



Rapport annuel d'activité, année 2024

Laboratoire National de Référence

Phytoplasmes sur toutes matrices

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, détection des 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

Les organismes nuisibles dans le cadre du mandat de LNR et relevant

- du Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 partie A : organismes de quarantaine non présents sur le territoire de l'Union et partie B : organismes de quarantaine présents sur le territoire de l'Union
- du Règlement d'exécution 2019/2072EC
- du Règlement d'exécution 2022/1941EC

Liste détaillée en annexe

Les faits marquants de l'année

Une nouvelle méthode d'analyse pour la détection de '*Candidatus Phytoplasma palmae*' a été publiée sur le site de l'Anses. A ce stade la méthode est à l'usage du LNR uniquement compte-tenu de la diminution importante en 2024 du nombre d'échantillons pour la surveillance en Guadeloupe.

Le LNR a participé à la surveillance du jaunissement mortel des palmiers dans les territoires d'outre-mer (Guadeloupe, Guyane, Martinique, La Réunion et Polynésie française). La maladie est pour l'instant limitée à la Guadeloupe.

Dans la poursuite des travaux sur le phytoplasme responsable de la Flavescence dorée de la vigne, une 2ème méthode de typage du phytoplasme a été caractérisée et validée. Cette méthode basée sur l'amplification en temps réel du gène VmpA permet de déterminer si le phytoplasme détecté peut-être transmis par *Scaphoideus titanus*, cicadelle vectrice sur vigne. Comme l'an passé, un laboratoire agréé a fait l'objet d'un suivi renforcé pendant la campagne de surveillance de la Flavescence dorée.

L'année a été marquée par les travaux conduits dans le cadre du projet financé FranceAgriMer PHYDEMO : validation d'une méthode spécifique de détection de '*Candidatus Phytoplasma phoenicum*' par PCR en temps réel et surveillance des phytoplasmes en vergers de *Prunus* français.

Abréviations

BN : Bois noir

FD : Flavescence dorée

LNR : laboratoire national de référence

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Détection par PCR en temps réel de '*Candidatus Phytoplasma palmae*' (groupe 16SrIV), responsable du jaunissement mortel du palmier dans la zone Caraïbes. La méthode MA074 (nouvelle méthode) a été publiée sur le site de l'Anses en décembre 2024.

Typage du phytoplasme de la FD sensu stricto : dans le cadre du projet Eupresco FLADOVIGILANT (terminé en 2023), trois méthodes de typage du phytoplasme de la FD permettant à la fois de distinguer ce phytoplasme des phytoplasmes du même groupe phylogénétique (16SrV) et de réaliser une traçabilité des contaminations ont été caractérisées via notamment l'exploitation des résultats de l'essai inter-laboratoire de validation organisé en 2022 par le LNR. La méthode basée sur l'amplification du gène VmpA a fait l'objet d'une validation complète en 2024. Les deux méthodes caractérisées (map et VmpA) seront proposées au ministère en charge de l'agriculture pour une mise en œuvre au cours de la campagne 2025.

Détection par PCR en temps réel de '*Candidatus Phytoplasma phoenicum*' : dans le cadre du projet FranceAgriMer PHYDEMO, une méthode de détection spécifique de '*Ca. P. phoenicum*' a fait l'objet d'une validation complète.

Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre
1 méthode(s)

Intitulé et brève description de chacune de ces méthodes

Détection par PCR en temps réel de '*Candidatus Phytoplasma palmae*' (groupe 16SrIV), responsable du jaunissement mortel du palmier dans la zone Caraïbes. (MA074) (nouvelle méthode)

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
184 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Au total, le LNR a effectué 184 analyses de première intention.

95% de ces analyses correspondent aux analyses réalisées dans le cadre de la surveillance des phytoplasmes responsables du jaunissement mortel du palmier à la Guadeloupe et dans les autres DROM. Le restant correspond à des demandes ponctuelles de détection d'autres phytoplasmes (ex : Maladie du Manioc en Guyane).

On observe une diminution cette année par rapport aux 3 dernières années liée au fait que le service de l'alimentation en Guadeloupe a décidé de limiter les demandes d'analyse pour la détection de '*Candidatus Phytoplasma palmae*' aux nouvelles zones contaminées.

3.2 Analyses officielles de seconde intention

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année
201 analyse(s)

Détail par type d'analyse de seconde intention

Le LNR a réalisé 200 analyses de seconde intention en 2024 pour la détection des phytoplasmes de la vigne (Flavescence dorée -FD et Bois noir -BN) sur demande des SRAL. Même si plus d'analyses ont été réalisées en 2024 (200) par rapport à 2023 (120), le nombre d'analyses de seconde intention tend à se stabiliser ces dernières années.

A noter une analyse d'identification de phytoplasmes sur arbre fruitier dans le cadre des activités de la quarantaine.

3.3 Autres analyses

Nombre estimé d'autres analyses (non officielles) réalisées dans l'année en lien avec le mandat de LNR
2900 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

40% de ces analyses correspondent aux analyses mises en œuvre dans le cadre du projet FranceAgrimer PHYDEMO avec les travaux de validation d'une méthode spécifique pour la détection de '*Candidatus Phytoplasma phoenicum*' et l'étude de la prévalence des phytoplasmes en vergers français de *Prunus*.

20% correspondent à la finalisation des travaux de validation entrepris les années précédentes (génotypage FD et '*Candidatus Phytoplasma palmae*').

Pour le suivi du réseau de laboratoires agréés pour la détection des phytoplasmes de la vigne, le laboratoire a réalisé environ 650 analyses (doublon FD, organisation de l'essai interlaboratoire d'aptitude FD).

Les autres analyses correspondent aux travaux nécessaires au maintien de compétences du LNR et aux analyses liées à l'assurance qualité.

Par rapport à l'année passée, l'ensemble de ces analyses a augmenté (+800) et est presque 3 fois plus importantes qu'en 2021.

3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année

Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

- National : 1 EILA 24FD : Détection des phytoplasmes de la vigne, groupes 16SrV (Flavescence dorée) et 16SrXII (Bois noir), par PCR en temps réel sur vigne selon la méthode ANSES/LSV/MA 006 version 3, organisé par le LNR.

- UE : 0

- International : 0

4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement

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)

Contrôle positif ou négatif

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

Extraits ADN de vigne ou lyophilisat de pétioles de vigne positive pour FD et/ou BN

Nombre de lots produits dans l'année

0

Nombre d'unités distribuées au plan national

0

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Cette activité est très irrégulière et fluctuante d'une année sur l'autre.

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, CEN, ISO...).**

Le LNR participe aux GT 'Dépérissage de la vigne', 'Veille sanitaire internationale' et 'Pear decline' de la plateforme d'épidémirosurveillance en santé des végétaux (2 jours).

Le LNR participe au GT PeMo scoring de l'EFSA dans le cadre du projet Horizon scanning (6 jours).

Le LNR contribue aux travaux du panel OEPP 'Diagnostic in virology and phytoplasmatology' par la relecture des protocoles proposées, la proposition à la révision de protocoles et la participation aux réunions du panel. Dans ce cadre-là, cette année, le LNR a été co-auteur pour la révision du PM7/133 (tous phytoplasmes) et auteur principal pour la révision du PM7/079 (FD) (14,5 jours).

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**

Les agents du LNR sont régulièrement sollicités par les services de l'état, les laboratoires agréés et plus largement par les divers acteurs des filières. Ces contacts sont assurés par mail ou téléphone.

Le LNR a participé à l'audit d'agrément 2019/829 pour un laboratoire. Cet audit visait une autorisation d'agrément pour la manipulation des organismes de quarantaine. Cet audit a été réalisé sur la base de consultation de documents (3 jours).

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
4 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

EILA 24FD : Détection des phytoplasmes de la vigne, groupes 16SrV (Flavescence dorée) et 16SrXII (Bois noir), par PCR en temps réel sur vigne selon la méthode ANSES/LSV/MA 006 version 3

L'EILA est-il réalisé sous accréditation (norme NF EN ISO/CEI 17043) ?
Non

Nombre de laboratoires participants
7 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants
4 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?
Oui

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément
0 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants
2 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants: français/étrangers
laboratoires français

Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**
1 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**
1 laboratoire(s) agréé(s)

Nature des écarts (limiter aux laboratoires agréés)
Défaut de sensibilité

(**) Au sens de la norme 17043

Gestion des écarts (limiter aux laboratoires agréés) : actions mises en œuvre pour l'identification des causes et définition des mesures correctives

L'EILA 24FD a mis en évidence un défaut de sensibilité pour la cible BN pour l'un des laboratoires. Des échanges techniques ont eu lieu avec le laboratoire agréé pour identifier la cause de l'écart. L'hypothèse la plus probable était une défaillance du thermocycleur utilisé. Suite à la réparation du thermocycleur et l'envoi d'un nouveau panel, la performance du laboratoire a été déclarée satisfaisante.

Suivi de décisions sur l'agrément

Sans impact

Evolution du réseau dans le temps

Réseau stable depuis plusieurs années avec maintien des performances.

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

Le LNR reçoit des échantillons en doublon pour la détection des phytoplasmes de la vigne (FD/BN). Etant donné la difficulté d'organiser un EILA sur l'ensemble du processus analytique du fait de la nature biologique des phytoplasmes et de l'utilisation de méthodes alternatives par certains laboratoires du réseau, depuis 2023, le LNR réalise, à l'aide des doublons, le suivi rapproché d'un des laboratoires du réseau par campagne. Le laboratoire en suivi rapproché est sélectionné en fonction d'observations potentielles de dérives au cours de la campagne précédente ou lors d'un EILA et, une rotation est prévue entre les différents laboratoires du réseau. En 2024, le laboratoire qui avait présenté un écart lors de l'EILA 24FD a fait l'objet de ce suivi avec 129 échantillons analysés en commun. Les résultats de ces analyses montrent que la performance du laboratoire est satisfaisante.

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

Réunion annuelle des laboratoires officiels en santé des végétaux – 4 laboratoires 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

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
France Agrimer PHYDEMO	Les phytoplasmes des arbres fruitiers : Détection, Epidémiologie et moyens de lutte.	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 par l'Anses d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

Existence d'un LRUE hors Anses 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 Consortium Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority (NVWA - Pays Bas), National Institute of Biology (NIB - Slovénie) et Research Centre for Plant (CREA - Italie)

Le LNR a participé à l'atelier 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

Aucune

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

Le LNR a fait part au LRUE d'une problématique concernant la difficulté de différencier '*Candidatus Phytoplasma pyri*' (ORNQ) du Peach Yellow leaf roll (PYLR) (OQ) alors que d'après les éléments scientifiques disponibles à l'heure actuelle et les règles qui régissent la taxonomie des phytoplasmes, il semble que le PYLR et '*Ca. P. pyri*' soient un seul et même phytoplasme. La problématique étant qu'il ne semble pas y avoir de méthode permettant de les distinguer.

11. Détection d'autres mandats de référence au niveau international

Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences

Aucun

ANNEXES

Listes des organismes nuisibles dans le cadre du mandat de LNR « Phytoplasmes sur toutes matrices »

Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 partie A : organismes de quarantaine non présents sur le territoire Européen	
N°	Organisme
12.	<p>Phytoplasmes responsables de la jaunisse létale des palmiers [PHYP56]:</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Candidatus Phytoplasma cocostanzania</i> – sous-groupe 16SrIV-C - <i>Candidatus Phytoplasma palmae</i> – sous-groupes 16SrIV-A, 16SrIV-B, 16SrIV-D, 16SrIV-E, 16SrIV-F - <i>Candidatus Phytoplasma palmicola</i> – 16SrXXII-A - Souche liée à <i>Candidatus Phytoplasma palmicola</i> – 16SrXXII-B - Nouveau <i>Candidatus Phytoplasma</i> du groupe 16SrIV responsable de la jaunisse létale des palmiers – «syndrome de Bogia»
22.	<p>Phytoplasmes de <i>Cydonia</i> Mill., de <i>Fragaria</i> L., de <i>Malus</i> Mill., de <i>Prunus</i> L., de <i>Pyrus</i> L., de <i>Ribes</i> L., de <i>Rubus</i> L. et de <i>Vitis</i> L.:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Buckland valley grapevine yellows phytoplasma [PHYP77] - Souches liées à <i>Candidatus Phytoplasma aurantifolia</i> (Pear decline Taiwan II, Crotalaria witches'broom phytoplasma, Sweet potato little leaf phytoplasma [PHYP39]) - <i>Candidatus Phytoplasma australiense</i> Davis et al. [PHYPAU] (souche de référence) - <i>Candidatus Phytoplasma fraxini</i> (souche de référence) Griffiths et al. [PHYPFR] - <i>Candidatus Phytoplasma hispanicum</i> (souche de référence) Davis et al. [PHYP07] - <i>Candidatus Phytoplasma phoenicum</i> [PHYPPH] - souche liée à <i>Candidatus Phytoplasma pruni</i> (North American grapevine yellows, NAGYIII) Davis et al. - souche liée à <i>Candidatus Phytoplasma pyri</i> (Peach yellow leaf roll) Norton et al. - <i>Candidatus Phytoplasma ziziphi</i> (souche de référence) Jung et al. [PHYPZI]
23.	<p>Phytoplasmes de <i>Solanum tuberosum</i> L. et autres <i>Solanum</i> spp. à tubercules:</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Candidatus Phytoplasma americanum</i> - Souches liées à <i>Candidatus Phytoplasma aurantifolia</i> (GD32; St_JO_10, 14, 17; PPT-SA; Rus-343F; PPT-GTO29, -GTO30, -SINTV; Potato Huayao Survey 2; Potato hair sprouts) - Souches liées à <i>Candidatus Phytoplasma fragariae</i> (YN-169, YN-10G) - Souches liées à <i>Candidatus Phytoplasma pruni</i> (Clover yellow edge, Potato purple top Akpot7, MT117, Akpot6; PPT-COAH, -GTOP)
Règlement d'exécution (UE) 2021/2285 partie B : organismes de quarantaine présents sur le territoire Européen	
N°	Organisme
1.	Grapevine flavescence dorée phytoplasma [PHYP64]
2019/2072EC Annexe IV : organismes réglementés non de quarantaine de l'Union (ORNQ)	
<ul style="list-style-type: none"> - Partie C: ORNQ concernant les matériels de multiplication de la vigne - Partie D: ORNQ concernant les matériels de multiplication de plantes ornementales et d'autres végétaux destinés à la plantation à des fins ornementales - Partie G: ORNQ concernant les plants de pommes de terre - Partie J: ORNQ concernant les matériels de multiplication de fruits et les plantes fruitières destinées à la production de fruits 	

Partie	ORNQ ou symptômes causés par l'ORNQ	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences (genre ou espèce)
Partie C	<i>Candidatus Phytoplasma solani</i> Quaglino et al. [PHYPSO]	Vitis L.
Partie D	<i>Candidatus Phytoplasma mali</i> Seemüller & Schneider [PHYPMA]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Malus Mill.
	<i>Candidatus Phytoplasma prunorum</i> Seemüller & Schneider [PHYPPR]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Prunus L.
	<i>Candidatus Phytoplasma pyri</i> Schneider [PHYPPY]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Pyrus L.
	<i>Candidatus Phytoplasma solani</i> Quaglino et al. [PHYPSO]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Lavandula L.
Partie G	<i>Candidatus Phytoplasma solani</i> Quaglino et al. [PHYPSO]	Solanum tuberosum L.
Partie J	<i>Candidatus Phytoplasma asteris</i> Lee et al. [PHYPAS]	Fragaria L., Vaccinium L.
	<i>Candidatus Phytoplasma australiense</i> Davis et al. [PHYPAU]	Fragaria L.
	<i>Candidatus Phytoplasma fragariae</i> Valiunas, Staniulis & Davis [PHYPFG]	Fragaria L.
	<i>Candidatus Phytoplasma mali</i> Seemüller & Schneider [PHYPMA]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Malus Mill.
	<i>Candidatus Phytoplasma pruni</i> [PHYPPN]	Fragaria L., Vaccinium L.
	<i>Candidatus Phytoplasma prunorum</i> Seemüller & Schneider [PHYPPR]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Prunus avium L., Prunus armeniaca L., Prunus cerasus L., Prunus domestica L., Prunus dulcis (Mill.) D. A. Webb, Prunus persica (L.) Batsch, Prunus salicina Lindley
	<i>Candidatus Phytoplasma pyri</i> [PHYPPY]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Pyrus L.
	<i>Candidatus Phytoplasma rubi</i> Malembic-Maher et al. [PHYPRU]	Rubus L.
	<i>Candidatus Phytoplasma solani</i> Quaglino et al. [PHYPSO]	Fragaria L., Vaccinium L.
	Cranberry false blossom phytoplasma [PHYPFB]	Vaccinium L.
	Strawberry multiplier disease phytoplasma [PHYP75]	Fragaria L.

Publications et communications 2024

dans le cadre du mandat « Phytoplasmes »

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

- Articles

Brans, Y., J. Castaing, R. Lothion, N. Formez, Silvia ten Have-Lopez, S. Ballion, N. Courthieu, Sandy Duperier, Marine Marjou, Aude Lusetti, L. Fito, M Loiseau et N. Sauvion. 2024. "Comprendre les maladies à phytoplasmes pour mieux surveiller et gérer les vergers - Projet PHYDEMO et travaux sur le Pear Decline." *Infos CTIFL* 402: 38-43.

- Communications internationales

Loiseau, M., P. Cousseau-Suhard, I. Renaudin, Z. Kogej Zwitter, N. Mehle, K. Zikeli, M. Maixner, S. Costanzo, L. Feretti, P. Sa-Pereira, E. Sousa, T. Wetzel, C. Debonneville, M. Della Bartola, J.-S. Bey, P. Salar, S. Malembic-Maher et X. Foissac. 2024. "Validation of methods for Flavescence dorée phytoplasma sensu stricto identification through Test Performance Studies." Oral Sixth European Bois noir workshop and first international Pro-AECOGY conference, Bordeaux, France, 2024-05-14. <https://hal.science/hal-04700053>.