

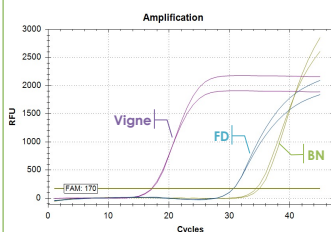


Flavescence dorée & Bois noir Détection par RT-PCR triplex

Principe de la méthode

La flavescence dorée (FD) et le bois noir (BN) sont deux maladies de jaunisse de la vigne causées par deux phytoplasmes. La détection de ces phytoplasmes est réalisée avec une méthode officielle basée sur une analyse par RT-PCR triplex (Ref. MOA 006 version 2a). A partir d'extraits d'ADN de pétioles prélevés sur des feuilles; dans la même réaction trois cibles sont recherchées : vigne, FD et BN (d'où le nom triplex).

Extraction ADN pétioles + RT-PCR* triplex



Référence - végétal	Interprétation		Matching
	CONIPHY	ANSES	
A1	FD+/BN-	FD+/BN-	<input checked="" type="checkbox"/>
A2	FD-/BN-	FD-/BN-	<input checked="" type="checkbox"/>
A3	FD-/BN+	FD-/BN+	<input checked="" type="checkbox"/>
A4	FD+/BN-	FD+/BN-	<input checked="" type="checkbox"/>
A5	FD-/BN-	FD-/BN-	<input checked="" type="checkbox"/>
A6	FD-/BN+	FD-/BN+	<input checked="" type="checkbox"/>

Exemple d'échantillons testés

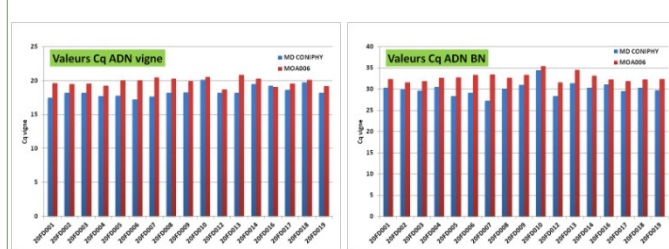
RT-PCR triplex sur des extraits ADN de pétioles prélevés sur des feuilles

*Real time quantitative PCR

Une méthode dérivée - CONIPHY

Afin d'optimiser l'analyse d'un nombre élevé d'échantillons dans des délais réduits, la partie extraction ADN de la méthode officielle a été modifiée. La méthode dérivée a été validée sur 40 échantillons de pétioles prélevés sur des feuilles en 2020. Les deux approches donnent des profils identiques pour la totalité des échantillons analysés (correspondance à 100%).

Validation méthode dérivée (MD)



Cq obtenus pour l'ADN de la vigne

Cq obtenus pour l'ADN du BN

Valeurs des Cq de RT-PCR triplex sur un panel d'échantillons analysés avec les deux méthodes.

Cq : cycle de quantification

Pour **validation**, des essais ont été menés au laboratoire CONIPHY sur 22 **échantillons** avec des profils variés (12 ADN et 10 matrices végétales) fournis par un laboratoire agréé par la **DGAL**. Les **résultats** obtenus par **CONIPHY** avec la méthode officielle sont **similaires** à ceux du laboratoire agréé. Deux étapes clés de la méthode officielle ont été reproduites/validées dans notre laboratoire : l'extraction d'ADN et l'amplification par RT-PCR triplex.

La méthode dérivée (semi-automatisée) de CONIPHY a permis de traiter en 2020 jusqu'à 300 échantillons dans un délai de 5 jours ouvrés.

Pour rappel : CONIPHY n'est pas un laboratoire de référence agréé pour les analyses FD & BN.

Remerciements à Mme Marianne LOISEAU du laboratoire LSV-ANSES d'Angers pour ses conseils.

CONIPHY réalise des travaux de recherche et développement sur la **Résistance aux Fongicides** pour les principaux agents pathogènes de différentes cultures (Céréales, Vigne, Pomme de Terre, Colza...).

Le laboratoire développe et maîtrise des **bio essais** (*in-vitro*, milieux gélosés, disques foliaires) et des analyses en **biologie moléculaire** (séquençage, qPCR, pyroséquençage ...). **CONIPHY** développe également des outils d'identification et de détection rapide des **Maladies des plantes**.

CONTACT



Parc d'activités en Chuel
Route de Chasselay
69650 QUINCIEUX



04 84 35 21 85



contact@coniphy.fr