

**Rapport annuel d'activité, année 2019
Laboratoire National de Référence
Virus sur bananier 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

Banana bunchy top virus (BBTV)
Banana bract mosaic virus (BBrMV)
Banana streak mosaic virus (BSV)
Banana mild mosaic virus (BanMMV)
Cassava brown streak virus (CBSV)
Yam mosaic virus (YMV)
Citrus tristeza virus (CTV)
Cucumber mosaic virus (CMV)
Pineapple mealybug wilt associated virus (PMWaV)

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.

Sur la filière banane, aucun fait majeur n'est à noter sur la situation des virus présents dans les DROM. A noter l'extension en Afrique de l'Est (Mozambique) de la maladie du sommet buissonnant du bananier, causée par le Banana bunchy top virus (BBTV), et qui est l'une des maladies les plus graves du bananier. Cette situation doit conduire à accroître la vigilance sur les cultures de bananiers à Mayotte et à la Réunion. Les travaux de la thèse Anses-Cirad portant sur la caractérisation des mécanismes de défense contre les intégrations virales du *Banana streak virus* (thèse soutenue le 16/12/2019) ont permis de signaler pour la première fois *Dysmicoccus neobrevipes* comme espèce vectrice du BSV.

La méthode de détection de la maladie du wilt de l'ananas causée par un complexe viral composé de plusieurs clostérovirus (Pineapple mealybug wilt associated virus, PMWaV 1, 2 et 3) a donné lieu, à la Réunion, au suivi de parcelles plantées avec du matériel végétal issu de vitroplants en montrant l'absence de recontamination après plusieurs cycles. Ce résultat renforce les arguments proposant la mise en place d'un système de pépinière destinées à assainir le matériel végétal destiné à la plantation

Abréviations

- CRES : Comité Régional d'Epidémiologie et de Surveillance
- CROPSAV : Conseil Régional d'Orientation de la Politique Sanitaire Animale et Végétale
- RITA : Réseau d'innovation et de transfert agricole

1. Méthodes développées ou révisées

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

1 méthode(s)

Intitulé et brève description de chacune de ces méthodes

Détection du Banana bunchy top virus (BBTV) sur bananier par PCR.

Il s'agit d'une méthode basée sur de la PCR conventionnelle qui a été développée en 2011 en interne par l'unité RAPT comme méthode de confirmation.

Informations complémentaires

En 2019, cette méthode a été proposée comme méthode officielle pour les analyses de première intention du fait d'une performance évaluée comme insuffisante (bruit de fond élevé) des nouveaux lots de réactifs sérologiques du seul fournisseur pour la méthode sérologique officielle alors en vigueur.

Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année
1 méthode(s)

Intitulé de chacune des méthodes transférées
Détection du Banana bunchy top virus (BBTV) sur bananier par PCR conventionnelle

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...)

648 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Au total analyses 648 ont été réalisées en virologie végétale.

- Détection du Cucumber mosaic virus (CMV) sur bananier : 89 analyses, nombre supérieur à la prévision (50).
- Détection du Banana bunchy top virus (BBTV) sur bananier : 10 analyses, nombre inférieur à la prévision (50), du fait de l'abandon de la méthode ELISA
- Détection du Banana bract mosaic virus (BBrMV) sur bananier : 63 analyses, nombre proche de la prévision (50).
- Détection du Banana streak virus (BSV= complexe de 4 espèces) sur bananier : 26 analyses ; nombre inférieur à la prévision (100) du fait du transfert de cette méthode aux laboratoires agréés
- Détection du Banana mild mosaic virus (BanMMV) sur bananier : 81 analyses, nombre conforme à la prévision (100)
- Détection du Pineapple mealybug wilt associated virus (PMWaV) sur ananas: 139 analyses, nombre inférieur à la prévision d'analyses (200) du fait de la fin de projets d'expérimentation (CASDAR ANANABIO°).
- Détection du Pineapple bacilliform virus souche PBCoV (Comosus) : 139 analyses, nombre inférieur à la prévision d'analyses (200)
- Détection du virus de la tristeza sur agrumes (CTV) par méthodes sérologiques : 101 analyses, nombre supérieur à la prévision d'analyses (20) du fait de la recherche de matériel infecté naturellement et destiné à la construction de l'EILV CTV conçu dans le cadre du projet H2020 VALITEST.

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Aucune demande pour des analyses de confirmation.

3.3 Autres analyses

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

3000 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Un total de 3000 analyse réparties sur bananier, ananas et agrumes :

-Détection des virus de l'ananas : 1500 analyses (principalement liées aux travaux méthodologiques). Augmentation importante liée à l'activité méthodologique et à la nécessité d'introduire une troisième espèce virale (PMWaV3) dans la PCR multiplexe de détection du Pineapple mealybug wilt associated virus.

-Détection du CTV sur agrumes selon différentes méthodes (ELISA, IE, PCR, qPCR, LAMP) dans le cadre de l'EILV du projet VALITEST : 1500 analyses réalisées principalement dans le cadre de l'évaluation préalable de méthodes retenues pour l'EILV, de la validation du statut des échantillons,

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

CTV - 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

-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 des fragments végétaux en sachet de broyage conservés congelés ou lyophilisés et des extraits d'acides nucléiques conservés congelés.

Nombre de lots produits dans l'année

30 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

Oui

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

BBTV en contrôle positif

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

Les formats sont principalement des fragments végétaux en sachet de broyage conservés congelés ou lyophilisés et des extraits d'acides nucléiques conservés congelés.

Nombre de lots produits dans l'année

1 lot

Nombre d'unités distribuées au plan national

5

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

stable

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...).

Les agents de l'unité RAPT participent à diverses instances régionales au niveau de La Réunion pour apporter leur expertise, et en particulier :

- au Comité régional d'épidémiologie (CRES) : l'unité est sollicitée pour apporter des données sur les organismes nuisibles considérés comme émergents (temps consacré : environ 10h)
- au CROPSAV Réunion section végétale et section plénière : 1 réunion en 2019 (temps consacré : environ 5h)

•au comité de pilotage du Réseau d'Innovation et transfert agricole (RITA) pour la Réunion (temps consacré : 5h)

En 2019, l'unité a réalisé 2 audits confinement 2008/61 CE, soit 5 jours pour 1 agent.

Au niveau national l'unité a participé à deux GT coordonnés par la plateforme d'épidémiologie en santé végétale (ESV) :

•GT Structuration des plans de surveillance officielle : 3 jours pour 1 agent

•GT Rédaction des bilans sanitaires : 3 jours pour 1 agent

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

Sans objet

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

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

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

Non

Nombre de laboratoires participants

4 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

3 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

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/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 :

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
EUPHRESKO 2017-A-243 - VIRFAST	Faster, cheaper identification of emerging virus problems	en cours
EUPHRESKO 2018-E-294. BEST PRACTICE	High Throughput Sequencing (HTS) also called Next Generation Sequencing (NGS) standards and best practices for regulatory applications	en cours
VALITEST	Validation of diagnostic tests to support plant health	terminé
AMI Victoria	Etude des méthodes de séquençage haut débit pour la détection du complexe d'espèces virales de l'ananas avec application aux situations d'épidémiosurveillance et de sélection de matériel végétal sain.	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 : 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

- Communications internationales

Wong, M., V. Dubousquet, M. Vairaa, B. Lhie, D. Massé, N. Cassam, B. Hostachy, K. Crew, and J. Thomas. 2019. "Field Infection of *Alpinia purpurata* with Banana Bunchy Top Virus in French Polynesia." Poster - 9th International Geminivirus Symposium and 7th ssDNA Comparative Virology Workshop, University of California, Davis, November 9-13, 2019.