



## Rapport annuel d'activité, année 2021

### Laboratoire National de Référence

### Bactéries sur bananier, agrumes et plantes tropicales

**Nom du responsable du LNR**

Aude Chabirand

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

Laboratoire de la santé des végétaux — station de Saint-Pierre — île de La Réunion

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

unité Ravageurs et Agents Pathogènes Tropicaux (LSV RAPT)

**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*'

Complexe d'espèces de *Ralstonia solanacearum* (ceRs), en particulier *R. solanacearum* responsable de la maladie de moko sur bananier et *Ralstonia syggyii* subsp *celebesensis* responsable de la maladie du sang du bananier (*Banana blood disease*)

*Xanthomonas citri* pv. *citri*

*Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii*

*Xanthomonas phaseoli* pv. *dieffenbachiae*

*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*

*Xanthomonas vasicola* pv. *musacearum*

NB : à ce jour les annexes des législations phytosanitaires pour les 6 EPOM (Espace phytosanitaire d'outremer) ne sont pas encore publiées.

## Les faits marquants de l'année

Les évolutions réglementaires intervenues au niveau de l'UE avec la mise en application du règlement (UE) 2016/2031 relatif aux mesures de protection contre les organismes nuisibles, considérant notamment les DROM comme des pays tiers par rapport à l'UE, ont nécessité pour les DROM des adaptations réglementaires au droit communautaire, exprimées par l'ordonnance n°2019-1110 du 30 octobre 2019 portant adaptation du Livre II : Alimentation, santé publique vétérinaire et protection des végétaux (articles L201-1 à L275-15) du code rural et de la pêche maritime (CRPM).

Les arrêtés préfectoraux, fixant par annexe les listes des organismes nuisibles réglementés pour 6 Espaces phytosanitaires d'outremer (EPOM) devraient être pris d'ici la fin de l'année 2022, dès que le CRPM sera effectif : (i) la Guyane, (ii) Mayotte, (iii) la Réunion, (iv) la Guadeloupe, et (v) la Martinique, ces 2 derniers étant soumis à un arrêté préfectoral commun ; Saint-Barthélemy et Saint-Martin constituant les 2 derniers EPOM à finaliser.

La publication de ces annexes permettra au LSV et plus particulièrement à l'unité RAPT, de disposer des bases réglementaires nécessaires à l'optimisation de la planification des activités du LNR avec en priorité les activités liées à la méthodologie et aux analyses prévues dans les plans de surveillance officielle des organismes réglementés ou émergents (SORE), incluant les dispositifs de contrôle du matériel végétal destiné à la multiplication (cahiers des charges vitroplants de bananiers, passeport phytosanitaire pour les plants d'agrumes ...).

Les faits les plus marquants sont à signaler sur les filières suivantes:

- La filière agrumes :

o la maladie du Huanglongbing (HLB), causée majoritairement par la bactérie '*Candidatus Liberibacter asiaticus*', demeure la contrainte majeure pour cette filière aux Antilles et à la Réunion, avec de fortes répercussions sur la production, des replantations limitées, et des cas de HLB en pépinière aux Antilles. A la Réunion, le plan de surveillance coordonné par la DAAF s'est poursuivi avec pour objectif de cartographier la maladie et de confirmer les zones indemnes ou à moindre prévalence de la maladie, destinées aux nouvelles plantations. Aux Antilles, la situation est inchangée avec une prévalence assez homogène de la maladie, et une tendance à la reprise des plantations. En Guyane, une suspicion d'émergence a conduit à une surveillance renforcée du HLB sur le territoire, depuis le second semestre 2021. Enfin en Polynésie française un programme de relance de production d'agrumes a conduit à des demandes d'analyses notamment pour la détection du HLB, visant à assurer le caractère indemne des plantes-mères.

Les travaux méthodologiques de l'unité RAPT ont permis la validation et la publication d'une

nouvelle méthode d'analyse pour la détection du HLB, basée sur la technique de PCR temps réel, et permettant un gain en termes de sensibilité analytique, de temps d'analyse et de coûts.

o le chancre asiatique des agrumes (*Xanthomonas citri* pv. *citri* = Xcc) : à la Martinique, faute de pouvoir éradiquer les foyers, la maladie continue de progresser depuis les foyers du Nord-atlantique, Xcc étant toujours absent de la Guadeloupe. L'unité est fortement impliquée sur cette thématique dans le domaine de la référence avec la finalisation des travaux de développement de méthodes de détection de *Xanthomonas citri* pv. *citri* et *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii* (responsable du chancre sud-américain des agrumes) par PCR et PCR en temps réel avec la perspective de publier une méthode officielle début 2023 et de contribuer avec le CIRAD à la révision du protocole OEPP.

- Sur les filières des solanées maraîchères, principalement tomate et aubergine, le complexe d'espèces de *Ralstonia solanacearum* (ceRs) demeure une problématique importante, voire majeure. Les travaux entrepris en collaboration avec le CIRAD depuis la dernière thèse Anses CIRAD confirment la prévalence de certaines lignées du phylotype I (en particulier I18 et I31) avec la recherche de l'origine de ces prévalences par l'effet des bactériocines présentes dans les sols. L'unité RAPT a continué l'exploitation des données obtenues à partir des souches collectées en Afrique de l'est en 2019 en vue de construire un schéma d'épidémiologie moléculaire à l'échelle de la région du Sud-ouest de l'océan indien et des pays d'Afrique de l'est.

## **Abréviations**

- 3P : Pôle de protection des plantes
- BERL : Bureau de l'évaluation scientifique, de la recherche et des laboratoires (BERL)
- CFBP : Collection française de bactéries associées aux plantes
- ceRs : complexe d'espèces de *Ralstonia solanacearum*
- CIRAD UMR PVBMT : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, unité mixte de recherche Peuplement végétaux et bioagresseurs en milieu tropical
- CRES : Comité Régional d'Epidémiologie et de Surveillance
- CROPSAV : Conseil Régional d'Orientation de la Politique Sanitaire Animale et Végétale
- CRPM : Code rural et de la pêche maritime
- DAAF SALIM : Direction de l'alimentation de l'agriculture et de la forêt, Service de l'Alimentation
- DROM : Département et région d'outremer
- EPOM : Espace phytosanitaire d'outremer
- FDGDON : Fédération départementale des groupements de défenses contre les organismes nuisibles
- IBWS: International Bacterial Wilt Society
- LAMP : Loop-mediated isothermal amplification
- OVS : Organisme à vocation sanitaire
- PCR : Polymerase chain reaction
- SORE : Surveillance officielle des organismes réglementés ou émergents
- Plateforme ESV : Plate-forme d'épidémiologie et de surveillance en santé végétale
- Xca : *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii*
- Xcc : *Xanthomonas citri* pv. *citri*

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

**Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre**

1 méthode(s)

### **Intitulé et brève description de chacune de ces méthodes**

Il s'agit de la méthode de détection de '*Candidatus Liberibacter spp.*', responsable de la maladie du Huanglongbing (HLB), sortie du projet EUPHRESKO HLB VALID : ANSES/LSV/MA 063 - Détection de '*Candidatus Liberibacter spp.*', responsable de la maladie du Huanglongbing (HLB), par la technique PCR en temps réel sur nervures et pétioles de plantes hôtes de la famille des Rutaceae.

Cette méthode permet un gain de sensibilité analytique et de temps par rapport à la méthode qui était mise en œuvre, jusqu'à présent, pour les analyses officielles et qui était basée sur la technique de PCR conventionnelle (MOA 033).

### **Informations complémentaires**

Une autre méthode a également été validée en 2021 elle concerne la détection de *Xanthomonas citri* pv. *citri* et *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii*, responsable du chancre bactérien des agrumes par isolement et PCR conventionnelle. Cette méthode sera proposée à la publication officielle en 2022. Il s'agit d'une des sorties du projet H2020 Valitest.

Des méthodes sont également en cours d'évaluation (i) pour la détection des bactéries responsables de la pourriture molle du bananier (bactéries des genres *Dickeya* et *Erwinia*) et (ii) pour la détection de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* et de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*, responsables de la bactériose des feuilles du riz.

### **Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année**

1 méthode(s)

### **Intitulé de chacune des méthodes transférées**

La méthode ANSES/LSV/MA 063 est en cours de transfert.

## **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...)**

214 analyse(s)

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

Au total 214 analyses ont été réalisées en bactériologie végétale, elles concernent principalement la détection des bactéries sur agrumes :

-Détection de '*Candidatus Liberibacter spp.*' sur agrumes : 174 analyses. Un certain nombre de demandes d'analyse provient du territoire de Guyane pour la surveillance renforcée suite à une suspicion d'émergence. Des analyses ont également été effectuées pour le territoire de Polynésie française afin de garantir le caractère indemne vis-à-vis du HLB, de plants destinés à la multiplication pour la relance d'une filière agrume.

-Détection de *Xanthomonas citri* pv. *citri* et *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii* sur agrumes : 38 analyses, réalisées pour le territoire de la Réunion et pour le compte d'un pays d'Afrique du Nord dans le cadre d'un projet collaboratif impliquant une autre unité du LSV.

Ces analyses sont globalement en augmentation au regard de l'activité sur les 5 dernières années. Ces deux thématiques sont devenues des enjeux majeurs au niveau de l'unité et justifient des demandes d'extension d'accréditation selon la norme ISO 17025. Ces

extensions seront préparées en 2022.

Enfin, on notera, en 2021, la quasi absence d'analyse concernant la détection des bactéries (*Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas vasicola* pv. *musacearum*) du fait de l'absence de demande d'analyses portant sur les plantes mères de bananiers des établissements agréés pour l'export de vitroplants de bananiers vers les DROM du fait du non renouvellement du parc de plantes mères en 2021.

### **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 d'analyse de confirmation. La tendance est stable par rapport aux années précédentes (très peu de demandes d'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**

600 analyse(s)

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

\* Détection de '*Candidatus Liberibacter* spp.' sur Agrumes : 300 analyses du fait de la poursuite des travaux méthodologiques de validation de la méthode de détection par PCR temps réel.

\* Détection de *Xanthomonas citri* pv. *citri* et pv. *aurantifolii* sur Agrumes : 300 analyses du fait de la poursuite des travaux méthodologiques de validation de la méthode de détection par PCR et isolement, dans la continuité du projet H2020 Valitest.  
Tendance stable par rapport aux années précédentes.

### **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 : 2

- EURL proficiency test for the molecular detection of '*Candidatus Liberibacter africanus*', '*Candidatus Liberibacter americanus*' and '*Candidatus Liberibacter asiaticus*'
- EURL proficiency test for the molecular detection of *Xanthomonas citri* pv. *citri* (Xcc) and *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii* (Xca)

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 billes 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...).**

L'unité RAPT a participé à diverses activités liées à l'expertise:

- Co-animation du Groupe de travail HLB qui s'est mis en place en 2020 dans le cadre de la plateforme d'épidémiosurveillance en santé végétale (ESV). L'animation de ce groupe se focalise sur le partage des données d'épidémiosurveillance, le partage de compétences en expertise et de développement d'outils pour la gestion de crise ; l'amélioration de la surveillance ; ainsi que la diffusion de l'information et la communication au sens large, prenant aussi en compte l'organisation de sessions de formation. Le groupe de travail HLB se donne pour mission de mutualiser les expériences entre territoires - les données, les expertises, les résultats de recherche - afin d'améliorer la surveillance de cette crise sanitaire à tous les stades de son développement et ainsi fournir à chaque territoire des outils permettant des prises de décisions aussi éclairées que possible.

- Contribution à la révision des protocoles OEPP :
  - PM7/44 (2) concernant la détection de *Xanthomonas citri* pv. *citri* et *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii*
  - PM7/121 (2) concernant la détection de '*Candidatus Liberibacter* spp.', responsable de la maladie du HLB

- Participation d'un agent de l'unité au programme de recherche coordonné 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 : suite aux prospections et aux analyses réalisées en 2019 et 2020, l'année 2021 a été consacrée à l'exploitation des données en vue de proposer un schéma d'épidémiologie moléculaire à l'échelle de la zone géographique. La publication de ces travaux dans une revue scientifique est prévue en 2022.

### **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 2021, l'unité a continué d'apporter un soutien et des conseils au niveau des instances suivantes :

- Participation au Comité régional d'épidémiosurveillance (CRES) de la Réunion : 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 : 2 réunions en 2021 (temps consacré : environ 8h)
- Dans le cadre du comité de pilotage pour l'édition de la 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.
- Participation au comité de pilotage de la maladie du HLB à la Réunion sous la coordination de la DAAF SALIM Réunion, 3 réunions par an (10h)

En 2021, l'unité a organisé des rencontres avec l'ensemble des services officiels en charge de la protection des végétaux des DROM et autres territoires d'outremer et a renouvelé son soutien scientifique et technique dans le domaine analytique correspondant à son mandat de bactériologie aux services officiels des territoires d'outremer qui souhaitent développer des activités de laboratoires 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**

3 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 aux LNR en Santé Végétale et à leurs réseaux (44 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

## **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

SBT

### Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans le cadre de "SBT"

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
VALITEST	Validation of diagnostic tests to support plant health	terminé
AGRUMILE	Thèse Anses-CIRAD-INRAe : 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 et nom de l'organisation détenant le mandat

Intitulé du LRUE : EURL-Bacteriology consortium.

Partenaires du consortium : Nederlandse Voedsel en Warenautoriteit NVWA (NL), National Institute of Biology NIB (SI), Research Centre for Plant Protection and Certification CREA (IT), Research Institute for Agriculture, Fisheries and Food ILVO (BE)

Mandat : Pests on plants – Bacteria

### 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

Pas de formation proposée

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

Fourniture de témoins de référence (HLB) et de protocoles

Demande du LRUE d'utilisation des données produites par l'unité dans le cadre du projet H2020 Valitest (Xcc/Xca)

**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 Bactéries sur bananier, agrumes et plantes tropicales

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

- **Publications scientifiques nationales ou internationales**

Deberdt, P., G. Cellier, R. Coranson-Beaudu, M. Delmonteil-Girerd, J. Canguio et B. Rhino. 2021. "First Report of Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum* on *Plectranthus amboinicus* in Martinique." *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-20-2622-PDN>

Pruvost, O., D. Richard, K. Boyer, S. Javegny, C. Boyer, F. Chiroleu, P. Grygiel, E. Parvedy, I. Robene, V. Maillot-Lebon, A. Hamza, K. K. Lobin, M. Naiken et C. Verniere. 2021. "Diversity and Geographical Structure of *Xanthomonas citri* pv. *citri* on Citrus in the South West Indian Ocean Region." *Microorganisms* 9 (5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9050945>

Richard, D., A. Rieux, P. Lefevre, A. Hamza, K. K. Lobin, M. Naiken, R. Stravens, C. Boyer, K. Boyer, S. Javegny et O. Pruvost. 2021. "Draft Genome Sequences of 284 *Xanthomonas citri* pv. *citri* Strains Causing Asiatic Citrus Canker." *Microbiology Resource Announcements* 10 (1). <https://doi.org/10.1128/MRA.01024-20>

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. Vučković. 2021. "VALITEST: Validation of diagnostic tests to support plant health." *EPPO Bulletin* 51 (1): 198-206. <https://doi.org/10.1111/epp.12740>