



Rapport annuel d'activité, année 2021

Laboratoire National de Référence

Virus sur bananier 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

Abaca bunchy top virus (ABTV)

African Cassava mosaic virus (ACMV)

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)

Cassava Common Mosaic Virus (CsCMV)

Citrus tristeza virus (CTV)

Cucumber mosaic virus (CMV)

Pineapple mealybug wilt associated virus (PMWaV)

Sweet potato chlorotic stunt virus (SPCSV)

Sweet potato mild mottle virus (SPMMV)

Taro bacilliform virus (TaBV)

Yam mosaic virus (YMV)

Yam mild mosaic virus (YMMV)

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:

Sur la filière banane, en ce qui concerne la virologie, l'extension en Afrique de l'Est de la maladie du sommet buissonnant du bananier, causée par le Banana bunchy top virus (BBTV), doit conduire à une grande vigilance sur les deux DROM particulièrement exposés (Mayotte et la Réunion) du fait que le puceron vecteur (*Pentalonia nigronervosa*) y est déjà installé; le BBTV étant l'une des maladies les plus graves du bananier.

Sur la filière des productions maraîchères où la tomate sous abri et les cucurbitacées occupent une place prépondérante, l'apparition des virus ToBRFV (Tomato brown rugose fruit virus) et ToLCNDV (Tomato leaf curl new dehli virus) en France et dans plusieurs pays de l'UE, a conduit à la mise en place de plans de surveillance par les SALIM. A noter, que le ToLCNDV avait été signalé en 2017 dans le sud-ouest de l'océan indien (archipel des Seychelles). Ces plans de surveillance peuvent s'appuyer sur une étude partagée entre plusieurs équipes de la plateforme du Pôle de protection des plantes (3P) visant à diagnostiquer les problèmes rencontrés en

culture de tomate sous abri à la Réunion, en associant diverses approches (diagnostic sans a priori par NGS, analyses ciblées avec des méthodes de biologie moléculaire et de sérologie). Sur la filière ananas à la Réunion, le suivi épidémiologique de la culture a permis de confirmer la très forte occurrence du complexe viral composé de plusieurs closterovirus (Pineapple mealybug wilt associated virus, PMWaV 1, 2 et 3) et de badnavirus en montrant l'absence de recontamination des quelques parcelles plantées avec du matériel végétal issu de vitroplants. Toutefois, la mise en place d'un système de pépinières en vue d'assainir le matériel végétal destiné à la plantation à partir de vitroplants ne connait pas le développement escompté, ce qui ne justifie pas la publication et la délégation aux laboratoires agréés de la méthode de PCR multiplexe développée par l'unité RAPT en 2019. Sur la filière canne à sucre à la Réunion, l'installation généralisée du puceron *Sipha fava* n'a pas été accompagnée des signaux indiquant une recrudescence des potyvirus transmis par ce puceron : en particulier le Sugar canne mosaic virus (SCMV).

Abréviations

- 3P : Pôle de protection des plantes
- ABTV : Abaca bunchy top virus
- ACMV : African Cassava mosaic virus
- BanMMV : Banana Mild Mosaic virus
- BBrMV : Banana Bract Mosaic Virus
- BSV : Banana Streak Virus
- BBTV : Banana Bunchy Tops Virus
- CBSV : Cassava brown streak virus
- CMV : Cucumber Mosaic Virus
- CsCMV : Cassava Common Mosaic Virus
- CTV : Citrus Tristeza Virus
- CRES : Comité Régional d'Epidémiologie et de Surveillance
- CIRAD UMR PVBMT : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, unité mixte de recherche Peuplement végétaux et bioagresseurs en milieu tropical
- CRPM : Code rural et de la pêche maritime
- CROPSAV : Conseil Régional d'Orientation de la Politique Sanitaire Animale et Végétale
- 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 défense contre les organismes nuisibles
- NGS : Next Generation Sequencing
- OVS : Organisme à vocation sanitaire
- PBV : Pineapple bacilliform virus
- PCR : Polymerase chain reaction
- PMWaV: Pineapple mealybug wilt associated virus
- RITA : Réseau d'innovation et de transfert agricole
- SCMV : Sugar canne mosaic virus
- SORE : Surveillance officielle des organismes réglementés ou émergents
- SPCSV : Sweet potato chlorotic stunt virus
- SPMMV : Sweet potato mild mottle virus
- TaBV : Taro bacilliform virus
- ToBRFV : Tomato brown rugose fruit virus
- ToLCNDV : Tomato leaf curl new dehli virus
- UE : Union Européenne

- YMV : Yam mosaic virus
- YMMV : Yam mild mosaic virus

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

ANSES/LSV MA 044 version 3 Détection du Banana streak virus sur bananier, espèces Obino l'Ewaï, Goldfinger, Imové et Mysore par PCR conventionnelle multiplexe BSV.

L'arrêt de commercialisation des anticorps nécessaires à la méthode d'immunocapture PCR de la version 2, a conduit à valider 2 méthodes d'extraction des acides nucléiques différentes selon le génome du bananier :

- (i) Génome A : une extraction d'acides nucléiques basée sur un kit commercial
- (ii) Génome contenant du B : conservation d'une étape d'immunocapture

Informations complémentaires

D'autres travaux de validation de méthodes sont également en cours :

- pour la détection du BSV, avec la perspective de valider de nouveaux anticorps pour permettre de revenir à une détection par immunocapture pour les analyses de routine réalisées sur bananier ide génome A ou B,
- pour la détection du BanMMV par reverse transcription PCR.

Des travaux sont également en cours pour évaluer des méthodes de multiplexage permettant une détection simultanée de plusieurs virus du bananier.

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 044 version 3 Détection du Banana streak virus sur bananier, espèces Obino l'Ewaï, Goldfinger, Imové et Mysore par PCR conventionnelle multiplexe BSV

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...)

1495 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Au total 1495 analyses ont été réalisées en virologie végétale, avec la répartition suivante :

- Détection du Banana streak virus (BSV= complexe de 4 espèces) sur bananier : 592 analyses ; ce nombre est relativement élevé et s'explique par l'arrêt de commercialisation des anticorps nécessaires à la méthode d'immunocapture PCR, impliquant la prise en charge des

analyses sur bananier de génome B par le LNR

-Détection du Banana mild mosaic virus (BanMMV) sur bananier par RT-PCR: 133 analyses, à noter que des travaux méthodologiques sont en cours pour valider et transférer cette méthode d'analyses

-Détection du Pineapple mealybug wilt associated virus (PMWaV) sur ananas: 462 analyses, et Détection du Pineapple bacilliform virus (PBV) Comosus et Erectifolius : 308 analyses, il s'agit principalement d'analyses réalisées dans le cadre du suivi épidémiologique de parcelles de la Réunion, et d'échantillons en provenance de Mayotte, en lien avec la thèse d'un agent de l'unité.

Le nombre d'analyses peut varier assez significativement d'une année à l'autre selon l'actualité sanitaire, globalement l'année 2021 est dans la moyenne haute des 5 dernières années.

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'analyses 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

900 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Un total de 900 analyses réparties principalement sur bananier et agrumes :

-Mise en œuvre de nouveaux travaux méthodologiques pour la détection du BSV, suite à la nécessité de valider une nouvelle méthode d'analyse du fait de l'arrêt de commercialisation des anticorps qui étaient validés : 250 analyses

-Poursuite des travaux de validation de la méthode de détection du BanMMV sur bananier par RT-PCR : 150 analyses

-Travaux de multiplexage pour la détection des virus du bananier (projet d'apprentissage) : 300 analyses.

-Détection du Citrus tristeza virus pour la préparation de l'essai interlaboratoire d'aptitude (études préliminaire, validation des échantillons, homogénéité, stabilité) : 200 analyses

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 : Néant

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

- International : Néant

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 d'aptitude et de transfert

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 ou lyophilisés, ou des broyats végétaux négatifs, conservés congelés, ou encore des extraits d'acides nucléiques négatifs et, pour les MRI positifs, des fragments végétaux contenant la cible en sachet de broyage conservés congelés ou lyophilisés, ou des broyats végétaux positifs conservés congelés ou encore des extraits d'acides nucléiques positifs 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

Oui

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

BSV en contrôles positifs et en contrôles négatifs

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

10

Nombre d'unités distribuées au plan national

30

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...).

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

- Contribution à la révision du protocole OEPP PM7/31 (2) concernant la détection de du Citrus tristeza virus, responsable de la Tristeza des agrumes
- Participation au groupe de travail Vitro-plants de Bananiers (mis en place à la suite d'une saisine DGAL adressée à l'Anses et expertisée dans le cadre du CES risques biologiques en santé végétale). Objectif: Etablir la liste des ON, à prendre en compte dans les cahiers des charges au niveau des établissements producteurs de Vitro-plants et des établissements de type pépinière

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

- Participation au Comité régional d'épidémiologie (CRES) de la Réunion : l'unité est sollicitée pour apporter des données sur les ON considérés comme émergents (temps consacré : environ 10h)
- Participation au CROPSAV Réunion section végétale et section plénière : 2 réunions en 2021 (temps consacré : environ 8h)
- Participation au comité de pilotage du Réseau d'Innovation et transfert agricole (RITA) pour la Réunion (temps consacré : 5h)

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 virus de la tristeza (CTV) sur citrus par ELISA

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

Non

Nombre de laboratoires participants

3 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

3 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

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

Stabilité du nombre de laboratoires dans le réseau et maintien des performances de ce réseau dans le temps.

6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers

Le LNR exploite les résultats d'EILA organisés 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)

(**) Au sens de la norme 17043

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

1 EILT

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

1 EILT Validation du transfert de la méthode ANSES/LSV MA 044 v3 (extraction d'ADN en remplacement de l'IC) pour la détection du Banana Streak Virus par PCR multiplexe sur bananier de génome A

2 laboratoires agréés concernés

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
EUPHRESCO 2018-E-294. BEST PRACTICE	High Throughput Sequencing (HTS) also called Next Generation Sequencing (NGS) standards and best practices for regulatory applications	terminé
Thèse	La maladie du wilt de l'ananas à la Réunion : Apport de la métagénomique virale	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-Virology 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)

Mandat : Pests on plants - on Viruses, Viroids and Phytoplasmas

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

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 Virus sur bananier 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**

Massé, D., N. Cassam, B. Hostachy, M. L. Iskra-Caruana, M. Darnaudery, P. Lefeuvre et J. M. Lett. 2021. "First Report of Three Pineapple Mealybug Wilt-Associated Viruses in Queen Victoria Pineapples in Reunion Island." *Plant Disease* 105 (3): 715-715. <https://doi.org/10.1094/pdis-05-20-1068-pdn>.

- **Conférences sur invitation**

Massé, D., N. Cassam, P. Lefeuvre, D. Filloux, T. Candresse, S. Massart, P. Roumagnac, E. Verdin, A. Marais, E. Fernandez, M. Hoarau et Jean-Michel. Lett. 2021. "High-throughput sequencing for detection and discovery of viruses associated with mealybug wilt diseased pineapple: Comparison of five approaches." Oral Rencontres de Virologie Végétale, Aussois, France, 12 - 16 septembre.