

**Rapport annuel d'activité, année 2019  
Laboratoire National de Référence  
Phytoplasmes sur toutes matrices**

**Nom du responsable du LNR**

Françoise POLIAKOFF

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

Laboratoire de la santé des végétaux

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

LSV – unité de bactériologie, virologie et OGM – site d'Angers

**Nom du ou des laboratoires ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré**

Sans objet

**Nom des unités ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré**

sans objet

## **Dangers sanitaires de catégories 1 et 2 couverts par le mandat**

Dangers sanitaires de catégorie 1: Grapevine flavescence dorée phytoplasma

Dangers sanitaires de catégorie 2: '*Candidatus Phytoplasma mali*', '*Candidatus Phytoplasma prunorum*', '*Candidatus Phytoplasma pyri*', '*Candidatus Phytoplasma solani*', '*Candidatus Phytoplasma ulmi*', Peach X-disease phytoplasma.

## **Les faits marquants de l'année**

De nouveaux foyers de Flavescence dorée (FD) ont été détectés en France notamment en Champagne, région viticole jusque-là indemne. Le laboratoire a été sollicité pour réaliser des confirmations dans ce cadre et les demandes risquent d'être plus importantes en 2020 avec des prospections sans doute plus serrées dans ces zones. Pour ce phytoplasme, le laboratoire a initié des travaux d'optimisation de la méthode officielle qui a maintenant 5 ans. Le LNR a également été sollicité par la DGAL pour évaluer une demande de dérogation à la méthode officielle.

Le projet Eupresco PhyFor a permis notamment de détecter des phytoplasmes dans les extraits ADN de frênes issus des campagnes de surveillance Chalara. Cette première approche ouvre des hypothèses quand a une implication ou non des phytoplasmes dans les symptômes observés sur frênes.

Le projet Eupresco DIPCAAP a permis l'évaluation de 6 méthodes de détection de '*Candidatus Phytoplasma phoenicium*', phytoplasme responsable du balai de sorcière de l'amandier, absent du territoire français mais signalé pour la première fois dans la région des Pouilles (Italie) en 2017.

En novembre 2019, la réglementation phytosanitaire européenne a évolué abrogeant la directive 2008/61 qui a été remplacée par le règlement d'exécution 2019/2072CE. Les pathogènes listés comme organismes de quarantaine ne sont plus les mêmes et l'unité a initié une réflexion sur l'impact sur le programme de travail. Ainsi, les phytoplasmes du groupe 16SrX (i.e. '*Candidatus Phytoplasma mali*', '*Ca. P. pyri*', '*Ca. P. prunorum*'), le phytoplasme responsable du stolbur de la pomme de terre ('*Ca. P. solani*'), '*Ca. P. ulmi*', '*Ca. P. pruni*') ne sont plus des organismes de quarantaine même si certains d'entre eux, comme les phytoplasmes du groupe 16SrX, restent réglementés. Par contre, de nouveaux phytoplasmes ont désormais un statut de quarantaine comme les phytoplasmes responsables du syndrome de dépérissement létal des palmiers. L'unité utilise depuis plusieurs années déjà une méthode de diagnostic générique en PCR en temps réel pour la détection des phytoplasmes qu'elle a évaluée et validée. De plus, en 2019, cette méthode a été améliorée avec l'inclusion d'un contrôle interne 'plantes' permettant d'assurer la qualité de l'analyse. Cette évolution réglementaire ne devrait donc pas être un problème, tout au moins en ce qui concerne les outils de détection au laboratoire. 2019 a également vu l'avènement d'un LRUE pour les virus, viroïdes et phytoplasmes (consortium Pays-Bas, Slovaquie et Italie) qui a dès cette année mis en place un essai interlaboratoire d'aptitude pour la détection du phytoplasme responsable de la FD.

## **Abréviations**

FD : Flavescence dorée

LNR : laboratoire national de référence

## **1. Méthodes développées ou révisées**

**Nombre de méthodes développées ou révisées proposées à l'autorité compétente**

0 méthode(s)

## **Informations complémentaires**

sans objet

## **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 (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)**

44 analyse(s)

#### **Détail par type d'analyse de première intention**

Le LNR a réalisé 44 analyses de 1ère intention en 2019 dont 26 analyses correspondent à des analyses en doublon avec les laboratoires agréés afin d'assurer le maintien de compétences du LNR en particulier pour l'extraction des acides nucléiques. Les autres demandes correspondent à des demandes de diagnostic ou des demandes de passeport phytosanitaire européen

### **3.2 Analyses officielles de confirmation**

**Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)**

552 analyse(s)

#### **Détail par type d'analyse de confirmation**

Le LNR a réalisé 552 analyses de confirmation en 2019 pour la détection des phytoplasmes de la vigne (Flavescence dorée -FD et Bois noir -BN) sur demande des SRAIs contre 128 en 2018.

### **3.3 Autres analyses**

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

400 analyse(s)

#### **Détail par type d'autres analyses**

Le LNR a réalisé environ 400 analyses autres pour la détection de phytoplasmes. Ces analyses correspondent notamment à l'organisation d'un essai interlaboratoire d'aptitude (EILA) pour la détection du phytoplasme responsable de la FD.. Elles correspondent également au suivi des laboratoires agréés au travers de leurs témoins en limite de répétabilité pour la détection des phytoplasmes de la vigne, à la participation à un EILV pour la détection de '*Candidatus Phytoplasma phoenicium*' et aux essais d'optimisation de la méthode d'analyse des phytoplasmes de la vigne.

### **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 : 1

Essai d'aptitude à la détection des phytoplasmes de la vigne, groupes 16SrV (Flavescence dorée) et 16SrXII (Bois noir), par PCR en temps réel sur vigne selon la méthode ANSES/LSV MOA 006 version 2a.

-UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE) : 1

Essai d'aptitude à la détection du phytoplasme responsable de la Flavescence dorée organisé par le LRUE

-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 n'est jamais très importante. Nous avons quelques rares demandes tous les ans. Cette année nous n'avons pas eu de demande.

**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, etc...) 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 laboratoire a été sollicité par la DGAL pour l'évaluation d'une demande de dérogation à la méthode officielle pour la détection des phytoplasmes de la vigne (1 jour) et pour la relecture et le commentaire de référentiels régionaux (OEPP).

Le laboratoire a participé au panel 'Diagnostic in virology and phytoplasmology' de l'OEPP accueilli cette année dans les locaux de l'Anses à Maisons-Alfort et a participé à la révision ou préparation de normes OEPP (12 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 ou de conseil aux autorités ou aux professionnels**

Aucune activité en 2019

## **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**

1 EILA

**Nom de l'EILA**

Essai d'aptitude à la détection des phytoplasmes de la vigne, groupes 16SrV (Flavescence dorée) et 16SrXII (Bois noir), par PCR en temps réel sur vigne selon la méthode ANSES/LSV MOA 006 version 2a.

**L'EILA est-il réalisé sous accréditation "17043"?**

Non

**Nombre de laboratoires participants**

6 laboratoire(s)

**Nombre de laboratoires agréés participants**

5 laboratoire(s) agréé(s)

**Le LNR a-t-il participé à l'EILA?**

Oui

**Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément**

0 laboratoire(s) en demande d'agrément

**Nombre d'autres laboratoires participants**

0 laboratoire(s)

**Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante\*\* par le LNR**

0 laboratoire(s)

**Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante\*\* par le LNR**

0 laboratoire(s) agréé(s)

**Evolution du réseau dans le temps**

réseau stable

**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**

sans objet

**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 Anses en santé des végétaux / laboratoires agréés (46 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

(\*\*) au sens de la norme 17043

**Autres formations dans le cadre des activités du LNR**  
sans objet

### **6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)**

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

**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 forestiers	en cours
EUPHRESCO DIPCAAP 2017-F-234	Set up of reliable detection protocols for the specific identification of ' <i>Candidatus Phytoplasma phoenicium</i> '	terminé

## **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**

Pests on plants - on Viruses, Viroids and Phytoplasmas

**Le LNR a participé au Workshop organisé par le LRUE**

Oui

**Le LNR a participé à une formation organisée par le LRUE**

Pas de formation proposée

**Relations avec le LRUE****Questions posées par le LNR**

Aucune question particulière n'a été posée au LRUE.

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

Le LRUE a organisé un EILA pour la détection du phytoplasme de la Flavescence dorée de la vigne auquel le LNR a participé.

**11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international****Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences**

Aucun



## Annexes

- Publications scientifiques nationales ou internationales (*Revue à comité de lecture*)

Loiseau, M., M. Massot, P. Cousseau-Suhard, X. Foissac, D. Piou, and C. Robin. 2019. "Are phytoplasmas associated with dieback symptoms of *Fraxinus* in France?" *Phytopathogenic Mollicutes* 9 (1):53-54. doi: <http://dx.doi.org/10.5958/2249-4677.2019.00027.6>.

- Communications internationales

Loiseau, M., M. Massot, P. Cousseau-Suhard, X. Foissac, D. Piou and C. Robin. 2019. Are phytoplasmas associated with dieback symptoms of *Fraxinus* in France?. *4th International Phytoplasmaologists Working Group*, 8-12/09/2019, Valencia (Spain).