

Rapport annuel d'activité, année 2019
Laboratoire National de Référence
Virus de la Sharka (PPV), virus de la pomme de terre et virus sur
agrumes

Nom du responsable du LNR

Jean-Emmanuel GERBAULT

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

Laboratoire de la santé des végétaux

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

LSV - unité de quarantaine – site de Clermont-Ferrand

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

Laboratoire de la santé des végétaux

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

LSV –RAPT

Dangers sanitaires de catégories 1 et 2 couverts par le mandat

Dangers sanitaires de catégorie 1 : Plum pox virus (virus de la sharka)

Dangers sanitaires de catégorie 2 : Andean potato latent virus (APLV), Andean potato mottle virus (APMoV), Arracacha virus B oca strain (AVB), Citrus mosaic virus (CMBV), Citrus tatter leaf virus (CTLV), Potato black ringspot virus (PBRV), Potato yellow dwarf virus (PYDV), Potato yellowing virus (PYV), Tomato chlorosis virus (ToCV), Tomato infectious chlorosis virus (TICV), Tomato spotted wilt virus (TSWV), Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV).

Les faits marquants de l'année

Dans le cadre du mandat " Plum pox virus ", l'unité a organisé un Essai Inter Laboratoire de Transfert suite à la parution de la méthode ANSES/LSV/ MA 021 v3. L'objectif était de vérifier la maîtrise d'acquisition de la méthode par les laboratoires agréés, plus particulièrement concernant la détection du Plum pox virus dans les matrices bourgeons de *Prunus* spp. et fleurs de pêcher.

Dans le cadre du mandat " Virus de la pomme de terre", l'unité a évalué à titre exploratoire les performances comparées d'une méthode HTS (High-Throughput Sequencing - approche siRNA) avec les méthodes ELISA et PCR utilisées en routine pour la détection de 20 virus dans le cadre du projet Euphresco "NGS Best practices ".

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

1 méthode(s)

Intitulé de chacune des méthodes transférées

ANSES/LSV/MA 021 version 3 : Détection du Plum pox virus (PPV), virus de la Sharka, par la technique ELISA sur feuilles et bourgeons de *Prunus* spp. et sur fleurs de pêcher.

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...)

1102 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

1102 analyses réalisées dans le cadre des analyses libératoire de la quarantaine végétale post-entrée et du plan de surveillance des géniteurs de pomme de terre selon la note de service DGAL/SDQPV/N2009-8051 du 04 février 2009 :

Le nombre d'analyses de première intention en augmentation légère depuis 4 ans, est en baisse depuis 2018. Les fluctuations sont principalement dépendantes des variations du nombre d'introductions de pomme de terre et d'arbres fruitiers en quarantaine végétale post-entrée.

Détail :

PPV

RT-PCR : 131 analyses

Indexage biologique : 89 analyses

Virus de la Pomme de Terre

ELISA : 502 analyses

PCR et RT-PCR : 174 analyses

Indexage biologique : 10 analyses

Virus des agrumes

ELISA : 15 analyses

PCR et RT-PCR : 105 analyses

Indexage biologique : 76 analyses

A titre d'information : Analyses officielles hors mandat LNR : 7755

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

1 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Le nombre de confirmations réalisées (uniquement PPV) est en baisse depuis les 5 dernières années.

3.3 Autres analyses

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

2400 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Analyses non officielles dans le mandat LNR : 2400

Le nombre total est en augmentation par rapport à 2018 et à peu près égal à la moyenne des 5 dernières années. L'unité a exclusivement mené des travaux dans le cadre des mandats LNR en 2019.

254 : Analyses pour travaux méthodologiques concernant la détection du Citrus leprosis virus – type " nucléaire " (CiLV-N) et des souches sur agrumes de l'Orchid fleck virus (OFV-citrus) sur écorces d'agrumes par RT-PCR en point final.

450 : Analyses pour travaux méthodologiques concernant la détection du Potato virus Y

(PVY) sur vitroplants et folioles de pomme de terre par RT-PCR en temps réel.

118 : Analyses pour travaux méthodologiques concernant l'identification des souches du Potato virus Y (PVY) par RT-PCR en point final.

954 : Analyses (20 virus de la pomme de terre) réalisées dans le cadre du projet "NGS Best practices "

100 : Analyses dans le cadre du projet H2020 VALITEST PPV1 : Essai Inter-Laboratoire de Validation concernant la détection du Plum pox virus (PPV) par techniques de laboratoire

104 : Analyses dans le cadre du projet H2020 VALITEST participation à l'EILV concernant la détection du Citrus tristeza virus (CTV)

420 : Analyses pour travaux méthodologiques concernant l'organisation d'un EILV visant la détection "terrain " du Plum pox virus (PPV) dans le cadre du projet H2020 VALITEST.

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 : 3

-19FD - 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 MOA006 version 2a – Organisateur LSV OCIL

-19CTV - Détection du Citrus Tristeza Virus (CTV) sur plantes hôtes de la famille des Rutacées par ELISA selon la méthode ANSES/LSV MA 029 version 1– Organisateur LSV OCIL

-VIRUS PDT 2019-2020 Essai d'aptitude " Détection de virus de la pomme de terre par ELISA"- Organisateur FN3PT

UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE) : 0

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

Oui

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

MRI, Contrôles positifs et contrôles négatifs

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

Vitroplants de *Solanum* spp., feuilles fraîches et lyophilisées de *Prunus* spp. et d'agrumes, extraits d'acides nucléiques

Nombre de lots produits dans l'année

Contrôles et MRI positifs:

PPV : 9

Virus de la pomme de terre : 20

Virus des agrumes : 5

Contrôles et MRI négatifs:

Prunus spp. : 25

Solanum tuberosum et autres *Solanum* spp. : 22

Agrumes : 10

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

La production est en augmentation depuis 5 ans en raison des travaux méthodologiques ayant nécessité de nombreux MRI.

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

Non

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...).

Evolution réglementation européenne : 5 j

Documents OEPP (dont documents pour le Panel pour les Mesures Phytosanitaires et le Groupe de travail sur la réglementation phytosanitaire)13 j

Audits 2008/61/CE21 j

Instances (CROPSAV, CSRPN)10 j

Autres (DGAL, SRAL, SALIM)3 j

Groupe de travail Anses (*Xylella fastidiosa*, LOA, Voisinage confinement...)12j

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

L'Unité de quarantaine est en contact permanent avec les introducteurs de nouvelles variétés (chercheurs et créateurs de nouvelles variétés) afin de répondre à leur demande de conseils ou avis techniques (ex en 2019 : éléments pour l'import et la quarantaine éventuelle de myrtiliers, réflexions sur l'assainissement des agrumes...).

Chaque année, l'unité organise 1 réunion bilan plénière avec les introducteurs. Celle-ci permet de faire le point sur les difficultés rencontrées dans l'année, de programmer la nouvelle campagne et de répondre à toutes les questions techniques qu'ils se posent. Participation à une réunion d'échanges avec le Ctifl (en particulier sur les collaborations possibles entre quarantaine végétale post-entrée et certification et sur l'élevage des plants).

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

6 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 du PPV (Plum pox virus) sur broyat lyophilisé de feuilles de *Prunus* spp. par ELISA selon les méthodes ANSES/LSV MA 021 version 2 ou version 3

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

Oui

Nombre de laboratoires participants

10 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

5 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Non

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

0 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

5 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants: français/étrangers

1 Français, 4 étrangers

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

4 laboratoire(s)

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

1 laboratoire(s) agréé(s)

Nature des écarts (limiter aux laboratoires agréés)

défaut de sensibilité et d'exactitude

Gestion des écarts (limiter aux laboratoires agréés) : actions mises en œuvre pour l'identification des causes et définition des mesures correctives

Identification des causes par le laboratoire agréé :

- Un lot de réactif incriminé

Actions mises en œuvre :

- Réalisation de tests comparatifs par le laboratoire agréé
- Traitement des résultats par le LNR aboutissant à la non mise en cause du lot.
- Poursuite de l'analyse des causes par le laboratoire agréé proposant une validation globale de l'ensemble des réactifs en début de saison de végétation.

Suivi de décisions sur l'agrément

Pas de proposition de décision de la part du LNR en attente des résultats

Evolution du réseau dans le temps

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)

(**) au sens de la norme 17043

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

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

1 EILT

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

Essai de transfert de méthode pour la détection du PPV (Plum pox virus) sur lyophilisats de bourgeons de *Prunus* spp. et fleurs de pêcher par ELISA selon la méthode ANSES/LSV/MA 021 version 3 – 5 laboratoires participants

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 (Plan de surveillance des géniteurs de pomme de terre selon la note de service DGAL/SDQPV/N2009-8051 du 04 février 2009.)

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)

Oui

Nombre de fiches émises dans Salsa dans l'année:

1 fiche(s)

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

Acronyme	Titre	Statut
CiLV-N et OFV citrus (projet interne unité)	Développement de méthode de détection du Citrus leprosis virus – type " nucléaire " (CiLV-N) et des souches sur agrumes de l'Orchid fleck virus (OFV-citrus)	terminé
PVY (projet interne unité)	Développement d'une méthode de détection du Potato virus Y (PVY) et d'une méthode d'identification de ses souches.	terminé
POVIRDET (Eupresco 2016-A-207)	Development of detection methods for viruses on potato (Potato virus T (PVT, Andean potato mottle virus (APMoV), Andean potato latent virus (APLV) and Andean potato mild mosaic virus (APMMV)) test performance study	en cours
NGS Best Practices (Eupresco 2018-E-294)	Next Generation Sequencing (NGS) standards and best practices for regulatory applications.	en cours
SharkSecure	Sécurisation de la production de mirabelles et de quetsches vis-à-vis de la sharka	en cours
H2020 VALITEST	Validation of diagnostic test to support plant health	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

Pests on plants - on Viruses, Viroids and Phytoplasmas

Le LNR a participé au Workshop organisé par le LRUE

Non : le LSV a été représenté par l'unité Bactériologie-Virologie-OGM (BVO).

Le LNR a participé à une formation organisée par le LRUE

Pas de formation proposée

Relations avec le LRUE

Questions posées par le LNR

sans objet

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

sans objet

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)

Legrand, P. 2019. "Phytosanitary management of Citrus germplasm in France." *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 49* (1):83-86. doi: 10.1111/epp.12538.

Renvoisé, J. P., F. Chambon, M. Gleize, N. Pradeilles, S. Garnier, and M. Rolland. 2019. "Selection, optimization and characterization of molecular tests for the detection of Tobacco ringspot virus (TRSV)." *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 49* (1):111-121. doi: 10.1111/epp.12554.

- Communications nationales

Renvoisé, Jean-Philippe, and Nourelhouda Chehdi. 2019. "Comparison between limits of detection for routine ELISA and RT-PCR methods and high-throughput sequencing performance." Poster *17èmes Rencontres de Virologie Végétale, Aussois, France, 28-31 janvier 2019.*

Gentit, P., A. Marais, Y. Brans, J. P. Renvoisé, B. Remenant, A. Saison, C. Faure, M. Lefebvre, J. Castaing, F. Chambon, C. Calado, V. Theailler, F. Latour, N. Grasseau, and T. Candresse. 2019. "Comparaison directe de la performance des techniques classiques avec Séquençage à haut débit (HTS) pour la détection des virus des arbres fruitiers." Poster *17èmes Rencontres de Virologie Végétale, Aussois (FR), 28-31 janvier 2019.*

- Communications internationales

Calado, G., P. Legrand, J. P. Renvoisé, and J. E. Gerbault. 2019. "Import of Citrus into the European Union: a French quarantine to control the health risks." Poster *21st International Organization of Citrus Virologists Conference, Riverside – CA – USA, March 10-12, 2019.*

Renvoisé, Jean-Philippe, Nourelhouda Chehdi, Philippe Legrand, and Jean-Emmanuel Gerbault. 2019. "High-throughput sequencing vs. routine ELISA and RT-PCR tests: a comparison of the limits of detection of potato viruses in post-entry quarantine." Poster - *17th triennial meeting of the Virology Section of the European Association of Potato Research (EAPR) combined with the 10th annual meeting of PVYwide organization, Laulasmaa, Estonia, 2019, June 18-21.*