



Direction générale de l'alimentation
Service des actions sanitaires en production
primaire
Sous-direction de la qualité et de la protection des
végétaux
Bureau des semences et de la santé des végétaux
251 rue de Vaugirard
75 732 PARIS CEDEX 15
0149554955

Instruction technique
DGAL/SDQPV/2015-585
29/06/2015

Date de mise en application : 04/06/2015

Diffusion : Tout public

Date limite de mise en œuvre : 04/06/2015

Cette instruction abroge :

DGAL/SDQPV/N2010-8217 du 04/08/2010 : Méthode d'analyse MOA 006 partie A version 1b et partie B version 1b, pour la détection des phytoplasmes de la flavescence dorée (FD) et du bois noir (BN).

Cette instruction ne modifie aucune instruction.

Nombre d'annexes : 0

Objet : Méthode d'analyse MOA 006, pour la détection des phytoplasmes du groupe 16SrV (Flavescence dorée - FD) et du groupe 16SrXII (Bois noir - BN)

Destinataires d'exécution

ANSES - LSV
Laboratoires agréés
DRAAF-SRAL

Résumé : La présente note a pour objet la publication de la méthode officielle MOA006 version 2 pour la détection des phytoplasmes du groupe 16SrV (Flavescence dorée) et du groupe 16SrXII (Bois noir) sur vigne par PCR triplex en temps réel.
Publication de la méthode officielle pour la détection de la flavescence dorée et du bois noir.

Textes de référence : - Articles L. 202-1 à 5, L. 203-1 et R. 202-1 à 21 du Code rural et de la pêche maritime ;

- Décret 2006-7 du 4 janvier 2006 relatif aux laboratoires nationaux de référence, ainsi qu'à l'agrément et à la reconnaissance des laboratoires d'analyses dans le domaine de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux ;
- Arrêté ministériel du 19 décembre 2007 fixant les conditions générales d'agrément des laboratoires d'analyses dans le domaine de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux ;
- Arrêté du 29 décembre 2009 modifié, désignant les laboratoires nationaux de référence dans le domaine de la santé publique vétérinaire et phytosanitaire.

La présente note a pour objet la publication officielle de la méthode de détection des phytoplasmes de la Flavescence dorée (groupe de la Jaunisse de l'Orme – 16 SrV) et du Bois noir (groupe du Stolbur – 16 SrXII), organismes nuisibles phytopathogènes responsables de deux maladies appartenant à la catégorie des jaunisses de la vigne.

Contexte réglementaire

La flavescence dorée de la vigne est une maladie qui provoque le dépérissement des ceps de vigne. Fortement épidémique, cette maladie est essentiellement propagée par un insecte vecteur, la cicadelle de la flavescence dorée *Scaphoideus titanus*.

Le phytoplasme de la flavescence dorée est mentionné parmi les organismes réglementés au niveau européen (annexe II, A, II de la directive 2000/29/CE). C'est un organisme de lutte obligatoire en France (arrêté du 31 juillet 2000), ce qui justifie l'adoption de mesures réglementaires destinées à mettre en circulation des plants présentant toutes les garanties d'absence du phytoplasme.

L'arrêté ministériel du 19 décembre 2013 réglemente les mesures de lutte contre le phytoplasme et son vecteur. Il rend obligatoire :

- dans son article 2, la lutte contre le phytoplasme sur tout le territoire national,
- dans son article 3, la surveillance et la déclaration de symptômes de flavescence dorée par tout propriétaire ou détenteur de vignes,
- dans son article 4, la lutte contre le vecteur dans les périmètres de lutte et, concernant les vignes-mères et les pépinières, sur tout le territoire national.

Le bois noir de la vigne (phytoplasme du stolbur), maladie à phytoplasme différent de celui de la flavescence dorée est aussi très présent dans toutes les régions viticoles. Le mode de contamination de la vigne est essentiellement dû à l'insecte vecteur *Hyalesthes obsoletus*, à partir de plantes sauvages (orties, liserons,...). Ce n'est pas une maladie épidémique. La lutte contre son vecteur n'est pas envisageable : la vigne n'est pas hôte obligatoire de l'insecte et une part importante du cycle se fait sous terre et sur des plantes sauvages.

Les symptômes de bois noir sont identiques à ceux de la flavescence dorée. On ne peut donc distinguer les deux maladies qu'en complétant le contrôle visuel par une analyse officielle réalisée par un laboratoire agréé. L'annexe B de l'arrêté du 31 juillet 2000 modifié permet de rendre obligatoire, par arrêté préfectoral la lutte contre le bois noir dans les périmètres de lutte contre la flavescence dorée pour en faciliter la gestion.

Méthode de détection

La méthode officielle de détection des phytoplasmes de la Flavescence dorée et du Bois noir sur vigne par PCR triplex en temps réel est la MOA 006 version 2 a, disponible sur le site de l'ANSES (www.anses.fr).

La technique décrite permet les amplifications simultanées de 3 fragments d'ADN, les 2 premiers étant spécifiques de chacun des groupes de phytoplasmes recherchés (groupe 16SrV pour la Flavescence dorée et groupe 16SrXII pour le Bois noir), le 3^{ème} étant spécifique d'une partie du génome de la vigne. Ces amplifications sont réalisées à l'aide de 3 couples d'amorces spécifiques et à chacun de ces couples, est associée une sonde permettant la mise en évidence au cours de l'amplification d'un éventuel produit de PCR.

Analyses officielles ; Confirmations

La MOA 006 version 2 a est la méthode qui doit être utilisée pour les analyses officielles notamment dans le cadre des contrôles phytosanitaires concernant la flavescence dorée de la vigne en surveillance du territoire.

Selon le contexte épidémiologique, et à la demande des SRAL, tout échantillon peut faire l'objet d'une analyse de confirmation (cf. NS DGAL/SDQP/2014-638 du 31/07/2014).

Les analyses de confirmation sont réalisées par le laboratoire national de référence (Anses - Laboratoire de la santé des végétaux - Unité Bactériologie, virologie et OGM – Angers).

Analyses en doublons.

Selon l'ordre de service d'action annuel un nombre programmé d'échantillons seront envoyés par les DRAAF-SRAL (ou organismes délégataires) ou par les services territoriaux de FranceAgriMer au Laboratoire national de référence (laboratoire de la santé des végétaux de l'Anses (LSV)), sans facturation d'analyse, **avec le même code que celui envoyé au laboratoire agréé.**

Il s'agit uniquement d'échantillons prélevés en doublons : l'échantillon prélevé doit être le plus proche possible de l'échantillon envoyé au laboratoire agréé (ex : prélèvement de 10 feuilles sur les ceps prélevés, envoi de 5 feuilles aléatoirement tirées au sort au laboratoire agréé, les 5 autres pour le LNR). Attention : les échantillons envoyés au LNR ne donneront pas lieu à des rapports d'analyse. Ils permettent au LNR de garder la compétence sur l'ensemble du processus analytique. L'envoi des échantillons en doublons est donc impératif (cf. NS DGAL/SDQPV/2014-638 du 31/07/2014).

Je vous saurais gré de bien vouloir me faire connaître les éventuelles difficultés rencontrées dans la mise en œuvre de ces instructions.

Le Directeur Général de l'Alimentation

Patrick DEHAUMONT