

Comité d'experts spécialisé « Risques biologiques pour la santé des végétaux »

Procès-verbal de la réunion du « 09/07/2019 »

Considérant le décret n° 2012-745 du 9 mai 2012 relatif à la déclaration publique d'intérêts et à la transparence en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, ce procès-verbal retranscrit de manière synthétique les débats d'un collectif d'experts qui conduisent à l'adoption de conclusions. Ces conclusions fondent un avis de l'Anses sur une question de santé publique et de sécurité sanitaire, préalablement à une décision administrative.

Les avis de l'Anses sont publiés sur son site internet (www.anses.fr).

Etaient présent(e)s :

- Membres du comité d'experts spécialisé

Mmes BALESDENT, BINET, DESPREZ-LOUSTAU (Vice-Présidente), ROBIN
MM. BIONDI, CASTAGNONE, DESNEUX, ESCOBAR-GUTIERREZ, JACTEL, MAKOWSKI,
MONTY, NESME, STEYER, VERDIN, WETZEL

- Coordination scientifique de l'Anses

Mme TAYEH (le matin)
MM. GACHET, TASSUS

- Direction scientifique de la Santé des végétaux de l'Anses

M. REIGNAULT

Etaient excusé(e)s, parmi les membres du collectif d'experts :

Mmes DEBERDT, NAVAJAS
MM. GENTZBITTEL, LE BOURGEOIS (Président), VERHEGGEN

Présidence

Mme DESPREZ-LOUSTAU assure la présidence de la séance pour la journée.



1. ORDRE DU JOUR

Les expertises ayant fait l'objet d'une finalisation et d'une adoption des conclusions sont les suivantes :

1. Saisine relative à l'évaluation d'un outil de contrôle de traitement à la chaleur des emballages en bois dans le cadre de la norme NIMP15 (2018-SA-0245)
2. Saisine relative aux connaissances nécessaires à la gestion du risque des écorces sensibles au nématode du pin (2018-SA-0103)

2. GESTION DES RISQUES DE CONFLITS D'INTERETS

L'analyse des liens d'intérêts des membres du CES au regard de l'ordre du jour, effectuée en amont par l'Anses et le Président du CES, n'a mis en évidence aucun conflit d'intérêt.

En séance, le Président pose la question aux membres du CES concernant leurs éventuels liens d'intérêt au regard de l'ordre du jour. Aucun conflit d'intérêt potentiel nouveau n'est déclaré.

3. SYNTHÈSE DES DÉBATS, DÉTAIL ET EXPLICATION DES VOTES, Y COMPRIS LES POSITIONS DIVERGENTES

Point 1 : SAISINE RELATIVE À L'ÉVALUATION D'UN OUTIL DE CONTRÔLE DE TRAITEMENT À LA CHALEUR DES EMBALLAGES EN BOIS DANS LE CADRE DE LA NORME NIMP15 (2018-SA-0245)

Le président vérifie que le quorum est atteint avec 15 experts sur 20 ne présentant pas de risque de conflit d'intérêt.

Présentation du rapport final

Une présentation du rapport et de ses conclusions est réalisée en séance.

Les conclusions du rapport sont les suivantes :

S'inscrivant dans un contexte général de gestion durable des biens et services procurés par la forêt, la thématique de la recherche présentée dans le rapport est extrêmement importante. Le groupe de travail tient de plus à souligner l'intérêt de l'étude menée et du rapport fourni par le FCBA¹. Néanmoins, pour l'ensemble des experts du groupe, la méthode de diagnostic proposée n'est, à ce stade, pas suffisamment robuste pour pouvoir être utilisée dans un contrôle officiel. En outre, sur la base des résultats de l'étude et des connaissances scientifiques actuelles, rien ne permet d'affirmer qu'il sera un jour possible d'obtenir, avec l'outil de diagnostic proposé, des niveaux de fiabilité compatibles avec une utilisation pratique, que ce soit dans le cadre d'un contrôle phytosanitaire de bois entrant dans un territoire ou de la certification d'une entreprise appliquant le marquage conformément à la norme NIMP15. Le pourcentage de spectres classés correctement à l'aide de la spectroscopie proche infra-rouge (SPIR) (actuellement entre 65 et 80 % selon les conditions expérimentales testées) risque de surcroît de diminuer avec la diversité des cas de figures rencontrés dans la pratique (diversification des essences, des conditions de stockage, du matériel de mesures, etc.).

¹ FCBA : Institut Technologique Forêt Cellulose Bois-construction Ameublement



Ceci étant, si les recherches relatives à l'utilisation de la SPIR dans le cadre du contrôle du traitement NIMP15 venaient à être poursuivies, plusieurs aspects nécessiteraient d'être étudiés de manière plus approfondie en vue de tenter de réduire le pourcentage de classifications erronées. Trois objectifs pourraient notamment être visés :

- Objectif 1 : fournir les éléments de réponses aux questions soulevées concernant la répétabilité et la reproductibilité de la procédure proposée : l'impact de la présence de copeaux et de sciure, l'influence des modalités de forage et de l'humidité du bois, l'utilité de la zone spectrale dans le visible et la mesure aléatoire des échantillons ;
- Objectif 2 : approfondir l'analyse des données générées dans la présente étude, notamment via l'utilisation :
 - ✓ D'autres algorithmes d'analyse multivariée (e.g. Support Vector Machine, réseau de neurones) ;
 - ✓ D'autres schémas de validation, notamment la validation croisée en mettant dans le jeu de données de validation l'entièreté des spectres issus d'un même lot ou d'une même pièce de bois.
- Objectif 3 : réaliser des études expérimentales complémentaires en vue de préciser le potentiel de la méthodologie proposée :
 - ✓ Recherche des différences de composition chimique du bois potentiellement observables en SPIR entre du bois traité à 56 °C pendant 30 minutes et du bois non traité.

Discussion du CES

La question de l'audition du FCBA est abordée. En réponse, il est indiqué que l'outil a été présenté par le FCBA en décembre 2018 dans les locaux des services d'inspection phytosanitaire à l'aéroport de Roissy-Charles de Gaulle en présence du coordinateur scientifique Anses en charge de l'expertise et d'un expert rapporteur externe, ainsi que de personnels du ministère de l'agriculture. Le CES a demandé ce qui a conditionné l'utilisation de la SPIR pour vérifier la conformité de bois de palette à la norme NIMP15. Dans le rapport aucune justification du choix de la méthode de détection n'est présentée.

La proposition de qualifier le rapport du FCBA de « haute qualité » est jugée excessive par un expert qui propose de minorer l'appréciation de la qualité de l'étude, compte-tenu de certains points faibles méthodologiques. « Haute qualité » sera remplacé dans la conclusion du rapport par « l'intérêt de l'étude ». Il est toutefois rappelé que les rapporteurs ont jugé l'étude intéressante avec le croisement de nombreux facteurs.

Un autre expert pense que l'utilisation de la sciure aurait pu être intéressante afin de différencier les essences de bois et tester simplement le protocole. Le même expert s'interroge également sur l'influence de l'humidité sur le résultat de détection. Le choix de travailler sur la sciure n'a pas été fait par les expérimentateurs et concernant l'humidité une remarque a été formulée dans le rapport à ce sujet. Enfin, plusieurs remarques du CES portent sur la prise en compte des nombreuses incertitudes dans ce rapport et l'amélioration nécessaire de l'analyse des données. Il est répondu que les rapporteurs ont formulé dans la conclusion plusieurs objectifs afin que le travail soit amélioré dans ce sens.



Conclusions du CES

Le président du CES propose une étape formelle de validation avec délibération et vote. Il rappelle que chaque expert donne son avis et peut exprimer une position divergente. Les experts adoptent à l'unanimité les conclusions de l'expertise relative à l'évaluation d'un outil de contrôle de traitement à la chaleur des emballages en bois dans le cadre de la norme NIMP15.

Point 2 : SAISINE RELATIVE AUX CONNAISSANCES NECESSAIRES A LA GESTION DU RISQUE DES ECORCES SENSIBLES AU NEMATODE DU PIN (2018-SA-0103)

Le président vérifie que le quorum est atteint avec 15 experts sur 20 ne présentant pas de risque de conflit d'intérêt.

Présentation du rapport final (partie relative à la résistance et à la sensibilité des espèces hôtes au nématode du pin et, aux méthodes d'analyse)

Une présentation de l'avis et de ses conclusions est faite en séance.

Les conclusions de l'avis sont les suivantes :

- Compte tenu des dimensions de la larve L4 et de la nymphe, stades cruciaux pour le risque de transmission de la maladie car dotées d'une certaine longévité sans nécessité d'alimentation, il est fortement recommandé de vérifier que les cargaisons d'écorces ne contiennent pas de morceaux de bois (d'essences sensibles) de dimensions supérieures à 3 cm x 3 cm x 3 cm.
- En l'état actuel des connaissances, il n'existe pas d'espèce de pin implantée en Europe qui soit résistante à *Bursaphelenchus xylophilus*, même si certaines sont moins favorables à la multiplication de ce nématode. En cas de foyer, le risque de propagation de la maladie étant directement lié à la capacité de l'insecte vecteur à transmettre le nématode d'arbre en arbre, il est recommandé d'éliminer en priorité les essences sur lesquelles *Monochamus galloprovincialis* est capable d'effectuer son cycle biologique complet, c'est-à-dire celles appartenant avec certitude à la catégorie 5 (pin maritime, pin sylvestre, pin noir et pin radiata) et probablement celles de la catégorie 4 (pin d'Alep et pin taeda). Pour *Pinus pinea*, les données disponibles en péninsule ibérique amènent à conclure que le risque de dépérissement *in natura* est faible. Pour *Pinus taeda*, des incertitudes demeurent dans la littérature, à la fois vis-à-vis de la multiplication du nématode, de l'expression des symptômes de dépérissement et de la capacité de l'insecte à se nourrir et à se reproduire sur cette essence. En particulier, on ne peut exclure l'hypothèse que *P. taeda* joue le rôle de « porteur sain » de la maladie. Par analogie, il convient de rappeler que d'autres espèces de nématode du genre *Bursaphelenchus* (par exemple, *B. mucronatus*) sont fréquemment détectées dans les forêts de conifères en Europe sans déclencher de symptômes de flétrissement. Des études complémentaires sont nécessaires pour préciser ces différents aspects.
- En France, dans le cadre du plan de surveillance du territoire, deux méthodes d'analyse pour la détection de *B. xylophilus* (ANSES/LSV/MA020 et ANSES/LSV/MA051) ont été validées par l'unité de nématologie du Laboratoire de la



Santé des Végétaux de l'Anses puis officialisées par le Ministère en charge de l'Agriculture :

- ✓ La méthode d'analyse par identification morphologique et PCR conventionnelle (ANSES/LSV/MA051) est adaptée à la recherche de *B. xylophilus* par l'« extraction » de nématodes libres à partir de toutes matrices végétales (dont le terreau). Cependant, la partie « identification morphologique » de cette méthode nécessite une compétence particulière en taxonomie de ce groupe.
- ✓ En revanche, l'analyse par PCR temps réel (méthode de screening ANSES/LSV/MA020) n'a pas été testée et validée pour une matrice autre que le bois ou les insectes (risque de réactions croisées par exemple).
- La durée du cycle de vie de *B. xylophilus* est de 4 à 5 jours à 25°C. Aussi, une incubation de 14 jours à 25°C des échantillons de bois est préconisée avant analyse afin de favoriser la multiplication des nématodes éventuellement présents et ainsi d'optimiser leur détection.

L'incubation peut être évitée dans les cas où la réponse à l'analyse est urgente, par exemple dans le cas d'application de mesures d'urgence ou de palettes bloquées en douane. Pour cette raison, les emballages et bois contrôlés à l'import ne subissent pas l'étape d'incubation. Il en résulte cependant une diminution de la sensibilité de détection.

Discussion du CES

Une première remarque porte sur une demande de suppression dans la conclusion du terme « totalement » qui apporte de la confusion pour caractériser une résistance. L'adverbe « totalement » sera supprimé de la conclusion. Il est également fait remarquer que dans certains cas les essences sont dites « non sensibles » ou « résistantes ». Ces termes seront homogénéisés dans l'avis pour plus de clarté mais toutefois compte tenu des incertitudes, *Pinus taeda* sera maintenu à la fois dans la catégorie 3 des essences non sensibles et dans la catégorie 4 des essences de sensibilité intermédiaire.

Ensuite, il est noté l'absence de mention des essences de pin sensibles au nématode du pin, présentes au Japon. Il est répondu que l'insecte vecteur du nématode du pin présent au Japon n'est pas le même que celui décrit en Europe. Ceci explique que les essences japonaises ne sont pas mentionnées dans ce travail. En complément, il est indiqué que *P. taeda* est une essence présente au Japon et qu'elle est sensible au nématode du pin. Une autre remarque porte sur *Pinus canariensis* qui figure dans le tableau 8 et sa présence en Europe. Cette essence est présente dans les Îles Canaries mais les données de la littérature sont lacunaires et pas forcément homogènes. Il serait nécessaire d'avoir des études plus standardisées pour mieux caractériser la sensibilité de cette espèce au nématode du pin. Il est rappelé que le nématode du pin cause des symptômes en bouchant les canaux résinifères.

Concernant les méthodes d'analyse, en théorie, l'amplification d'un fragment d'ADN est suffisante pour détecter un nématode. Il est demandé s'il est prévu de faire évoluer la méthode de détection par PCR quantitative pour pouvoir mettre en évidence le nématode du pin dans du terreau. Il est répondu que l'Anses n'avait pas prévu de réaliser ce travail et qu'aucune raison objective ne justifiait de le faire car l'identification morphologique associée à la PCR atteignait un niveau de performance suffisant. Une autre question porte sur le risque que le résultat de l'identification par PCR soit différent de celui obtenu par identification morphologique. Le recul sur l'utilisation de la PCR n'est pas aussi important que celui de l'identification morphologique, la



combinaison des deux méthodes reste donc utile. Un expert signale l'existence de publications décrivant des méthodes de détection du nématode du pin par LAMP PCR. Ces méthodes semblent plus robustes vis-à-vis de la présence d'inhibiteurs de PCR que des méthodes classiques. De plus, les premiers tests des méthodes LAMP PCR sur le terrain sont prometteurs.

Conclusions du CES

Le président du CES propose une étape formelle de validation avec délibération et vote. Les experts adoptent à l'unanimité les conclusions de l'expertise relative aux écorces contaminées par le nématode du pin portant sur les mesures prophylactiques à mener.

La Vice-Présidente du CES
Marie-Laure Desprez-Loustau