement, Microsoft Excel mettra à jour la taille des nymphes mâles, la taille des nymphes femelles et le nombre de larves L2 par femelle dans les tableaux de contrôle des processus pour chaque cohorte de la génération courante et pour chaque famille (les limites supérieures et inférieures de contrôle ont été calculées à partir de deux écarts standard). Imprimer tous les tableaux en couleurs et les conserver dans un dossier de pair avec les formulaires de suivi pour la génération courante de Cpp. Conserver les tableaux de contrôle des processus pour chaque famille de Cpp dans leurs dossiers respectifs.
10. Essayer de déterminer la raison pour laquelle il y a eu des données sur la production hors des limites supérieures et inférieures de contrôle en discutant avec le personnel de l'UPI à partir de notes sur le formulaire de suivi ou en examinant les documents sur le contrôle de la production; consigner la cause dans la partie « Commentaires » du formulaire *Sommaire de l'élevage de Cpp* et dans le formulaire *Cpp – Suivi* pour chaque cohorte touchée; si possible, prendre des mesures correctives pour que cela ne se reproduise pas.
11. En cas d'anomalies dans la production ou le contrôle des processus (p. ex., une panne dans la salle d'élevage), entrez des commentaires dans la feuille de calcul Excel *Sommaire de l'élevage de Cpp*.
12. L'application Excel inscrira automatiquement la date du jour en cours sur la feuille de calcul. Imprimer le *Sommaire de l'élevage de Cpp* en couleurs et le conserver dans le dossier de pair avec le formulaire *Cpp – Suivi* et les *Tableaux de contrôle des processus* pour la génération courante de Cpp.



Annexe 5

**Sommaire sur les générations multiples de Cpp**

Génération L2/gobelet L2	% de pertes de L2-éclaircissage	% de pertes de L2-éclaircissage à la pupaison	Taille des pupes M (mm)	Taille des pupes F (mm)	% de M éliminées	% de F éliminées	% de pupes éliminées	% de pertes de L1	% de dispauses à la pupaison	Temps de dével. (jours)	L2/sac	L2/F	N <sup>m</sup> moyen de L2/semaine	N <sup>m</sup> total de L2	

Formulaire SPI numéro 0172/001



Annexe 6

**Rapport de CQ des échantillons de *Cpp* non adultes**

Date du rapport :

JJ - MM - AA

Type d'échantillon :

Description ou identité de l'échantillon :

Résultats de diagnostic :

Instructions pour l'UPI :

Rempli par :

Formulaire SPI numéro 0174/001

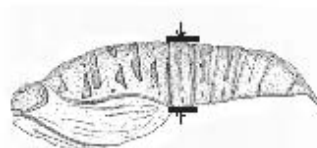


Annexe 7

### Taille des coques de nymphoses de *Cpp*

Code d'identification :

Mâle (mm)	Femelle (mm)
Initiales :	Initiales :



On prend la mesure linéaire le long du plan dorsiventral du premier segment de la coque de nymphe postérieur aux ébauches alaires.





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

## **Procédure opérationnelle normalisée**

*CQ pour la Cpp*

*Numéro de PON : SPI/022/001*

*Date d'entrée en vigueur : 6 mai 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](mailto:droitdauteur.copyright@rncan-nrcan.gc.ca).