

Rapport annuel d'activité, année 2019
Laboratoire National de Référence
Bactéries sur bananier, agrumes et plantes tropicales

Nom du responsable du LNR

Bruno HOSTACHY

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 Ravageurs et Agents Pathogènes Tropicaux (LSV RAPT) – la Réunion

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

Candidatus Liberibacter asiaticus,

Candidatus Liberibacter africanus,

Candidatus Liberibacter americanus

Ralstonia solanacearum, complexe d'espèces (ceRs), en particulier responsable de la maladie de moko sur bananier

Xanthomonas citri pv *citri*

Xanthomonas citri pv. *aurantifolii*

Xanthomonas axonopodis pv *dieffenbachiae*, dont le nom a changé en *Xanthomonas phaseoli* pv *dieffenbachiae*

Xanthomonas oryzae

Xanthomonas vasicola pv *musacearum*

Les faits marquants de l'année

Le contexte réglementaire est marqué par des évolutions importantes, d'abord au niveau de l'UE avec la mise en place du règlement 2016/2031 qui considère les DROM comme des pays tiers, puis dans chacun des DROM avec la finalisation de la réglementation s'appliquant aux importations dans les DROM dont l'application est prévue le 14 avril 2020. Tant que cette réglementation DROM n'est pas arrêtée, il est difficile de projeter complètement les activités du LNR en particulier en méthodologie, dans le domaine analytique lié aux plans de surveillance ou aux dispositifs contrôle du matériel végétal destiné à la multiplication.

La maladie du Huanglongbing (HLB) des agrumes, causée par la bactérie *Candidatus Liberibacter asiaticus*, demeure une contrainte majeure pour l'agrumiculture des Antilles et de la Réunion, avec de fortes répercussions sur la production et des conséquences sur les projets de replantation. A la Réunion, le plan de prospection coordonné par la DAAF s'est poursuivi avec pour objectif de définir des zones indemnes destinées aux nouvelles plantations ; ce plan s'appuie sur un panel de parcelles dites à forte connectivité dans la propagation de l'épidémie. Parmi les espèces de psylles présentes à la Réunion, c'est *Diaphorina citri* qui a la plus forte prévalence mais une espèce appartenant au genre *Trioza* assez proche de *T. erytrae* a été trouvée dans les vergers situés à des altitudes supérieures à 600m, pourrait expliquer la résurgence de la maladie dans certaines zones à partir d'arbres âgés et infectés.

Aux Antilles, les situations observées se maintiennent avec (i) en Guadeloupe un verger fortement infecté et des replantations s'appuyant sur des variétés et porte greffes tolérants et (ii) à la Martinique des vergers moins impactés avec une prévalence des vecteurs plus réduite.

Le projet Euphresco 2016-A-232, coordonné par l'unité RAPT et portant sur la comparaison de méthodes de détection du HLB par PCR en temps réel, est arrivé à terme. Les résultats de l'essai interlaboratoire de validation (EILV) ont fait l'objet d'une communication présentée dans un séminaire international sur le HLB (Research Conference on Huanglongbing VI, mars 2019, Riverside, USA).

La maladie du Chancre asiatique des agrumes (*Xanthomonas citri* pv. *citri* = Xcc) : les foyers de Martinique sont maîtrisés sans toutefois être éradiqués, Xcc étant toujours absent de la Guadeloupe. L'unité est fortement impliquée sur cette thématique dans le domaine de la référence avec la poursuite des travaux de développement de méthodes de détection de Xcc par PCR (7 protocoles), par PCR en temps réel (4 protocoles) et par LAMP PCR.

En ce qui concerne le complexe d'espèces de *Ralstonia solanacearum* (ceRs), cette thématique a été marquée par la poursuite des collaborations engagées avec le CIRAD (Réunion et la délégation présente au Kenya) avec plusieurs séries d'échantillons collectés en Afrique de l'est donnant lieu à des analyses apportant des compléments à la construction d'un schéma d'épidémiologie moléculaire à l'échelle des pays du Sud-Ouest de l'Océan Indien et de l'Afrique de l'est. Ces travaux contribuent à définir les routes d'invasion, à prévoir les risques d'émergence de souches plus agressives et enfin à préconiser des variétés adaptées aux contextes locaux. La prévalence de certaines souches a conduit à émettre des hypothèses sur la possibilité de transmission de *R. solanacearum* par semences vraies de

solanées sans investigation plus poussée.

Abréviations

- ceRs : complexe d'espèces de *Ralstonia solanacearum*
- CRES : Comité Régional d'Epidémiologie et de Surveillance
- CROPSAV : Conseil Régional d'Orientation de la Politique Sanitaire Animale et Végétale
- Xcc : *Xanthomonas citri* pv. *citri*

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...)

511 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Au total 511 analyses ont été réalisées en bactériologie végétale.

- Détection de *Candidatus Liberibacter* spp sur Agrumes : 151 analyses, nombre supérieur à celui de l'objectif prévisionnel (100) pour répondre à des demandes d'appui au plan de surveillance, en particulier en pépinière à la demande du SALIM de la DAAF Guadeloupe
- Détection de *Xanthomonas phaseoli* pv *dieffenbachiae* sur *Anthurium* spp. : 20 analyses, nombre inférieur à l'objectif prévisionnel (50) du fait du peu de levées de quarantaine
- Détection de *Xanthomonas citri* pv *citri* sur agrumes : 20 analyses, nombre inférieur à l'objectif prévisionnel (50) du fait d'un nombre limité de demandes d'analyses provenant des Antilles pour la surveillance de foyers en Martinique et la suspicion de cas en Guadeloupe.
- Détection du complexe d'espèces appartenant au complexe d'espèces de *Ralstonia solanacearum* (CeRs) sur plantes hôtes : 1400 analyses (principalement sur solanées maraichères, nombre bien supérieur à l'objectif prévisionnel (30) du fait de la poursuite de prospections réalisées en Afrique de l'est (Kenya, Ouganda, Tanzanie, Zanzibar).
- Détection de *Xanthomonas vasicola* pv *musacearum* sur Bananier : aucune analyses, nombre conforme à l'objectif prévisionnel (2); absence de demande d'analyses portant sur les plantes mères de bananiers des établissements agréés pour l'export de VP vers les DROM du fait du non renouvellement du parc de plantes mères en 2019.

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

8 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Analyses portant sur la détection du HLB : 8/8

3.3 Autres analyses

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

1940 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

* Détection de *Candidatus Liberibacter* spp sur Agrumes : 100 analyses, principalement pour des analyses en appui à un laboratoire agréé ayant rencontré des problèmes dans le déroulement de ses analyses et de leur interprétation.

* Détection de *Xanthomonas phaseoli* pv *dieffenbachiae* sur *Anthurium* spp. : 340 analyses liées à l'organisation d'un EILA et au dispositif qualité.

* Détection de *Xanthomonas citri* pv *citri* sur Agrumes : 1500 analyses du fait de la poursuite des travaux méthodologiques ayant nécessité d'évaluer des protocoles non prévus initialement.

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

Détection de *Xanthomonas phaseoli* pv. *dieffenbachiae* sur *Anthurium* spp. par PCR et isolement selon la méthode ANSES/LSV MA 028 version 3 ou toute autre méthode équivalente

-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)

Production de MRI pour les analyses (contrôles positifs et contrôles négatifs) et les essais interlaboratoires

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

Les formats sont principalement, pour les MRI négatifs, des fragments végétaux en sachet de broyage conservés congelés et, pour les MRI positifs, des souches bactériennes conservées congelées en suspension ou sous forme de bille ou des extraits d'acides nucléiques conservés congelés.

Nombre de lots produits dans l'année

20 lots produits par an environ

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

stable

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...).

Le laboratoire a participé à diverses activités liées à l'expertise:

- GT Anses "Analyse de risque HLB pour les pays de l'UE " : Sous la coordination de l'unité ERB, un agent de l'unité a participé aux travaux de ce GT qui a débuté en 2017, rapport d'expertise rendu en février 2019 (temps consacré en 2019: 16h)
- Participation au Comité régional d'épidémiosurveillance (CRES) : l'unité est sollicitée pour apporter des données sur les organismes nuisibles considérés comme émergents (temps consacré : environ 10h)
- Participation de l'unité au CROPSAV Réunion, section végétale et section plénière : 1 réunion en 2019 (temps consacré : environ 6h)
- Participation d'un agent de l'unité aux programmes de recherche coordonnés par le CIRAD et portant sur l'épidémiologie moléculaire du complexe d'espèces de *Ralstonia solanacearum* (ceRs) dans les pays du Sud-ouest de l'Océan indien et d'Afrique de l'est : ces travaux ont permis de collecter 1400 échantillons de végétaux (principalement des solanées maraîchères), de collectionner 369 souches appartenant à ceRs, pour environ 10 jours de travail consacré à cette action. Une publication et une participation à un congrès international sont envisagées pour 2020.

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

En 2019, l'unité a continué d'apporter un soutien et des conseils pour la publication de l'édition Réunion du Bulletin de santé végétale (BSV), plus particulièrement les fiches phytosanitaires, et pour apporter des réponses et avis sur des questions remontées par les techniciens de filière. Cette activité est estimée à 1 jour par mois.

En 2019, l'unité a apporté un soutien scientifique et technique dans le domaine analytique sur la thématique suivante :

HLB : en réalisant des analyses pour apporter une expertise à la compréhension des problèmes rencontrés par un laboratoire agréé : nombre d'analyses estimé à une centaine, nombre de jours technicien estimé à 4

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

2 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 " Détection de *Xanthomonas phaseoli* pv. *dieffenbachiae* (anc. *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*) sur *Anthurium* spp. par PCR et isolement selon la méthode ANSES/LSV MA 028 version 3 ou toute autre méthode équivalente ".

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

Oui

Nombre de laboratoires participants

3 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

1 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

1 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants: français/étrangers

étranger

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

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

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

(**) au sens de la norme 17043

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

Oui

Cadre de ces activités

Surveillance biologique du territoire (SBT)

Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans ce cadre

Animation/coordination ; Réalisation d'analyses de première intention ; Réalisation d'analyses de confirmation ; Appui scientifique et technique (analyses de données, etc...)

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 2016-A-232	Comparaison de méthodes de PCR en temps réel pour la détection de ' <i>Candidatus Liberibacter</i> spp.' responsable de la maladie du <i>Huanglongbing</i> sur <i>Citrus</i> spp.	terminé
VALITEST	Validation of diagnostic tests to support plant health	en cours
Euphresco 2018-A-289	Bioinformatics network	en cours
RCX	Thèse Anses-CIRAD : Analyse génomique, écologique et épidémiologique de la résistance au cuivre chez <i>Xanthomonas citri</i> pv <i>citri</i> , bactérie responsable du chancre asiatique des agrumes, dans les régions ultramarines françaises	terminé
AGRUMIILE	Thèse Anses-CIRAD : Modélisation du paysage agricole et de la dynamique des bioagresseurs de cultures pour l'accompagnement des réseaux d'épidémiosurveillance : application au paysage agrumicole réunionnais	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 - Bacteria

Le LNR a participé au Workshop organisé par le LRUE

Non : en concertation avec la direction du LSV, l'unité RAPT a choisi d'être représentée par l'unité BVO du LSV.

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 (*Revues à comité de lecture*)

Giovani, B., G. Cellier, M. Mc Mullen, M. Saponari, E. Stefani, and F. Petter. 2019. "From transnational research collaboration to regional standards." *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 23 (1). doi: 10.25518/1780-4507.17642.

- Communications internationales

Cellier, G., A. Chabirand, B. Hostachy, G. Anthoine, J. Cubero, C. Redondo, P. Sabuquillo, M. Roselló, E. de Andrade, L. Cruz, P. Sá Pereira, E. Ince, H. N. Yildiz, P. Gök Güler, A. M. D'Onghia, T. Yaseen, C. Devorshak, and B. Giovani. 2019. "Performance comparison of main real-time PCR detection methods for detection of the plant pathogen 'Candidatus Liberibacter' spp. causing the Huanglongbing disease on Citrus spp." Oral IRCHLB VI, Riverside, California, USA, March 10-15.

- Conférences sur invitation

Cellier, G. 2019. "Practical use of metagenomics: the case study of the *Ralstonia solanacearum* species complex." Oral Plant Health at the Age of Metagenomics, EPPO-Euphresco Scientific Colloquium, Paris, France, 26 September.