



Rapport annuel d'activité, année 2022

Laboratoire National de Référence

Phytoplasmes sur toutes matrices

Nom du responsable du LNR

Pascal GENTIT

Nom du laboratoire où l'activité du LNR est mise en œuvre

Laboratoire de la santé des végétaux — station d'Angers

Nom de l'unité où l'activité du LNR est mise en œuvre

Unité de bactériologie, virologie et OGM (BVO)

Dangers sanitaires tels que définis par l'article L.201-1 du code rural et de la pêche maritime couverts par le mandat

Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 partie A : organismes de quarantaine non présents sur le territoire Européen

Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 partie B : organismes de quarantaine présents sur le territoire Européen

2019/2072EC Annexe IV : organismes réglementés non de quarantaine de l'Union (ORNQ)

La liste complète en annexe 1

Les faits marquants de l'année

Suite à la première détection en Guadeloupe de phytoplasmes du groupe 16SrIV, responsables de jaunissement mortel sur palmiers et cocotiers en 2021, l'année 2022 a été marquée par un flux constant d'analyses de routine pour la surveillance de cette maladie. Des travaux sont en cours pour caractériser la méthode de détection spécifique de ces phytoplasmes et évaluer des méthodes alternatives.

L'année 2022 a également été marquée par de nombreux travaux sur le phytoplasme de la Flavescence dorée : finalisation des travaux d'optimisation de la méthode pour la détection des phytoplasmes de la vigne, travaux de caractérisation des méthodes de typage permettant de distinguer ce phytoplasme des autres phytoplasmes du groupe 16SrV.

Cette année, la campagne de surveillance de la Flavescence dorée a été marquée par la détection de foyers dans deux régions jusque-là indemnes (Pays de Loire et Ile de France).

Abréviations

BN : Bois noir

FD : Flavescence dorée

LNR : laboratoire national de référence

SRAL : Service Régional de l'Alimentation

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Détection des phytoplasmes de la vigne (FD/BN – MA006).

Différentes méthodes pour extraire l'ADN total de la vigne ont été éprouvées. La méthode a été optimisée par rapport à la version précédente (réduction du temps d'essai et du risque chimique, simplification du suivi qualité, essai de nouveaux kits enzymatiques).

Typage du phytoplasme de la FD sensu stricto.

Dans le cadre du projet Euphresco FLADOVIGILANT, quatre méthodes de typage du phytoplasme de la FD permettant à la fois de distinguer ce phytoplasme des phytoplasmes du même groupe phylogénétique (16SrV) et de réaliser une traçabilité des contaminations ont été caractérisées via des essais intra-laboratoires et l'organisation d'un essai inter-laboratoire avec 12 participants, 90 échantillons, 3 méthodes évaluées. L'analyse de l'ensemble des résultats se poursuivra sur 2023.

Détection de phytoplasmes responsables du jaunissement mortel du palmier.

Les travaux de caractérisation de la méthode de PCR en temps réel spécifique pour la détection de ces phytoplasmes, adaptée de Cordova et al. (2004) ainsi que de méthodes alternatives ciblant une zone du génome différente se sont poursuivis en 2022. La méthode validée au sens de la norme ISO 17025 est programmée pour la fin 2023.

Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre

0 méthode(s)

Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année

0 méthode(s)

2. Matériels biologiques ou chimiques, échantillons et souches d'intérêt

Information disponible auprès du LNR.

3. Activités d'analyse

3.1 Analyses officielles de première intention

Nombre d'analyses officielles de première intention réalisées dans l'année

665 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Au total, le LNR a effectué 665 analyses de première intention en 2022. 76% de ces analyses correspondent aux analyses réalisées dans le cadre de la surveillance des phytoplasmes responsables du jaunissement mortel du palmier à la Guadeloupe. 11% correspondent à des analyses en doublon pour la surveillance des phytoplasmes responsables des jaunisses de la vigne (Flavescence dorée et Bois noir). Le restant correspond à des demandes ponctuelles de détection d'autres phytoplasmes.

On observe une augmentation ces 2 dernières années liée à la découverte des premiers cas de jaunissement mortel du palmier à la Guadeloupe et au fait que pour l'instant, ces analyses ne sont pas déléguées.

3.2 Analyses officielles de confirmation

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année

190 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Le LNR a réalisé 190 analyses de confirmation en 2022 pour la détection des phytoplasmes de la vigne (Flavescence dorée -FD et Bois noir -BN) sur demande des SRAL.

3.3 Autres analyses

Nombre estimé d'autres analyses (non officielles) réalisées dans l'année en lien avec le mandat de LNR

3500 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Le LNR a réalisé environ 3500 analyses autres pour la détection de phytoplasmes. 15% de ces analyses correspondent aux travaux de caractérisation de méthodes de détection du jaunissement mortel du palmier, 11% aux travaux d'optimisation de la PCR en temps réel pour la détection des phytoplasmes de la vigne (FD/BN), 69% aux travaux de caractérisation des méthodes de typage du phytoplasme de la FD et 5% correspondent aux besoins du maintien de l'assurance qualité pour la ligne de détection de ces mêmes phytoplasmes. Sur demande de l'unité de quarantaine du LSV, le LNR a réalisé également quelques analyses sur citrus présentant des symptômes de balai de sorcière. Ces analyses sont 3,5 fois plus importantes qu'en 2021.

3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année
Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

- National : 0
- UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE) : 1 (NIB)
- International : 0

4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR et du réseau

Oui

Types de matériaux de référence produits et fournis (MRE, MRI, contrôle positif ou négatif, autre)

Les matériaux de référence produits sont des contrôles positifs

Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence

Extraits ADN de vigne ou lyophilisat de pétioles de vigne positive pour FD et/ou BN

Nombre de lots produits dans l'année

0

Nombre d'unités distribuées au plan national

0

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années

Cette activité est très irrégulière et fluctuante d'une année sur l'autre.

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Non

5. Activités d'appui scientifique et technique

5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé ...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR

Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année

0 demande(s)

Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente

0 rapport(s)

5.2 Autres expertises

Les membres de l'équipe du LNR peuvent avoir des activités d'expertise (internes : CES, GT ou externe : EFSA ...) ou des activités auprès de commissions de normalisation (Afnor ...).

Le LNR participe aux GT 'Dépérissement de la vigne' et 'Veille sanitaire internationale' de la plateforme d'épidémiosurveillance en santé des végétaux (2 jours).

Le LNR a fait une revue bibliographique sur '*Candidatus Phytoplasma aurantifolia*' pour la période Décembre 2020 – Mars 2022 pour les besoins du panel OEPP 'Diagnostic en virologie et phytoplasmodologie' (2 jours).

5.3 Dossiers de demande d'agrément

Nombre de dossiers de demande d'agrément étudiés dans l'année

0 dossier(s)

5.4 Activités d'appui

Description de ces activités et estimation du temps consacré

Le LNR a effectué une expertise pour le SRAL PACA concernant la possibilité qu'*Amorpha fruticosa* soit une plante hôte du phytoplasme responsable de la Flavescence dorée de la vigne (1 semaine).

Le LNR a participé à l'audit d'agrément 2019/829 pour deux laboratoires privés. Ces audits visaient une autorisation d'agrément pour la détention et la manipulation des organismes de quarantaine. Ces deux audits ont été des audits documentaires (6 jours).

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Oui

Nombre de laboratoires agréés dans le réseau

5 laboratoires

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Non

6.2 Essais interlaboratoires d'aptitude

6.2.1 Organisation d'essais interlaboratoires d'aptitude

Nombre d'EILA organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILA

6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers

Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)

Non

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires

Actions mises en œuvre

Le LNR reçoit des échantillons en doublon pour la détection des phytoplasmes de la vigne (FD/BN). Ces échantillons servent principalement à maintenir la compétence du LNR sur la

phase d'extraction des acides nucléiques. Toutefois, en 2022, l'analyse de deux de ces échantillons a permis de mettre en évidence un défaut de sensibilité dans un laboratoire agréé du réseau. L'analyse des causes est toujours en cours au moment de la rédaction de ce rapport.

6.4 Formation, organisation d'ateliers

Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année

1 journée(s)

Détail de ces activités et nombre de participants par journée

Journée d'échange LNR/laboratoires agréés commune à l'ensemble des LNR en santé végétale de l'Anses (70 participants)

Nombre de sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels, organisées dans l'année

0 session(s) de formation

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Dans le cadre d'un jumelage Algérie – France, le LNR a délivré une formation théorique de détection des phytoplasmes sur végétaux aux collègues algériennes (3 jours).

6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)

Nombre d'EIL de validation (EILV) organisés par le LNR au cours de l'année

1 EILV

Nom de l'EILV et détail du nombre de laboratoires ayant participé pour chaque EILV

22FD - Essai interlaboratoire de validation des méthodes de typage des phytoplasmes responsables de la Flavescence dorée de la vigne sensu stricto, 12 laboratoires (3 allemands, 1 américain, 2 français, 1 irlandais, 1 italien, 1 portugais, 1 slovène, 1 suisse et 1 turque), organisé dans le cadre du projet Euphresco FLADOVIGILANT.

Nombre d'EIL de transfert (EILT) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILT

7. Surveillance, alertes

7.1 Surveillance programmée par l'autorité sanitaire, notamment PS/PC et prophylaxie officielle en santé animale

L'autorité sanitaire a mis en œuvre dans l'année une surveillance programmée dans le champ du LNR

Oui

7.2 Autres activités de surveillance

Le LNR est impliqué dans des activités de surveillance autres que celle programmée par l'autorité sanitaire

Non

7.3 Fiches d'alerte ou de signal

Le LNR a émis dans l'année des fiches d'alerte ou de signal dans Salsa (système d'alerte sanitaire de l'Anses)

Non

8. Activités de recherche en lien avec l'activité de référence

Acronyme	Titre	Statut
Euphresco PhyFor 2016-F-211	Phytoplasmes des forêts	terminé
Euphresco Phylib III 2019-F-310	The biology and epidemiology of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' and potato phytoplasmas and their contribution to risk management in potato and other crops	terminé
Euphresco FLADOVIGILANT 2020-A-344	A development of the efficient method for discriminating grapevine flavescence dorée sensu stricto from other phytoplasmas in the same group and study of potential correlation between 16SrV phytoplasmas isolates infecting grapevine and hazelnut plants.	en cours

9. Relations avec le CNR

Existence d'un CNR dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

10. Relations avec le LRUE

Détention d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

Existence d'un LRUE dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du LRUE et nom de l'organisation détenant le mandat

Pests on plants - on Viruses, Viroids and Phytoplasmas

Mandat détenu par le consortium Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority (NVWA - Pays Bas), National Institute of Biology (NIB - Slovénie) et Research Centre for Plant (CREA - Italie)

Le LNR a participé au Workshop organisé par le LRUE

Oui

Le LNR a participé à une/des formation(s) organisée(s) par le LRUE

Pas de formation proposée

Questions posées au LRUE par le LNR dans l'année

Sans objet

Points particuliers ou d'actualité sur l'année, à signaler

Le LNR a réalisé quelques analyses pour le LRUE qui essaie de réunir une collection de référence d'ADN pour la détection des phytoplasmes réglementés en Europe. Dans ce cadre, le LNR a analysé des g-blocks produits par le LRUE pour les phytoplasmes responsables du jaunissement mortel du palmier avec la méthode de PCR en temps réel adaptée du protocole OEPP PM7/133.

11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international

Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences

Aucun

ANNEXE 1

Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 partie A : organismes de quarantaine non présents sur le territoire Européen

N°	Organisme
12.	Phytoplasmes responsables de la jaunisse létale des palmiers [PHYP56]: <ul style="list-style-type: none">- <i>Candidatus</i> Phytoplasma cocostanzania – sous-groupe 16SrIV-C- <i>Candidatus</i> Phytoplasma palmae – sous-groupes 16SrIV-A, 16SrIV-B, 16SrIV-D, 16SrIV-E, 16SrIV-F- <i>Candidatus</i> Phytoplasma palmicola – 16SrXXII-A- Souche liée à <i>Candidatus</i> Phytoplasma palmicola – 16SrXXII-B- Nouveau <i>Candidatus</i> Phytoplasma du groupe 16SrIV responsable de la jaunisse létale des palmiers – «syndrome de Bogia»
22.	Phytoplasmes de <i>Cydonia</i> Mill., de <i>Fragaria</i> L., de <i>Malus</i> Mill., de <i>Prunus</i> L., de <i>Pyrus</i> L., de <i>Ribes</i> L., de <i>Rubus</i> L. et de <i>Vitis</i> L.: <ul style="list-style-type: none">- Buckland valley grapevine yellows phytoplasma [PHYP77]- Souches liées à <i>Candidatus</i> Phytoplasma aurantifolia (Pear decline Taiwan II, Crotalaria witches'broom phytoplasma, Sweet potato little leaf phytoplasma [PHYP39])- <i>Candidatus</i> Phytoplasma australiense Davis <i>et al.</i> [PHYPAU] (souche de référence)- <i>Candidatus</i> Phytoplasma fraxini (souche de référence) Griffiths <i>et al.</i> [PHYPFR]- <i>Candidatus</i> Phytoplasma hispanicum (souche de référence) Davis <i>et al.</i> [PHYP07]- <i>Candidatus</i> Phytoplasma phoenicium [PHYPPH]- souche liée à <i>Candidatus</i> Phytoplasma pruni (North American grapevine yellows, NAGYIII) Davis <i>et al.</i>- souche liée à <i>Candidatus</i> Phytoplasma pyri (Peach yellow leaf roll) Norton <i>et al.</i>- <i>Candidatus</i> Phytoplasma ziziphi (souche de référence) Jung <i>et al.</i> [PHYPZI]
23.	Phytoplasmes de <i>Solanum tuberosum</i> L. et autres <i>Solanum</i> spp. à tubercules: <ul style="list-style-type: none">- <i>Candidatus</i> Phytoplasma americanum- Souches liées à <i>Candidatus</i> Phytoplasma aurantifolia (GD32; St_JO_10, 14, 17; PPT-SA; Rus-343F; PPT-GTO29, -GTO30, -SINTV; Potato Huayao Survey 2; Potato hair sprouts)- Souches liées à <i>Candidatus</i> Phytoplasma fragariae (YN-169, YN-10G)- Souches liées à <i>Candidatus</i> Phytoplasma pruni (Clover yellow edge, Potato purple top Akpot7, MT117, Akpot6; PPT-COHP, -GTOP)

Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 partie B : organismes de quarantaine présents sur le territoire Européen

N°	Organisme
1.	Grapevine flavescence dorée phytoplasma [PHYP64]

2019/2072EC Annexe IV : organismes réglementés non de quarantaine de l'Union (ORNQ)

- Partie C: ORNQ concernant les matériels de multiplication de la vigne
- Partie D: ORNQ concernant les matériels de multiplication de plantes ornementales et d'autres végétaux destinés à la plantation à des fins ornementales
- Partie G: ORNQ concernant les plants de pommes de terre

- Partie J: ORNQ concernant les matériels de multiplication de fruits et les plantes fruitières destinées à la production de fruits

Partie	ORNQ ou symptômes causés par l'ORNQ	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences (genre ou espèce)
Partie C	<i>Candidatus</i> Phytoplasma solani Quaglino et al. [PHYPSO]	Vitis L.
Partie D	<i>Candidatus</i> Phytoplasma mali Seemüller & Schneider [PHYPMA]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Malus Mill.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma prunorum Seemüller & Schneider [PHYPPR]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Prunus L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma pyri Schneider [PHYPPY]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Pyrus L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma solani Quaglino et al. [PHYPSO]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Lavandula L.
Partie G	<i>Candidatus</i> Phytoplasma solani Quaglino et al. [PHYPSO]	Solanum tuberosum L.
Partie J	<i>Candidatus</i> Phytoplasma asteris Lee et al. [PHYPAS]	Fragaria L., Vaccinium L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma australiense Davis et al. [PHYPAU]	Fragaria L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma fragariae Valiunas, Staniulis & Davis [PHYPPG]	Fragaria L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma mali Seemüller & Schneider [PHYPMA]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Malus Mill.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma pruni [PHYPPN]	Fragaria L., Vaccinium L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma prunorum Seemüller & Schneider [PHYPPR]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Prunus avium L., Prunus armeniaca L., Prunus cerasus L., Prunus domestica L., Prunus dulcis (Mill.) D. A. Webb, Prunus persica (L.) Batsch, Prunus salicina Lindley
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma pyri [PHYPPY]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Pyrus L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma rubi Malembic-Maher et al. [PHYPRU]	Rubus L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma solani Quaglino et al. [PHYPSO]	Fragaria L., Vaccinium L.
	Cranberry false blossom phytoplasma [PHYPFB]	Vaccinium L.

Partie	ORNQ ou symptômes causés par l'ORNQ	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences (genre ou espèce)
	Strawberry multiplier disease phytoplasma [PHYP75]	Fragaria L.

ANNEXE 2

Liste des publications et communications 2022 dans le cadre du mandat de LNR « Phytoplasmes sur toutes matrices »

Les noms des auteurs appartenant au LNR sont soulignés. Les publications de cette liste sont sous presse ou publiées.

Publications scientifiques nationales et internationales

Pilet, Fabian, Marianne Loiseau, Claudine Boyer, Aurore Cavalier et Christiane Diman. 2022. "First report of Candidatus *Phytoplasma palmae*'(16SrIV-A subgroup) associated with palm Lethal Yellowing disease on *Cocos nucifera* and *Pritchardia* sp. in Guadeloupe, French West Indies." *Plant Disease*.

Communications internationales

Loiseau, Marianne, Aurore Cavalier, Isabelle Renaudin, Pascaline Cousseau-Suhard, Anaël Brunet, Fabian Pilet et Christine Diman. 2022. "One year of survey for lethal yellowing disease of palms in Guadeloupe, France." Poster 2nd congress of the International Society for Citrus Huanglongbing and Phloem-Colonizing Bacterial Pathosystems.