



Rapport annuel d'activité, année 2022

Laboratoire National de Référence

Autres bactéries

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 de bactériologie, virologie et OGM (BVO)

Dangers sanitaires tels que définis par l'article L.201-1 du code rural et de la pêche maritime couverts par le mandat

2019/2072CE Annexe II partie A : organismes de quarantaine dont la présence n'est pas connue sur le territoire de l'Union modifié par le Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 de la Commission du 14 décembre 2021

2019/2072CE Annexe II partie B : organismes de quarantaine dont la présence est connue sur le territoire de l'Union modifié par le Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 de la Commission du 14 décembre 2021
2019/2072CE Annexe III : Liste des zones protégées et des organismes de quarantaine de zone protégée correspondants modifié par le Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 de la Commission du 14 décembre 2021

2019/2072CE Annexe IV : Liste des organismes réglementés non de quarantaine de l'Union (ORNQ) et des végétaux spécifiques destinés à la plantation, assortie de catégories et de seuils, telle que visée à l'article 5 (seuils à 0%) modifié par le Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 de la Commission du 14 décembre 2021

La liste complète en annexe 1

Les faits marquants de l'année

En référence, les analyses de première et seconde intentions totalisent une augmentation de 20% par rapport à 2021.

En recherche, à la suite de la thèse codirigée et cofinancée Anses – INRAE sur *Xylella fastidiosa* (Dupas et al. 2022), des analyses génomiques ont été poursuivies pour partie en partenariat avec l'équipe INRAE Emersys d'Angers et pour partie en autonomie. De façon préliminaire, elles ont permis d'établir les premières hypothèses quant à l'origine génétique des souches françaises. Enfin, la mise en évidence de 2 nouvelles souches ST88 et ST89 en région PACA a été valorisée par une short communication (Cunty et al. (2022)).

Une thèse Cifre financée par la Fédération des Producteurs de Plants de Pomme de terre a été engagée sur les thématiques de (i) l'épidémiologie de *Ralstonia solanacearum* en France métropolitaine basée sur une collection mise en commun de plus 300 souches et (ii) de la détection multi-organismes sur pomme de terre.

Des travaux d'optimisation de la détection de *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* se sont poursuivis à la suite des travaux du projet H2020 Valitest, du LRUE et du projet collaboratif Euphresco. La PCR Pal et al. (2019) (modifiée par le NIB) permettant de distinguer *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* (Pss), classé organisme de quarantaine en UE, de *Pantoea stewartii* subsp. *indologenes* (Psi) présent dans la flore des semences a été validée en méthode interne pour application dans le schéma de détection sur semences de maïs. Le laboratoire est engagé dans un Euphresco piloté par l'ILVO (Belgique) sur la thématique de la détection de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* sur semences et plants de haricot, en vue de contribuer aux études d'intercomparaison et validation de méthodes.

Abréviations

BEPT : Bureau de l'Exportation Pays Tiers

CIRM-CFBP: collection internationale de ressources microbiennes - collection française de bactéries associées aux plantes

CTAB : bromure de cétyltriméthylammonium,

DGAI : Direction Générale de l'Alimentation

HTS : High-Throughput Screening

INRAE : Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'alimentation et l'Environnement

MLSA: Multi-Locus Sequence Analysis

MLST : Multi-Locus Sequence Typing

MLVA : Multiple Loci

SRAI : Service Régional de l'Alimentation

ST : Sequence Type

VNIKR : All-Russian Plant Quarantine Center

VNTR Analysis : Variable Number Tandem Repeat

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Le laboratoire poursuit sa volonté de faire évoluer les méthodes existantes vers des techniques moléculaires plus performantes (nouvelle MA039 V6 sur *Xylella fastidiosa*, *Pantoea stewartii*, *Ralstonia* spp.) et en accompagnant les laboratoires agréés à travers le suivi d'échantillons issus de la référence (ex : analyse en doublons de résultats négatifs en *Xylella fastidiosa* pour la région Occitanie ; analyse de non-conformité).

Ainsi, la méthode ANSES/ LSV / MA 039 - version 6 ciblant la détection de *Xylella fastidiosa* par PCR en temps réel sur végétal a pour objet la détection de la bactérie phytopathogène *X. fastidiosa* sur toutes plantes, qu'elles soient symptomatiques ou non. La présence de *X. fastidiosa* est mise en évidence par un test de détection par PCR en temps réel. Elle s'applique sur pétioles, nervures centrales, tiges, rameaux non ligneux, et sur tissus du xylème prélevés sur rameaux ligneux. La modification de la version 6 porte principalement sur le changement pour une nouvelle méthode d'extraction automatisable d'ADN permettant de supprimer la méthode manuelle CTAB sur oliviers et chênes verts (gain de sécurité pour l'utilisateur également sans perte de sensibilité) et l'ajout d'un contrôle interne en duplex avec la PCR de détection de *Xylella fastidiosa*. La consultation de la méthode ANSES/ LSV / MA 039 - version 6 se terminera en janvier 2023 et la nouvelle version de la méthode sera mise en ligne en février 2023.

Nous avons continué à promouvoir nos méthodes aux niveaux européen et international (panels et groupes de travail OEPP/IPPC bactériologie; LRUE bactériologie). Notre compétence et notre activité dans le domaine du diagnostic ont été maintenues en y intégrant de nouvelles techniques d'identification : barcoding, MLST, MLSA, HTS sur souche bactérienne ou extrait végétal.

Nous avons poursuivi nos travaux sur *Xylella fastidiosa* en intégrant le séquençage à des fins épidémiologiques (MLVA) et avons conforté et validé l'utilisation de nouveaux outils pour la caractérisation de certains agents pathogènes les plus à risque (ex : *Pantoea stewartii*).

Dans le cadre de la crise phytosanitaire faisant suite à la détection en 2015 des premiers foyers de *Xylella fastidiosa* en Corse et en région PACA, puis en 2020 en région Occitanie, le LNR s'est particulièrement impliqué en 2022 dans :

- La validation d'une nouvelle méthode d'extraction automatisable d'ADN permettant de supprimer la méthode manuelle CTAB sur oliviers et chênes verts et celle d'un contrôle interne d'amplification génique en duplex avec la PCR de détection de *Xylella fastidiosa*. Ceci a permis de mettre en consultation la version 6 de la méthode MA039 sur végétaux en décembre 2022,

- La mise en évidence par MLST de 2 nouvelles souches en région PACA de la sous-espèce multiplex de *Xylella fastidiosa* (ST88 à Saint Raphaël et ST89 à Villeneuve-Loubet) ayant conduit à une communication (Cunty et al., 2022),
- La confirmation de l'extension de la contamination de la nouvelle région Occitanie par la sous-espèce multiplex avec isolement de plusieurs souches bactériennes : en plus de l'Aude, les départements de l'Ariège, du Tarn et de Haute-Garonne présentent des foyers mais toujours un seul foyer dans le Gard.

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

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

923 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

923 analyse(s) dont 571 concernant des organismes de quarantaine (OQ-62%)

Détail par type d'analyse de première intention :

En 2022, les analyses de première intention totalisent 923 analyses, soit une augmentation de 20% par rapport à 2021 (761) et 2 ans de baisse par rapport à 2019 (1301); cette situation est principalement due :

- A l'augmentation (X3) de l'activité de diagnostic et détections diverses sur végétaux symptomatiques en lien avec la recherche d'urgences
- A une forte augmentation des analyses sur effluents et boues vis-à-vis de *Ralstonia solanacearum* (+40%) en lien avec des craintes issues de détection dans des pays de l'UE (Pays-Bas en particulier)
- À l'impact de la nouvelle réglementation de santé végétale et la poursuite du changement de statut de certains ON : analyses des OQ *Ralstonia pseudosolanacearum* et *R. syzygii* en plus de *R. solanacearum* pour la station de quarantaine ; changement du périmètre de nos mandats entraînant l'arrêt d'analyses sur semences de *Xanthomonas spp.* sur tomate/piment et de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* sur tomate ; statut d'ORNQ de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* sur kiwi conduisant à une augmentation de la surveillance
- À l'impact de de la crise sanitaire Covid en 2021 qui avait limité des prélèvements de printemps,

La répartition des recherches d'organismes nuisibles en première intention a été la suivante :

- 571 analyses (62%) concernent des organismes classés OQ selon le nouveau règlement de santé végétale 2016/2031 (*Xylella fastidiosa*, *Ralstonia spp/Clavibacter sepedonicus*, *Xanthomonas citri*, *Pantoea stewartii*, *Curtobacterium flaccumfaciens*).
- Les organismes classés en catégorie ORNQ ou non réglementés correspondent à donc 38% (352, stable en nombre par rapport à 2021) du total des analyses : principalement *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, diagnostic, *Pseudomonas spp.*, *Xanthomonas spp.*).

Ainsi, sur le total des 923 analyses de première intention, les principaux organismes nuisibles analysés sont: *Ralstonia spp./Clavibacter sepedonicus* (470 ; 51%), *Erwinia amylovora* (196 échantillons asymptomatiques ; 21%), *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* (4%), *Xylella fastidiosa* (5%) et *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (4%).

L'activité de diagnostic se développe pour répondre aux attentes du terrain dans le cadre de notre activité de veille de nouvelles émergences avec la recherche d'organismes nouveaux ou peu fréquents tels que les ON de quarantaine *Pantoea stewartii*, subsp. *stewartii* sur maïs ou *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* sur haricot.

3.2 Analyses officielles de confirmation

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année

1036 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

1036 analyses officielles de confirmation ont été réalisées en 2022 (soit une augmentation de 20% par rapport à 2021 (878) qui était déjà en nette augmentation par rapport à 2020 (543) ou 2019 (404).

Ceci est dû quasi exclusivement au nombre d'analyses concernant *Xylella fastidiosa* en augmentation (1006 en 2022 au lieu de 873 en 2021): 497 analyses de PCR en temps réel (confirmation MA039 sur végétaux ou MA065 sur vecteurs*), 498 analyses correspondant aux déterminations de sous-espèces de *Xylella fastidiosa* par PCR tetraplex Dupas et al. (2019) et/ou analyse MLST (419 en 2021) et des isollements de souches. La principale raison de cette augmentation est le besoin du SRAI Occitanie de définir avec précision le périmètre de présence de la bactérie dans la région Occitanie.

Seulement 30 analyses ont concerné d'autres cas de confirmations de *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*, *Ralstonia solanacearum* ou *Clavibacter insidiosus*. Les organismes de quarantaine concernent 99% des analyses de confirmation (1024).

* Suite au transfert de la méthode MA065 V1 au printemps 2021, la poursuite des confirmations d'analyses positives sur vecteurs issus des 3 laboratoires agréés avec si possible (suivant concentration) la détermination de la sous-espèce par MLST.

3.3 Autres analyses

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

4500 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

4150 analyses moléculaires et 350 tests biologiques

- Méthodologie sur *Xylella fastidiosa* en vue de valider et publier la version 6 de la méthode officielle MA039 a correspondu à 2603 PCR sur la comparaison de 2 méthodes d'extraction automatisées sur olivier (dont échantillons naturellement contaminés d'Italie) et chêne, la validation du duplex Harper/loos sur toutes matrices intégrant un contrôle interne d'amplification et l'absence d'impact de la modification du programme PCR.

- Finalisation des travaux de validation de la PCR Pal et al., (2019) et d'optimisation du schéma de détection de *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* incluant les travaux d'un stage de niveau master 1: tests complémentaires d'inclusivité et exclusivité sur 27 souches cibles et 124 souches non cibles dont 108 en provenance de la CFBP (Collection Française des Bactéries associées aux Plantes) (300 PCR) ; 27 tests d'hypersensibilité sur tabac; tests de pouvoir pathogène avec 27

souches dont mise au point avec 4 méthodes d'inoculation sur plantes de maïs (soit 320 inoculations) ; 50 tests de gènes de ménage *leuS* et *recA* pour positionnement phylogénétique
- Caractérisation de la PCR Robene et al. (2020) d'identification de *Xanthomonas citri* pv. *citri* : 100 réactions PCR.

En recherche,

- Analyses MLVA de diversité génétique de *Xylella fastidiosa* sur 72 échantillons d'Occitanie avec 13 VNTR (Variable Number Tandem Repeat), soit 600 PCR.
- le projet AMI DigiDiag a permis la comparaison de 4 appareils de PCR digitale (Stilla, Qiagen, ThermoFisher et Bio-Rad) sur un panel commun ou spécifique aux 9 laboratoires Anses plus de 500 analyses (travaux réalisés dans le cadre d'un workshop au LSV Angers impliquant 18 participants)

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) : 2

organisés par le LRUE, l'un sur la détection de *Xylella fastidiosa* sur extraits végétaux par PCR en temps réel et l'autre sur la détermination du phylotype d'isolats de *Ralstonia spp.* par PCR conventionnelle.

- 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

Oui

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

Contrôles positifs et négatifs

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

Extraits ADN, macérat végétal contaminé et/ou suspension bactérienne inactivé(es) en microtube ou fixée sur lame IF.

Nombre de lots produits dans l'année

17

Nombre d'unités distribuées au plan national

- 1 tube contenant 10 insectes vecteurs (*Philaneus spumarius*)
- 7 tubes de souches inactivées (*Xylella fastidiosa* ou *Clavibacter sepedonicus* ou *Ralstonia solanacearum*).
- 4 lames de souches inactivées (*Clavibacter sepedonicus* ou *Ralstonia solanacearum*).
- 5 tubes de macérats de pomme de terre dopés avec *Clavibacter sepedonicus* ou *Ralstonia solanacearum*).

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

La tendance est à la stabilité avec la fourniture de témoins positifs pour sérologie ou biologie moléculaire aux seuls laboratoires agréés. La fourniture de souches disponibles au LNR mais inscrites à la collection CIRM-CFBP est interdite.

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 a été régulièrement sollicité par la DGAI pour la relecture et le commentaire de référentiels régionaux ou internationaux (OEPP, IPPC) :

- Courrier de la DGAL à destination de pays tiers pour demander la levée des restrictions à l'import de semences d'apiacées liées à des contaminations à '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' (2 jours).
- Révision d'une norme de la série PM 4 "Production of healthy plants for planting" et PM 4/17 "Certification scheme for olive trees and rootstocks" (0,5 j)
- Projet de révision de la norme de la série PM 3 (Procédures phytosanitaires) PM 3/77 (2) Vegetable plants for planting under protected conditions - Inspection of places of production (1h)
- EPPO Standard PM 7/122(2) Guidelines for the organization of interlaboratory comparisons by plant pest diagnostic laboratories (0,5j)
- Nouveau protocole de diagnostic PM 7/New *Pectobacterium* and *Dickeya* spp. (0,5 j)
- Révision du protocole de diagnostic PM 7/065 *Xanthomonas fragariae* (1j)
- Première consultation sur le projet de norme internationale pour les mesures phytosanitaires (NIMP) "Projet d'amendements 2022 à la NIMP 5 (Glossaire des termes phytosanitaires) / Draft 2022 Amendments to ISPM 5 (Glossary of phytosanitary terms)" (1 jour)
- PM 7/23 *Xanthomonas phaseoli* pv. *dieffenbachiae* et PM 7/43 *Pseudomonas syringae* pv. *persicae* (1 j)

- Point 7.2.2 a) du Panel sur les mesures phytosanitaires de l'OEPP Paris du 5 au 7 octobre 2022: Document 22-27852REV mise à jour du document "Situation of *Ralstonia pseudosolanacearum* (EPPO A2) in the EPPO region" (0,5 j)
- Panel on Phytosanitary Measures for Potato : réunion du sous-groupe de travail du panel « pomme de terre » du 14/11/22 sur la révision de la norme PM 9-2 concernant *Clavibacter sepedonicus* (1 h)

L'équipe a contribué aux discussions sur les protocoles OEPP en bactériologie et en particulier la représentante dans le cadre du panel en distanciel (janvier, 5 jours), puis en présentiel à Vilnius (octobre, 6 jours). Les protocoles sur lesquels des retours de l'équipe ont été réalisés sont :

- Une nouvelle version du Diagnostic Protocol on *Xanthomonas phaseoli* pv. *dieffenbachiae* (avec unité RAPT, 1jour)
- Diagnostic Protocol PM 7/44 on *Xanthomonas citri* pv. *citri* and *Xanthomonas citri* pv. *aurantifolii* (avec unité RAPT, 1 jour)
- diagnostic protocol PM7/24 for *Xylella fastidiosa* (2 personnes de l'équipe sont dans le groupe rédactionnel: 5 jours)
- Erreur rédactionnelle sur le protocole PM7/042 (2) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (1 h)
- PM7/110 *Xanthomonas* spp sur tomate et piment (1 personne dans le groupe rédactionnel, 2 jours)
- Finalisation du protocole PM7/021 (3) sur *Ralstonia* spp. (1 personne dans le groupe rédactionnel ; 1 jour)

Un agent est membre du groupe rédactionnel du protocole DP25 *Xylella fastidiosa* de l'IPPC (1 jour)

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

Description de ces activités et estimation du temps consacré

Appui apporté aux autorités :

- Réponses régulières à des sollicitations du BEPT ou SRAI concernant des demandes d'analyse de différents organismes nuisibles dans le cadre d'export vers pays tiers (1 jour)
 - o Question sur la faisabilité d'analyse en vue de certification à l'export vers le Maroc de lots de semences de *Capsicum annuum* et de *Solanum lycopersicum* / *Clavibacter sepedonicus* sur semences (1h)
 - o Question sur la faisabilité d'analyse en vue de mesures d'urgence relatives à l'importation vers l'Azerbaïdjan de semences et plants de *Capsicum annuum* / *Ralstonia solanacearum* (1h)
- Participation au groupe de travail de surveillance de *Xylella fastidiosa* de la plateforme d'épidémiologie-vigilance végétale PESV dont co-animation du GT (1 agent ; 6 jours); participation aux sous-groupe sur l'optimisation du diagnostic (2 pers., 1 jour) et vecteurs (2 pers., 0,5 jour),
- Etude bibliographique sur *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* / olivier à destination d'un SRAI. (2 jours),
- Participations et présentations de travaux réalisés par BVO aux CROPSAV de Corse (2 agents ; 1 jour), Occitanie (2 agents ; 1 jour) et PACA (2 agents ; 1 jour). Visite de terrain en Occitanie par 2 agents (2 jours),

- Jumelage institutionnel avec l'Algérie « Appui à la mise en place d'une démarche qualité au sein des services de la protection des végétaux et des contrôles techniques » : accueil au laboratoire (3 jours).

En 2022, le laboratoire a réalisé plusieurs audits relatifs aux exigences européennes (règlements 2016/2031 et 2019/829 CE) pour le respect du confinement d'installations de quarantaine : 1 en présentiel (audit initial) et 2 documentaires (renouvellement ou extension). Total : 9 jours.

En période d'activité d'analyse, l'unité fournit à une fréquence hebdomadaire ou bimensuelle (en fonction des fréquences d'obtention) des données de première et seconde intention sur *Xylella fastidiosa* à l'unité Anses-EAS Lyon en vue de l'enrichissement de la base de données R-Shiny/*Xylella*.

- Support technique et scientifique à l'unité RAPT du LSV dans le cadre de la formation du laboratoire de Nouvelle Calédonie au diagnostic bactériologique

Appui apporté aux professionnels :

- Semencier : question sur la faisabilité d'analyse de *Clavibacter sepedonicus* / semences de *Beta vulgaris* (1 h)

- Semencier : avis sur la méthode de détection de *Xylella fastidiosa* sur noix de pécan (0,5 j)

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

9 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

En concertation avec la DGAI et dans l'objectif de suivi de la compétence de laboratoires agréés, plusieurs lignes d'analyses ont fait l'objet de suivi en doublons dont l'ajout en 2022 du contrôle de 2 laboratoires sur des échantillons négatifs pour la détection de *Xylella fastidiosa*

Analyses en doublons réalisées par le LNR et le laboratoire agréé sur 3 lignes analytiques :

- *Xylella fastidiosa* sur végétaux de région Occitanie: 20 analyses (2 laboratoires)

- *Erwinia amylovora* sur végétaux symptomatiques: 15 analyses (2 laboratoires)

- *Ralstonia solanacearum* sur plantes adventices (ex : ortie, morelle et lycoper) : 28 analyses (un seul laboratoire concerné)

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 (70 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

- Formation au diagnostic bactériologique d'un agent de l'unité RAPT du LSV (4 jours)
- Formation INFOMA (Institut National de Formation des personnels du Ministère de l'Agriculture)
 - 01/06/2022 - Formation initiale des techniciens supérieurs du ministère de l'agriculture : Eléments de biologie, symptomatologie et d'analyses sur les bactéries phytopathogènes de quarantaine (1 j)
- Dans le cadre d'un jumelage Algérie – France, le LNR a délivré une formation théorique de détection des bactéries phytopathogènes (ex : *Xylella fastidiosa*) aux agents de l'INPV et du CNCC (5 jours).

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

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
AMI Pathobiome	Analyse du pathobiome dans les denrées alimentaires végétales	terminé
Euphresco 2020-A352	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> on bean and soybean : engaging the old enemy	en cours
Euphresco Phylib III 2019-F-310	The biology and epidemiology of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' and potato phytoplasmas and their contribution to risk management in potato and other crops	terminé
AMI DIGIDIAG	L'utilisation de la PCR digitale pour une amélioration du diagnostic en santé végétale, santé animale, sécurité sanitaire des aliments et "One Health"	en cours
Euphresco 2021-A-383	<i>Xylophilus ampelinus</i> presence and accurate detection in nurseries and vineyards.	en cours
Euphresco 2018-A-275	Use of new diagnostic tools for detection of <i>Pantoea stewartii</i> subsp. <i>stewartii</i> from plant and seeds	en cours
Collaboration LSV-CBGP (Espagne-Madrid)	Recherche de souches hypermutantes au sein de l'espèce <i>Pseudomonas syringae</i>	en cours
Thèse Cifre	Evaluation de la diversité de <i>Ralstonia solanacearum</i> en France et des risques d'émergence du complexe d'espèces <i>Ralstonia</i> spp.	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

Pests on plants - Bacteria

Mandat détenu par : EURL consortium between Food and Consumer Product Safety Authority-National Reference Centre (The Netherlands) [leader], the Research Institute for Agriculture, Fisheries and Food (Belgium), the Research Centre for Plant Protection and Certification (Italy) and the National Institute of Biology (Slovenia).

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

Oui

Questions posées au LRUE par le LNR dans l'année

Future catégorisation de la bactérie *Acidovorax citrulli* au niveau européen ?

Points particuliers ou d'actualité sur l'année, à signaler

Le laboratoire a participé en septembre 2022 à la quatrième réunion des LNR du LRUE Bactériologie en présentiel à Wageningen (1 jour), organisée par le consortium NVWA (Pays Bas) - ILVO (Belgique) - CREA (Italie) - NIB (Slovénie) en septembre 2022, suivi d'un workshop de comparaison du milieu de culture sélectif SMSA des *Ralstonia* spp. préparé par tous les LNR (0,5 jour). Présentation des travaux d'optimisation et validation de la future version 6 de la méthode officielle française MA039 de détection de *Xylella fastidiosa* sur végétaux et du retour d'expérience d'utilisation de la PCR tetraplex Dupas et al. (2019) pour détermination de la sous-espèce sur 150 échantillons de surveillance. Une personne du laboratoire a participé à une formation du LRUE au barcoding et analyses de séquences en mai 2022.

11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international**Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences**

Aucun

ANNEXE 1

2019/2072CE Annexe II partie A : organismes de quarantaine dont la présence n'est pas connue sur le territoire de l'Union modifié par le Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 de la Commission du 14 décembre 2021	
1	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> (Hedges) Collins & Jones
2	<i>Pantoea stewartii</i> subsp. <i>stewartii</i> (Smith) Mergaert, Verdonck & Kersters
2019/2072CE Annexe II partie B : organismes de quarantaine dont la présence est connue sur le territoire de l'Union modifié par le Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 de la Commission du 14 décembre 2021	
1	<i>Clavibacter sepedonicus</i> (Spieckermann & Kottho) Nouioui <i>et al.</i>
2	<i>Ralstonia solanacearum</i> (Smith) Yabuuchi <i>et al.</i> Emend. Safni <i>et al.</i>
3	<i>Xylella fastidiosa</i> (Wells <i>et al.</i>) : Organisme de quarantaine prioritaire (OQP)
2019/2072CE Annexe III : Liste des zones protégées et des organismes de quarantaine de zone protégée correspondants modifié par le Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 de la Commission du 14 décembre 2021	
1	<i>Erwinia amylovora</i> (Burrill) Winslow <i>et al.</i> : France (Corse)
2019/2072CE Annexe IV : Liste des organismes réglementés non de quarantaine de l'Union (ORNQ) et des végétaux spécifiques destinés à la plantation, assortie de catégories et de seuils, telle que visée à l'article 5 (seuils à 0%) modifié par le Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 de la Commission du 14 décembre 2021	
1	<i>Clavibacter insidiosus</i> (McCulloch 1925) Davis <i>et al.</i> sur semences de <i>Medicago sativa</i> L.
2	<i>Xylophilus ampelinus</i> Willems <i>et al.</i> sur matériel de multiplication de <i>Vitis</i> L.
3	<i>Erwinia amylovora</i> (Burrill) Winslow <i>et al.</i> sur végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences <i>Amelanchier Medik.</i> , <i>Chaenomeles Lindl.</i> , <i>Cotoneaster Medik.</i> , <i>Crataegus Tourn. ex L.</i> , <i>Cydonia Mill.</i> , <i>Eriobrya Lindl.</i> , <i>Malus Mill.</i> , <i>Mespilus Bosc ex Spach</i> , <i>Photinia davidiana Decne.</i> , <i>Pyracantha M. Roem.</i> , <i>Pyrus L.</i> , <i>Sorbus L.</i>
4	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>persicae</i> (Prunier, Luisetti & Gardan) Young, Dye & Wilkie sur végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch, <i>Prunus salicina</i> Lindl.
5	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>pruni</i> (Smith) Vauterin <i>et al.</i> sur végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences <i>Prunus L.</i> , <i>Prunus amygladus</i> Batsch, <i>Prunus armeniaca L.</i> , <i>Prunus avium L.</i> , <i>Prunus cerasus L.</i> , <i>Prunus domestica L.</i> , <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch, <i>Prunus salicina</i> Lindley
6	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i> Jones <i>et al.</i> , <i>Xanthomonas gardneri</i> (ex Šutič) Jones <i>et al.</i> , <i>Xanthomonas perforans</i> Jones <i>et al.</i> ; <i>Xanthomonas vesicatoria</i> (ex Doidge) Vauterin <i>et al.</i> sur plants destinés à la plantation de <i>Capsicum annuum L.</i> et <i>Solanum lycopersicum L.</i>
7	<i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>michiganensis</i> (Smith) Davis <i>et al.</i> sur plants de <i>Solanum lycopersicum L.</i>
8	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Smith & Townsend) Conn sur plants de <i>Cydonia oblonga</i> Mill., <i>Juglans regia L.</i> , <i>Malus Mill.</i> , <i>Prunus armeniaca L.</i> , <i>Prunus avium L.</i> , <i>Prunus cerasus L.</i> , <i>Prunus domestica L.</i> , <i>Prunus dulcis</i> (Mill.) D. A. Webb, <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch, <i>Prunus salicina</i> Lindley, <i>Pyrus L.</i> , <i>Vaccinium L.</i>
9	<i>Agrobacterium spp.</i> Conn sur plants de <i>Rubus L.</i>
10	<i>Pseudomonas avellanae</i> Janse <i>et al.</i> sur plants de <i>Corylus avellana L.</i>
11	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> (Smith) Gardan <i>et al.</i> sur <i>Olea europaea L.</i>

12	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>morsprunorum</i> (Wormald) Young, Dye & Wilkie sur plants de <i>Prunus armeniaca</i> L., <i>Prunus avium</i> L., <i>Prunus cerasus</i> L., <i>Prunus domestica</i> L., <i>Prunus dulcis</i> (Mill.) D. A. Webb, <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch, <i>Prunus salicina</i> Lindley
13	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>persicae</i> (Prunier, Luisetti & Gardan) Young, Dye & Wilkie sur végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences de <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch, <i>Prunus salicina</i> Lindley
14	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> van Hall sur plants de <i>Cydonia oblonga</i> Mill., <i>Malus</i> Mill., <i>Pyrus</i> L., <i>Prunus armeniaca</i> L.
15	<i>Pseudomonas viridiflava</i> (Burkholder) Dowson sur <i>Prunus armeniaca</i> L.
16	<i>Rhodococcus fascians</i> Tilford sur plants de <i>Rubus</i> L.
17	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>corylina</i> (Miller, Bollen, Simmons, Gross & Barss) Vauterin, Hoste, Kersters & Swings sur plants de <i>Corylus avellana</i> L.
18	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>juglandis</i> (Pierce) Vauterin et al. sur plants de <i>Juglans regia</i> L.
19	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>fici</i> (Cavara) Dye sur plants de <i>Ficus carica</i> L.
20	<i>Xanthomonas fragariae</i> Kennedy & King sur végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences <i>Fragaria</i> L.
21	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>actinidiae</i> Takikawa, Serizawa, Ichikawa, Tsuyumu & Goto sur végétaux destinés à la plantation à l'exclusion des semences <i>Actinidia</i> Lindl
22	<i>Spiroplasma citri</i> Saglio et al. [SPIRCI] sur végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences <i>Citrus</i> L., <i>Citrus</i> L. hybrids, <i>Fortunella Swingle.</i> , <i>Fortunella Swingle.</i> hybrids, <i>Poncirus Raf.</i> , <i>Poncirus Raf.</i> Hybrids
23	<i>Spiroplasma citri</i> Saglio et al. [SPIRCI] sur végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences <i>Citrus</i> L., <i>Fortunella Swingle</i> , <i>Poncirus Raf.</i> et leurs hybrides
24	Candidatus <i>Phlomobacter fragariae</i> Zreik, Bové & Garnier [PHMBFR] sur <i>Fragaria</i> L.

ANNEXE 2

Liste des publications et communications 2022 dans le cadre du mandat de LNR « Autres bactéries »

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

Publications scientifiques nationales et internationales

- Giovani Baldissera, Boutigny Anne-Laure, Djelouah Khaled, Fox Adrian et D'Onghia Anna Maria. 2022. "Plant Health research collaboration in the Mediterranean region: case studies on citrus tristeza virus, tomato brown rugose fruit virus and *Xylella fastidiosa*." *Phytopathologia Mediterranea* 61 (3). <https://doi.org/10.36253/phyto-14085>.
- Cunty Amandine, Legendre Bruno, De Jerphanion Pauline, Dousset Christèle, Forveille Aurélie, Paillard Sandrine et Olivier Valérie. 2022. "Update of the *Xylella fastidiosa* outbreak in France: two new variants detected and a new region affected." *European Journal of Plant Pathology* 163 (2): 505-510.
- Dupas Enora, Durand Karine, Rieux Adrien, Briand Martial, Pruvost Olivier, Cunty Amandine, Denancé Nicolas, Donnadiéu Cécile, Legendre Bruno et Lopez-Roques Cecile. 2022. "Two bridgehead invasions of *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* in France." *bioRxiv* (preprint)

Communications nationales

- Cunty Amandine. 2022. "Apports de la PCR digitale en santé végétale." Oral Séminaire PFUE, Les plateformes d'épidémiologie, Paris.
- Cunty Amandine, Boutigny Anne-Laure, Legendre Bruno, Dupas Enora, De Jerphanion Pauline, Dousset Christèle, Forveille Aurélie, Paillard Sandrine et Olivier Valérie. 2022. "Situation in France of the quarantine plant bacterium *Xylella fastidiosa*." Oral Séminaire PFUE, Les plateformes d'épidémiologie, Paris.
- Cunty Amandine, Boutigny Anne-Laure, Legendre Bruno, Dupas Enora, De Jerphanion Pauline, Dousset Christèle, Forveille Aurélie, Paillard Sandrine, Olivier Valérie. 2022. "Situation in France of the quarantine plant bacterium *Xylella fastidiosa*." Oral Symposium phylodynamique, Paris.
- Quillévéré Anne, Ruger Charlotte et Olivier Valérie. 2022. "Les groupes de travail de la Plateforme ESV: l'exemple du GT *Xylella fastidiosa*." Oral Séminaire d'échanges Acta – Anses « Santé des végétaux », Paris.

Communications internationales

- Boutigny Anne-Laure, Paillard Sandrine, Hiaumet Magali, Dutrieux Cécile, Portier Perrine et Olivier Valérie. 2022. "Detection scheme of the European quarantine pathogen *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* in maize seeds." Poster 14th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Assise (Italie).
- Cunty Amandine, Boutigny Anne-Laure, Legendre Bruno, De Jerphanion Pauline, Dousset Christèle, Forveille Aurélie, Paillard Sandrine, Remenant Benoît et Olivier Valérie. 2022. "*Xylella fastidiosa* situation in France: two new variants detected and a new region contaminated." Oral 14th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Assise, Italie, 03-08 July.
- Luck Jo, Boutigny Anne-Laure et Giovanni Baldissera. 2022. "Diagnosis of *Xylella fastidiosa*: detection on dormant and on Mediterranean host plants. In International plant health research partnership to address global challenges." Oral International Plant Health Conference, Londres.
- Olivier Valérie. 2022. "Validation of the official analysis method for *Xylella fastidiosa* in France." Oral 4th EURL Workshop for Bacteria in plants., Wageningen, Netherlands, 14-15 September 2022.