



Rapport annuel d'activité, année 2023

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 Européen et partie B : organismes de quarantaine présents sur le territoire Européen
- Du Règlement d'exécution 2019/2072EC
- Du règlement d'exécution 2022/1941EC

Listes détaillées en annexe

Les faits marquants de l'année

- Suite à la première détection en Guadeloupe de '*Candidatus Phytoplasma palmae*', responsables de jaunissement mortel sur palmiers et cocotiers en 2021, l'année 2023 a été marquée par un flux constant d'analyses de routine pour la surveillance de cette maladie. La caractérisation de la méthode de détection spécifique de ce phytoplasme a été finalisée.
- L'année 2023 a également été marquée par de nombreux travaux sur le phytoplasme de la Flavescence dorée : publication de la méthode pour la détection des phytoplasmes de la vigne, travaux de caractérisation des méthodes de typage permettant de distinguer ce phytoplasme des autres phytoplasmes du groupe 16SrV dont la méthode *map*.
- Cette année, la campagne de surveillance de la Flavescence dorée a été marquée par le suivi renforcé d'un laboratoire agréé qui présentait une dérive lors du précédent bilan.
- Suite à l'apparition d'une maladie causant le dépérissement des plants de manioc en Guyane, le laboratoire a mis en évidence un phytoplasme apparenté à '*Candidatus Phytoplasma pruni*'.

Abréviations

BN : Bois noir

FD : Flavescence dorée

LNR : laboratoire national de référence

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Typage du phytoplasme de la FD *sensu stricto*.

Dans le cadre du projet Euphresco FLADOVIGILANT, 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 organisé en 2022. La méthode basée sur l'amplification du gène *map* a fait l'objet d'une validation complète au sens de la norme ISO 17025. La méthode sera proposée au ministère en charge de l'agriculture pour une mise en œuvre au cours de la campagne 2024. La validation d'une méthode basée sur l'amplification du gène *Vmp* est programmée pour la fin 2024.

Détection de '*Candidatus Phytoplasma palmae*' par PCR en temps réel (méthode interne). La méthode permet de détecter spécifiquement '*Candidatus Phytoplasma palmae*', phytoplasme du groupe 16SrIV présent dans la zone Caraïbes, responsable du jaunissement mortel du palmier sur plantes hôtes. Cette méthode de PCR en temps réel adaptée de Cordova et al. (2004) et ciblant la zone de l'ADN ribosomique 16S a été validée au sens de la norme ISO 17025. Une proposition de méthode officielle auprès du ministère en charge de l'agriculture est prévue en 2024.

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 des phytoplasmes du groupe 16SrV (Flavescence dorée) et du groupe 16SrXII (Bois noir) de la vigne - PCR triplex en temps réel (MA006 v3). Cette méthode a pour objet la détection des phytoplasmes des groupes 16SrV (Flavescence dorée) et 16SrXII (Bois noir) sur vigne. La présence de ces phytoplasmes est mise en évidence par un test de biologie moléculaire consistant en une extraction d'acides nucléiques suivie d'une PCR triplex en temps réel. La zone amplifiée correspond à une partie du gène map des phytoplasmes ciblés.

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

1 méthode(s)

Intitulé de chacune des méthodes transférées

Détection des phytoplasmes du groupe 16SrV (Flavescence dorée) et du groupe 16SrXII (Bois noir) de la vigne - PCR triplex en temps réel (MA006 v3)

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

653 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Au total, le LNR a effectué 653 analyses de première intention en 2023. 93% 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 augmentation ces dernières années liée à la découverte des premiers cas de jaunissement mortel du palmier à la Guadeloupe et au fait que pour l'instant, ces analyses ne sont pas déléguées.

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

120 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Le LNR a réalisé 120 analyses de confirmation en 2023 pour la détection des phytoplasmes de la vigne (Flavescence dorée -FD et Bois noir -BN) sur demande des SRAL. Aucun nouveau département n'ayant été mis en évidence cette année, le nombre de demandes est en diminution en comparaison de l'année passée. Il est également possible que des demandes de confirmation pour la campagne 2023 arrivent en début d'année 2024.

3.3 Autres analyses

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

2100 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

La moitié de ces analyses correspond aux travaux de validation de la méthode de détection de 'Candidatus Phytoplasma palmae' qui en 2023 se sont axées sur l'extraction des acides nucléiques sur matrices arécacées. Un quart des analyses de cette catégorie correspond aux travaux de validation des méthodes de typage du phytoplasme responsable de la Flavescence dorée de la vigne. Pour le suivi du réseau de laboratoires agréés pour la détection des phytoplasmes de la vigne, le laboratoire a réalisé environ 250 analyses en doublon. 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, ces analyses sont en diminution mais restent 2 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 : 0
- UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE) : 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 ...).

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

Le LNR participe au GT PeMo scoring de l'EFSA dans le cadre du projet Horizon scanning (10 jours).

Le LNR contribue aux travaux du panel OEPP 'Diagnostic in virology and phytoplasmology' par la relecture des protocoles proposées, la proposition à la révision de protocoles et la participation aux réunions du panel (6 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.

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

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

Le LNR reçoit des échantillons en doublon pour la détection des phytoplasmes de la vigne (FD/BN). Ces échantillons servent principalement à maintenir la compétence du LNR sur la phase d'extraction des acides nucléiques. Toutefois, en 2022, l'analyse de deux de ces échantillons avait permis de mettre en évidence un défaut de sensibilité dans un laboratoire agréé du réseau. L'analyse des causes a été faite en 2023. 105 échantillons ont été traités en doublons avec ce laboratoire (contre 14 en 2022) afin de vérifier l'efficacité des mesures correctives devant être mises en place. Les résultats de ces analyses sont en cours d'exploitation au moment de la rédaction de ce rapport.

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 (56 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
Euphresco FLADOVIGILANT 2020- A-344	A development of the efficient method for discriminating grapevine flavescence dorée sensu stricto from other phytoplasmas in the same group and study of potential correlation between 16SrV phytoplasmas isolates infecting grapevine and hazelnut plants.	terminé
France PHYDEMO	Agrimer 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 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 - 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 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

Questions posées au LRUE par le LNR dans l'année

Aucune

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

Aucun

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

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

Aucun

ANNEXES

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</i> Phytoplasma cocostanzania – sous-groupe 16SrIV-C - <i>Candidatus</i> Phytoplasma palmae – sous-groupes 16SrIV-A, 16SrIV-B, 16SrIV-D, 16SrIV-E, 16SrIV-F - <i>Candidatus</i> Phytoplasma palmicola – 16SrXXII-A - Souche liée à <i>Candidatus</i> Phytoplasma palmicola – 16SrXXII-B - Nouveau <i>Candidatus</i> Phytoplasma 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</i> Phytoplasma aurantifolia (Pear decline Taiwan II, Crotalaria witches'broom phytoplasma, Sweet potato little leaf phytoplasma [PHYP39]) - <i>Candidatus</i> Phytoplasma australiense Davis et al. [PHYPAU] (souche de référence) - <i>Candidatus</i> Phytoplasma fraxini (souche de référence) Griffiths et al. [PHYPPFR] - <i>Candidatus</i> Phytoplasma hispanicum (souche de référence) Davis et al. [PHYP07] - <i>Candidatus</i> Phytoplasma phoenicium [PHYPPH] - souche liée à <i>Candidatus</i> Phytoplasma pruni (North American grapevine yellows, NAGYIII) Davis et al. - souche liée à <i>Candidatus</i> Phytoplasma pyri (Peach yellow leaf roll) Norton et al. - <i>Candidatus</i> Phytoplasma ziziphi (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</i> Phytoplasma americanum - Souches liées à <i>Candidatus</i> Phytoplasma aurantifolia (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</i> Phytoplasma fragariae (YN-169, YN-10G) - Souches liées à <i>Candidatus</i> Phytoplasma pruni (Clover yellow edge, Potato purple top Akpot7, MT117, Akpot6; PPT-COAFP, -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</i> Phytoplasma solani Quaglino et al. [PHYPSO]	Vitis L.
Partie D	<i>Candidatus</i> Phytoplasma mali Seemüller & Schneider [PHYPMA]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Malus Mill.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma prunorum Seemüller & Schneider [PHYPPR]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Prunus L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma pyri Schneider [PHYPPY]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Pyrus L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma solani Quaglino et al. [PHYPSO]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Lavandula L.
Partie G	<i>Candidatus</i> Phytoplasma solani Quaglino et al. [PHYPSO]	Solanum tuberosum L.
Partie J	<i>Candidatus</i> Phytoplasma asteris Lee et al. [PHYPAS]	Fragaria L., Vaccinium L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma australiense Davis et al. [PHYPAU]	Fragaria L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma fragariae Valiunas, Staniulis & Davis [PHYPPFG]	Fragaria L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma mali Seemüller & Schneider [PHYPMA]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Malus Mill.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma pruni [PHYPPN]	Fragaria L., Vaccinium L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma prunorum 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</i> Phytoplasma pyri [PHYPPY]	Végétaux destinés à la plantation, à l'exclusion des semences Pyrus L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma rubi Malembic-Maher et al. [PHYPRU]	Rubus L.
	<i>Candidatus</i> Phytoplasma solani Quaglino et al. [PHYPSO]	Fragaria L., Vaccinium L.
	Cranberry false blossom phytoplasma [PHYPPFB]	Vaccinium L.
Strawberry multiplier disease phytoplasma [PHYP75]	Fragaria L.	

Liste des publications et communications 2023 dans le cadre du mandat « Phytoplasmes sur toutes matrices »

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

- **Publications destinées aux professionnels ou au grand public**

Brans, Y, S. Ballion, J. Castaing, C. Chamet, N. Courthieu, R. Lothion, A. Lusetti, N. Formez, L. Fito, E. Hostalnou, M. Loiseau, et N. Sauvion. 2023. "Les phytoplasmoses en vergers : de nombreux axes de recherche." *Phytoma* 766: 25-28.

- **Autres**

Bertaccini, A, Helza R, G. Strauss, M. Loiseau, L. Ferretti, E. Angelina, M. Dermastia, N. Mehle, M. Kube, B. Schneider, B. Duduk, E. Rekanovic, C. Marcone, et D. Delic. 2023. "Study on the diversity of phytoplasmas detected in European forests (PhyFor)." *Zenodo* 10.5281/zenodo.10069086

Mehle, N., Z. Kogej, M. Loiseau, X. Foissac, S. Malembic-Maher, M. Maixner, K. Zikeli, S. Costanzo, L. Ferretti, E. Sousa, F. Ochoa Corona, A. Espindola, M. J. Ribeiro, T. Wetzels, F. Quaglino, M. Tessitori, C. Debonneville, et E. Angelini. 2023. "Development of efficient methods and identification of barcodes for discriminating Grapevine flavescence dorée *sensu-stricto* from other related phytoplasmas and investigation of potential correlation between taxonomic identity and grapevine, alders and hazelnut plant hosts." *Zenodo* 10.5281/zenodo.10060858