



Rapport annuel d'activité, année 2021

Laboratoire National de Référence

Autres virus

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 bactériologie, virologie, OGM (BVO)

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

N° 2019/2072EC Annexe II partie A : organismes de quarantaine non présents sur le territoire Européen Type

1. Beet curly top virus [BCTV00] Virus
2. Black raspberry latent virus [TSVBL0] Virus
4. Chrysanthemum stem necrosis virus [CSNV00] Virus
5. Potato viruses, viroids and phytoplasmas, such as:
 - (a) Andean potato latent virus [APLV00];
 - (b) Andean potato mottle virus [APMOV0];
 - (c) Arracacha virus B, oca strain [AVBO00] ;
 - (d) Potato black ringspot virus [PBRSV0];
 - (e) Potato virus T [PVT000];Non-European isolates of potato viruses A, M, S, V, X and Y (including Yo, Yn and Yc) and Potato leafroll virus [PVA000, PVM000, PVS000, PVV000, PVX000, PVY000 (including Yo, PVYN00, PVYC00)] and [PLRV00]. Virus
6. (a) Satsuma dwarf virus [SDV000] Virus
7. Tobacco ringspot virus [TRSV00] Virus
8. Tomato ringspot virus [TORSV0] Virus
9. Viruses of *Cydonia* Mill., *Fragaria* L., *Malus* Mill., *Prunus* L., *Pyrus* L., *Ribes* L., *Rubus* L. and *Vitis* L., such as:
 - (a) Blueberry leaf mottle virus [BLMOV0];
 - (b) Cherry rasp leaf virus [CRLV00];
 - (c) Peach mosaic virus [PCMV00];
 - (d) Peach rosette mosaic virus [PRMV00];
 - (e) American plum line pattern virus [APLPV0];
 - (f) Raspberry leaf curl virus [RLCV00];
 - (g) Strawberry witches' broom phytoplasma [SYWB00];Non-European viruses of *Cydonia* Mill., *Fragaria* L., *Malus* Mill., *Prunus* L., *Pyrus* L., *Ribes* L., *Rubus* L. and *Vitis* L. Virus
10. Tous les Begomovirus exceptés:
 - (h) Abutilon mosaic virus [ABMV00], Sweet potato leaf curl virus [SPLCV0], Tomato leaf curl New Delhi Virus [TOLCND], Tomato yellow leaf curl virus [TYLCV0], Tomato yellow leaf curl Sardinia virus [TYLCSV], Tomato yellow leaf curl Malaga virus [TYLCMA], Tomato yellow leaf curl Axarquia virus [TYLCAX] Virus
11. Cowpea mild mottle virus [CPMMV0] Virus
12. Lettuce infectious yellows virus [LIYV00] Virus
13. Melon yellowing-associated virus [MYAV00] Virus
14. Squash vein yellowing virus [SQVYVX] Virus
15. Sweet potato chlorotic stunt virus [SPCSV0] Virus
16. Sweet potato mild mottle virus [SPMMV0] Virus
17. Tomato chocolate virus [TOCHV0] Virus
18. Tomato marchitez virus [TOANV0] Virus
19. Tomato mild mottle virus [TOMMOV] Virus

N° 2019/2072EC Annexe II partie B : organismes de quarantaine présents sur le territoire Européen Type

1. Tomato leaf curl New Delhi virus [TOLCND] virus

N° 2019/2072EC Annexe III : organismes de quarantaine de zone protégée Type

1. Beet necrotic yellow vein virus [BNYVV0] (zone Bretagne) Virus

Les faits marquants de l'année

Au cours de l'année 2021, l'activité du laboratoire est restée perturbée par la Covid19. De ce fait, certaines activités méthodologiques ont pris du retard. L'année a été principalement marquée par le transfert des méthodes BNYVV MA062 et ToBRFV MA066 aux réseaux de laboratoires agréés.

- Suite au premier foyer de Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) détecté en février 2020 en région Bretagne, le LNR a validé une méthode de première intention ainsi qu'une méthode de confirmation. La méthode de première intention a été publiée en décembre 2020 sous la référence MA066. En 2021, le LNR a appuyé le ministère dans le cadre de la désignation de laboratoires agréés pour la réalisation de cette analyse. Une formation a été assurée pour les laboratoires candidats, la méthode a été transférée et la bonne mise en œuvre de la méthode a été contrôlée via l'organisation d'un essai interlaboratoire de transfert.

- Concernant le Tomato leaf curl New Delhi virus (ToLCNDV), également émergent en 2020. Une nouvelle méthode a été sélectionnée par le LNR pour la surveillance officielle du territoire et des foyers.

- Le Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) est un virus réglementé dont la détection par ELISA était au centre de notre attention depuis plusieurs années suite à des problèmes récurrents sur la qualité des réactifs disponibles. Pour remédier à ce problème, une nouvelle méthode d'analyse avait été validée et publiée en décembre 2020 (MA062). Tout comme pour le ToBRFV, le LNR a apporté son appui au ministère dans le cadre de la désignation de laboratoires agréés pour la réalisation de cette analyse. Le LNR a assuré une formation ainsi qu'un transfert avec organisation d'un essai interlaboratoires auprès des laboratoires candidats à ce nouveau réseau.

- Au niveau recherche, les travaux ont continué dans le cadre des projets nationaux et internationaux précédemment initiés.

1. Méthodes développées ou révisées

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

3 méthode(s)

Intitulé de chacune des méthodes transférées

- ANSES/LSV/MA061 - Détection du virus de la rhizomanie Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) de la Betterave - Test biologique

La MA061 correspond à une mise à jour de la MOA 011 partie A et n'a pas fait l'objet d'un EIL de transfert

-ANSES/LSV/MA062 - Détection du virus de la rhizomanie Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) de la Betterave - RT-PCR en temps réel sur plantes hôtes

-ANSES/LSV/MA066 - Détection du tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) par RT-PCR en temps réel sur plantes hôtes

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...)

1186 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Nombre d'analyses de première intention : 1186

Les principales analyses de première intention concernent :

- la détection du ToBRFV par RT PCR (méthode interne) avec 891
- La détection du ToLCNDV par RT PCR (méthode interne) avec 269 analyses.

Pour les virus détectés au laboratoire, on observe pour 2021 une baisse d'environ 25% du nombre d'analyses de 1ère intention suite à l'agrément d'un réseau de laboratoires pour les analyses de détection du ToBRFV (le LNR a conservé les analyses sur la matrice Aubergine qui donnaient lieu à beaucoup de reprises).

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

69 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Le nombre d'analyses de confirmation a été en forte baisse avec un total de 69. Ceci est principalement lié à la publication et au transfert de la MA062 permettant la détection du BNYVV par une méthode de biologie moléculaire. Les années passées, la qualité des réactifs disponibles en ELISA était source d'une grande fluctuation du nombre de confirmation sur cette ligne d'analyse (57 en 2015, 88 en 2016, 181 en 2017, 524 en 2018, 136 en 2019, 262 en 2020, 53 en 2021).

Suite à la prise en charge des analyses sur Aubergine directement par le LNR, le nombre de confirmation pour le ToBRFV a également sensiblement baissé (113 en 2020, 15 en 2021).

3.3 Autres analyses

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

> 2000 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Pour l'année 2021, plus de 2000 analyses ont été réalisées à des fins d'études de méthodologie et d'essais interlaboratoires.

Au cours de l'année, le laboratoire a participé à un essai interlaboratoire de validation dans le cadre d'un projet Euphresco sur le ToBRFV (200 analyses) ainsi qu'à des essais d'aptitude organisés par le LRUE (110 analyses).

Parmi les projets ayant mobilisé les agents, certains ont également donné lieu à des analyses : l'ANR "Phytovirus" visant à mesurer et cartographier la richesse des virus de plantes à l'échelle de l'écosystème ; EVAGLOBAL (projet H2020) visant à développer un système d'archive de virus à l'échelle européenne ; un projet Euphresco visant à évaluer une méthode générique pour la détection des Begomovirus ; le projet interne « Pathobiome » ayant pour objectif de travailler sur la métagénomique du microbiote végétal en collaboration avec les laboratoires de sécurité alimentaire.

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) : 3 (ToLCNDV, Begomovirus et RRV)

- 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

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, ...) 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 est engagé dans le groupe d'expert ANSES pour la rédaction de l'avis répondant à la saisine concernant « l'efficacité des méthodes visant à la destruction de végétaux contaminés par le virus de la Sharka en verger de Prunus » (Ref : 2019-SA-0048) (10J), il est consulté comme expert auprès du comité technique de certification piloté par le CTIFL (1J),

Sur sollicitation de l'autorité, le LNR a révisé les documents soumis pour le panel OEPP sur les mesures réglementaires. Le LNR a coécrit le protocole OEPP pour la détection du virus de la rhizomanie (Beet necrotic yellow vein virus) incluant notamment les différentes phases

de relecture et révision suite à la consultation des états membres (2 jours). Le LNR a participé également à la rédaction du protocole OEPP PM 7/NEW begomovirus (3J)
Le LNR a également participé au panel OEPP virtuel pour acter les modifications sur le protocole de détection du virus de la Tristeza (Citrus tristeza virus) avant la consultation des états membres (1 jour).

5.3 Dossiers de demande d'agrément

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

13 dossier(s)

Détail de ces activités et estimation du temps consacré

7 (ToBRFV) +6 (BNYVV)

3 jours

5.4 Activités d'appui ou de conseil aux autorités ou aux professionnels

Le laboratoire a été sollicité pour plusieurs expertises :

- Réalisation d'audits relatifs aux exigences (règlements 2016/2031 et 2019/829 CE) pour le respect du confinement d'installations de quarantaine (audit initial, renouvellement ou d'extension): analyses et audit des documents fournis et évaluation du risque. Audit des installations du demandeur sur site (selon situation), rédaction du rapport d'audit, suivi des fiches d'écart émises lors de l'audit. Temps de travail effectif : 15 jours pour 5 entreprises.
- Expertise à la demande du BEPT (Bureau Export Pays Tiers) suite à un blocage de plants de pomme de terre exportés vers l'Uruguay (2j)
- Expertises auprès du GEVES (Groupe d'Etude et de contrôle des Variétés Et Semences) sur l'organisation du suivi du réseau des laboratoires (ex : organisation EILA, méthodes, confirmation, etc...) pour le PepMV ;
- Participation au CROPSAV Pays de Loire (Conseil Régional d'Orientation de la Politique Sanitaire Animale et Végétale) ; expertise de la gestion du foyer de Sharka identifié dans la région (1 J) ;
- Révision des instructions techniques pour la surveillance des organismes réglementés et émergents (SORE) (1J)
- Révision du tableau des agréments en santé des végétaux (0.5J)
- Relecture du bilan de la surveillance concernant la Sharka en 2019 réalisé dans le cadre de la plateforme d'épidémiosurveillance en santé végétale.
- Participation à la rédaction de fiches d'information sur les organismes de quarantaine dans le cadre de la plateforme d'épidémiosurveillance en santé végétale.

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

12 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

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 commune à l'ensemble des LNR en santé végétale de l'Anses (44 participants)

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

2 session(s) de formation

Détail de ces activités, durée moyenne des sessions et nombre de participants par session

détection BNYVV par RT-PCR en temps réel (1,5 jours – 8 participants) et détection ToBRFV par RT PCR en temps réel (1 jour – 10 participants)

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Formation INFOMA (Institut National de Formation des personnels du Ministère de l'Agriculture) - 4 juin 2021 - Formation initiale des TSMA VA (Techniciens Supérieurs du Ministère chargé de l'Agriculture - spécialité vétérinaire et alimentaire) - Eléments de biologie, symptomatologie et d'analyses des virus phytopathogènes de quarantaine (1j)

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

2 EILT

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

- o Détection BNYVV par RT-PCR en temps réel (4 laboratoires),
- o Détection ToBRFV par RT PCR en temps réel (7 laboratoires) ;

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
Eupresco 2018-A-289	Bioinformatics network	en cours
Phytovirus (ANR)	Measuring and mapping the plant virus richness at the ecosystem scale	en cours
EVAGLOBAL (H2020)	European virus archive goes global	en cours
Eupresco 2016-A-212	Assessment of a generic method for the detection of Begomoviruses	en cours
Eupresco 2020-G-346	Data sharing initiative	en cours
AMI Pathobiome	Analyse du pathobiome dans les denrées alimentaires végétales	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 et nom de l'organisation détenant le mandat

Pests on plants - on Viruses, Viroids and Phytoplasmas (mandat porté par un consortium constitué des structures suivantes : Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority (NVWA, Pays bas) ; Research Centre for Plant Protection and Certification (CREA, Italie) ; National Institute of Biology (NIB, Slovénie))

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

Non

Raison pour laquelle le LNR n'a pas participé

Formation organisée sur la détection des virus sur semences. Non pertinente dans les objectifs par rapport au PTL (Programme de travail des laboratoires).

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

Liste des publications et communications 2021 dans le cadre du mandat de LNR Autres virus

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

Publications scientifiques nationales et internationales ('journal article', classement « RCL »)

- Desbiez, C., P. Gentit, P. Cousseau-Suhard, I. Renaudin et E. Verdin. 2021. "First report of Tomato leaf curl New Delhi virus infecting courgette in France." *New Disease Reports* 42 (2).
- Kutnjak, D., L. Tamisier, I. Adams, N. Boonham, T. Candresse, M. Chiumenti, K. De Jonghe, J. F. Kreuze, M. Lefebvre, G. Silva, M. Malapi-Wight, P. Margaria, I. Mavric Plesko, S. McGreig, L. Miozzi, B. Remenant, J. S. Reynard, J. Rollin, M. Rott, O. Schumpp, S. Massart et A. Haegeman. 2021. "A Primer on the Analysis of High-Throughput Sequencing Data for Detection of Plant Viruses." *Microorganisms* 9 (4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040841>.
- Trontin, C., B. Agstner, D. Altenbach, G. Anthoine, H. Bagińska, I. Brittain, A. Chabirand, A. M. Chappé, P. Dahlin, T. Dreo, C. Freye-Minks, C. Gianinazzi, C. Harrison, G. Jones, M. Luigi, S. Massart, N. Mehle, M. Mezzalama, H. Mouaziz, F. Petter, M. Ravnkar, T. M. Raaymakers, J. P. Renvoisé, M. Rolland, M. Santos Paiva, S. Seddas, R. Vlugt et A. Vučurović. 2021. "VALITEST: Validation of diagnostic tests to support plant health." *EPPO Bulletin* 51 (1): 198-206. <https://doi.org/10.1111/epp.12740>.

Ouvrages et Chapitres d'ouvrage ('book' ou 'book section')

- Kutnjak, D., L. Tamisier, I. Adams, N. Boonham, T. Candresse, M. Chiumenti, K. De Jonghe, J. F. Kreuze, M. Lefebvre, G. Silva, M. Malapi-Wight, P. Margaria, I. Mavric Plesko, S. McGreig, L. Miozzi, M. Malapi-Wight, P. Margaria, I. Mavric Plesko, S. McGreig, L. Miozzi, B. Remenant, J. S. Reynard, J. Rollin, M. Rott, O. Schumpp, S. Massart et A. Haegeman. 2021. "A Primer on the Analysis of High-Throughput Sequencing Data for Detection of Plant Viruses (Reprinted from: *Microorganisms* 2021, 9, 841)." Dans *Plant Viruses: From Ecology to Control*, édité par Jesús Navas-Castillo et Elvira Fiallo-Olivé, 91-122. Basel: Microorganisms.

Communications nationales ('conference proceedings ou 'conference paper')

- Cousseau, P., A. Saison et P. Gentit. 2021. "Test performance study (TPS) of molecular polyvalent detection methods for Begomoviruses." Poster Rencontre de virologie végétale, Aussois (73).
- Gentit, P., A. Marais, Y. Brans, JP. Renvoisé, B. Remenant, A. Saison, P. Cousseau, C. Faure, M. Lefebvre, J. Castaing, F. Chambon, A. Pion, G. Calado, S. Garnier, F. Latour, N. Grasseau et T. Candresse. 2021. "How the High throughput sequencing (HTS) can help and improve the conventional fruit tree propagation and quarantine schemes." Oral 18e Rencontres de Virologie Végétale, Aussois, France, 12 - 16 Sept. 2021.
- Oumaima, M., C. Julian, L. Blondin, E. Fernandez, E. Palanga, F. Robledo-Garcia, B. Remenant, P. Gentit, H. Fontes, F. Mesléard, S. Ben Chehida, J. M. Lett, P. Lefeuvre, K. E. Kpemoua, M. Dourma, A. Duputié, F. Massol, C. Lavergne, G. W. Harkins, A. Varsani, D. P. Martin, A. Marais, T. Candresse, D. Filloux et P. Roumagnac. 2021. "Measuring and mapping the plant virus richness at the ecosystem scale." Poster Rencontre de virologie végétale, Aussois (73).
- Porcher, L., E. Erine et P. Gentit. 2021. "Assessment of performance criteria of different real-time molecular methods for the detection of the tomato brown fruit virus in seed, fruit and leaf of *S. lycopersicum* and *C. annuum*." Poster Rencontre de virologie végétale, Aussois (73).
- Temple-Boyer-Dury, C., A. Blouin, K. De Jonghe, Y. Foucart, M. Botermans, M. Westenberg, R. Schoen, P. Gentit, M. Visage et E. Verdin. 2021. "Characterization of an emergent viral disease on vegetables in Europe." Oral Rencontre de virologie végétale, Aussois (73).

Autres (thèses, rapports de projets, d'expertise, et documents d'appui scientifique et technique)

- Giesbers, A., A. Roenhorst, M. Schenk, R. Barnhoorn, L. Tomassoli, M. Luigi, K. De Jonghe, L. Porcher, P. Gentit et H. Ziebell. 2021. "Report of the Euphresco project 2019-A-327 'Validation of molecular tests for the detection of tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) in seed of tomato and pepper'." *Zenodo*. <https://doi.org/https://doi.org/10.5281/zenodo.5776210>.