



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

Note de service
DGAL/SDQSPV/2016-646
02/08/2016

Date de mise en application : Immédiate
Diffusion : Tout public

Cette instruction n'abroge aucune instruction.
Cette instruction ne modifie aucune instruction.
Nombre d'annexes : 1

Objet : Méthode officielle d'analyse ANSES/LSV/MA 020 relative à la détection de *Bursaphelenchus xylophilus* par PCR temps réel sur bois de conifères

Destinataires d'exécution

DRAAF
DAAF
ANSES LABORATOIRE DE LA SANTE DES VEGETAUX (LSV)
LABORATOIRES AGREES

Résumé : Publication de la méthode officielle d'analyse MA 020 relative à la détection de *Bursaphelenchus xylophilus* par PCR temps réel sur bois de conifères.

Textes de référence : Article R 202 du code rural, 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.

Cette note a pour objectif de rendre officielle la méthode de détection de *Bursaphelenchus xylophilus* par PCR temps réel sur bois de conifères ANSES/LSV/MA 020 en remplacement de la méthode MOA 020 partie A version 1a.

Cette méthode permet de détecter la présence de ce nématode dans des échantillons de bois de conifères, par extraction des nématodes (échantillon mis en contact avec l'eau, les nématodes vont ainsi migrer dans l'eau) puis détection par PCR temps réel.

Cette méthode doit être utilisée pour les analyses officielles en surveillance du territoire. Tout résultat positif obtenu avec cette méthode d'analyse doit être confirmé par une analyse morphologique et PCR conventionnelle réalisée par le laboratoire national de référence pour les nématodes phytopathogènes.

Pour rappel, le nématode du pin, *Bursaphelenchus xylophilus*, est un parasite qui attaque de façon sévère les conifères et cause la maladie dite « maladie du dépérissement du pin » (ou « pine wilt disease »). *B. xylophilus* est listé en annexe II, partie A, chapitre I de la directive 2000/29/CE.

Toute nouvelle version avec modification mineure de la méthode MA 020 est d'application immédiate (au 1^{er} du mois suivant celui figurant sur la première page de la méthode publiée) et toute nouvelle version avec modification majeure de la méthode devra être mise en œuvre au plus tard le 1^{er} du 15^{ème} mois après le mois figurant en première page de la version de la méthode publiée par l'Anses.

La méthode MA 020 version 2 est applicable de façon obligatoire à compter du 01/01/17 et est disponible sur le site internet de l'Anses (<https://www.anses.fr/fr/content/m%C3%A9thodes-d%E2%80%99analyse-des-laboratoires-nationaux-de-r%C3%A9f%C3%A9rence-de-l%E2%80%99anses>).

Par ailleurs, vous trouverez en annexe, la liste des méthodes officielles dans le domaine de la santé des végétaux.

Le directeur général adjoint de l'alimentation
Chef du service de la gouvernance
et de l'international
CVO
Loïc EVAÏN

ANNEXE 1

Liste des méthodes officielles dans le domaine de la santé des végétaux

<i>Référence de la méthode</i>	<i>Titre du document</i>	<i>Annule et remplace</i>	<i>Lien</i>
BL/05/07	Mise en évidence d' <i>Erwinia amylovora</i> à partir de végétal symptomatique par isolement et identification de la souche		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
BL/06/01	Mise en évidence de <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i> à partir de végétal symptomatique par isolement et identification de la souche		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
BH/06/01 + erratum	Semences de tomate, détection de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> (agent du chancre bactérien de la tomate) par immunofluorescence indirecte		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA028	Détection de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>dieffenbachiae</i> (Xad) sur <i>Anthurium</i> spp.		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA030	"Détection de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> par isolement sur milieux nutritifs et identification de la souche sur semences de haricot (isolement)"		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA033	Détection de <i>Candidatus Liberibacter</i> spp. provoquant le Huanglongbing (HLB) par PCR conventionnelle		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA036	Détection des souches sur <i>Musa</i> spp. responsables de la Maladie de la Moko et des variants IIB-4NPB dans le complexe d'espèces <i>Ralstonia solanacearum</i> par duplex-		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses

	PCR conventionnelle		
MA 039	Détection de <i>Xylella fastidiosa</i> par PCR en temps réel sur plantes hôtes		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 007 partie A	Tout végétal, identification d'aleurodes d'intérêt agronomique par observation morphologique des pupariums		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 007 partie B	Identification de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius, 1889) (Hemiptera : Aleyrodidae) par observation morphologique des pupariums		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 007 partie C	Identification de <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Westwood, 1856) (Hemiptera : Aleyrodidae) par observation morphologique des pupariums		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MF/97/04	Végétal : châtaignier (<i>Castanea</i> spp.) détection de <i>Cryphonectria parasitica</i> sur branches et / ou troncs par observation microscopique, mise en chambre humide et/ou isolement		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MGs/96/01	Semences de maïs, détection des spores de l'agent responsable du charbon des inflorescences (<i>Sphacelotheca reiliana</i>) par identification morphologique		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
ML/05/19	Végétal : camélia (<i>Camellia</i> spp.), détection de <i>Ciborinia camelliae</i> sur fleurs par observation macroscopique ou observation microscopique ou mise en chambre humide et observation microscopique		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 001	Détection de <i>Chalara fraxinea</i>		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 002	Végétal : pin (<i>Pinus</i> spp.), détection de <i>Mycosphaerella dearnessii</i> ou <i>M. pini</i> sur aiguilles par technique d'amplification génique		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses

MOA 003 partie A	Détection de <i>Gibberella circinata</i> / Nirenberg & O'Donnell (anamorphe <i>Fusarium circinatum</i> / Nirenberg & O'Donnell) dans une matrice de tissus végétatif par les techniques d'amplification par polymérisation en chaîne en temps réel et conventionnelle.		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reférence-de-l-anses
MOA 003 partie B	Détection de <i>Gibberella circinata</i> / Nirenberg & O'Donnell (anamorphe <i>Fusarium circinatum</i> / Nirenberg & O'Donnell) dans une matrice de graines par les techniques d'amplification par polymérisation en chaîne en temps réel et conventionnelle.		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reférence-de-l-anses
MOA 003 partie C	Détection de <i>Gibberella circinata</i> / Nirenberg & O'Donnell (anamorphe <i>Fusarium circinatum</i> / Nirenberg & O'Donnell) dans une matrice de tissu végétatif par les techniques d'isolement mycologique et caractérisation morphométrique.		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reférence-de-l-anses
MOA 003 partie D	Détection de <i>Gibberella circinata</i> sur insectes de type scolyte par PCR en temps réel.		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reférence-de-l-anses
MOA 015	Végétal : platane (<i>Platanus</i> spp.), détection de <i>Ceratocystis fimbriata</i> f.sp. platani sur bois par piégeage biologique		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reférence-de-l-anses
MOA 016	Détection in planta et identification en culture pure de : <i>Phytophthora fragariae</i> Hickman et <i>Phytophthora rubi</i> Man in't Velt par la technique d'amplification par polymérisation en chaîne		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reférence-de-l-anses
MOA 017	Détection sur semences et grains de céréales de <i>Tilletia indica</i> (agent de la carie de Karnal) par filtration sélective et identification morphologique		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reférence-de-l-anses
MOA 018 partie A	Détection de <i>Phytophthora ramorum</i> sur feuilles, rameaux, bourgeons et troncs par isolement		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reférence-de-l-anses

MOA 018 partie B	Détection in planta et identification en culture pure de : Phytophthora ramorum Werres, De Cock & Man in't Velt par la technique d'amplification par polymérisation en chaîne		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 025	"Détection de Monilinia fructicola (Winter) Honey sur fruits, fleurs, tissus lignifiés ou sur culture fongique, par la technique d'amplification par polymérisation en chaîne "		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MA 031	Détection de Melampsora medusae f. sp. deltoideae par PCR en temps réel		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 032	Détection de Plasmopara halstedii sur semences de tournesol par PCR en temps réel duplex		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 035	Détection de Mycosphaerella fijiensis par la technique de PCR en temps réel duplex		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MA 040	Détection de Phytophthora lateralis par PCR temps réel		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MA 041	Détection de Phyllosticta citricarpa par la technique PCR temps réel		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
NS/04/06	Sols et organes végétaux souterrains détection de Meloidogyne fallax Karssen, 1996 et de Meloidogyne chitwoodi Golden, O'bannon, Santo & Finley, 1980 (nématodes à galles)		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 012	Extraction, détection et identification morphobiométrique des nématodes phytoparasites.		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses

MOA 013 partie A	Détection du genre <i>Ditylenchus</i> sur sols, substrats et organes végétaux (bulbes, caïeux, cormus, tubercules, graines)		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 013 partie B	Identification morphobiométrique de <i>Ditylenchus dipsaci</i> et <i>D. destructor</i>		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 019 partie A	Détection des nématodes du genre <i>Globodera</i>		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 019 partie B	Identification de <i>Globodera pallida</i> et <i>G. rostochiensis</i> par analyse morphobiométrique et biomoléculaire		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MA 020 partie A	Détection de <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> par PCR temps réel sur bois de conifères	MOA 020 partie A version 1a.	https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 020 partie B	Détection et identification par analyse morphologique et biomoléculaire du nématode du pin <i>Bursaphelenchus xylophilus</i>		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 020 partie C	Détection de <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> par PCR temps réel dans un groupe d'insectes vecteurs		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 024 partie A	Détection de <i>Meloidogyne chitwoodi</i> et <i>M. fallax</i> dans un échantillon de sol par PCR temps réel		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 024 partie B	Identification morphobiométrique et biomoléculaire de <i>Meloidogyne chitwoodi</i> et <i>Meloidogyne fallax</i>		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 004	Détection des phytoplasmes responsables de l'enroulement chlorotique de l'abricotier, de la prolifération du pommier et du dépérissement du poirier		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses

MOA 006	Détection des Phytoplasmes de la vigne du groupe 16Srv (flavescence dorée) et du groupe 16SrXII (bois noir) - PCR triplex en temps réel		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
VH/01/03	Végétal : plantes de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>), détection du tomato yellow leaf curl geminivirus sérologiquement reliés par la technique sérologique ELISA		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
VH/02/04	Végétal : pomme de terre (<i>Solanum tuberosum</i>) détection de virus et phytoplasmes par la technique sérologique ELISA		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
VH/04/08	Végétaux herbacés, détection des virus Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) et Impatiens Necrotic Spot Virus (INSV) par technique sérologique ELISA		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
VH/05/11	Espèces légumières du genre <i>Fragaria</i> sp. Détection du potexviriadae Strawberry mild yellow edge virus par la technique sérologique ELISA		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
VH/06/13	Végétal : <i>Pelargonium</i> spp. Détection du Tomato ringspot nepovirus (ToRSV) par technique sérologique ELISA		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
VH1/06/01	Végétal : plantes herbacées, Détection du Tobacco Ringspot Nepovirus (TRSV) par technique sérologique ELISA		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
VV/04/05	Végétal : vigne (<i>Vitis</i> sp.), détection des virus par la technique sérologique DAS-ELISA		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 005	Détection du Banana Bract Mosaïc potyvirus (BBrMV) sur bananier par IC-RT-PCR		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 009	Détection du cucumber mosaïc virus (CMV), virus de la mosaïque du concombre sur bananier (<i>Musa</i> spp.) par la		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de

	technique sérologique ELISA		référence-de-l'anses
MOA 011 partie A	Sol : Détection du virus de la Rhizomanie de la betterave (Beet Necrotic Yellow Vein Virus) par test biologique suivi du test ELISA		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 011 partie A	"Détection du virus de la rhizomanie de la betterave Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) par la méthode sérologique ELISA "		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 014	Détection du Banana bunchy top virus (BBTV) sur Bananier (Musa spp.)		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 021	Détection du virus de la Sharka Plum Pox Potyvirus (PPV) par ELISA et RT-PCR en temps réel		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA026	Détection du Pepino mosaic virus (PepMV) sur semence de tomates par DAS-ELISA		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MA 029	Détection du Citrus tristeza virus sur plantes hôtes de la famille des Rutacées par la technique sérologique ELISA		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA034	Détection des Pospiviroides sur feuilles de plantes hôtes par RT-PCR en point final		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MA 037	Détection du Cymbidium Mosaic Virus (CymMV), sur Orchidaceae par la technique sérologique ELISA		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 008	Techniques ELISA : Bactériologie/Virologie		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-d-analyse-des-laboratoires-nationaux-de-reference-de-l-anses
MOA 010	Technique d'immunofluorescence indirecte		https://www.anses.fr/fr/content/methodes-

			d'analyse-des-laboratoires-nationaux-de-référence-de-l'anses
MOA 022	Techniques qualitatives d'amplification enzymatique des acides nucléiques : PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) , RT-PCR (REVERSE TRANSCRIPTION-PCR) et PCR temps réel Détection et identification des organismes phytopathogènes		https://www.anses.fr/fr/content/méthodes-d'analyse-des-laboratoires-nationaux-de-référence-de-l'anses
MOA REP 001	Répertoire des recettes en vigueur au LNPV		https://www.anses.fr/fr/content/méthodes-d'analyse-des-laboratoires-nationaux-de-référence-de-l'anses
MOA GLO 001	Glossaire général et technique en vigueur au LNPV		https://www.anses.fr/fr/content/méthodes-d'analyse-des-laboratoires-nationaux-de-référence-de-l'anses