



Rapport annuel d'activité, année 2023

Laboratoire National de Référence

Toutes bactéries excepté les bactéries sur bananier, agrumes et plantes tropicales et les bactéries réglementées non de quarantaine sur semences vraies (sauf *Clavibacter michiganensis* subsp *insidiosus*)

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 et 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

Les directives européennes ciblant la détection de *Clavibacter sepedonicus* 2006/52 CE et de *Ralstonia solanacearum* 2006/63 CE ont été abrogées le 31/12/2021 mais les arrêtés français de leurs applications sont toujours en vigueur. De nouveaux règlements d'exécution de la Commission Européenne ont été publiés le 11 juillet 2022 :

- (UE) 2022/1194 établissant des mesures destinées à éradiquer *Clavibacter sepedonicus* (Spieckermann & Kotthoff 1914) Nouioui *et al.* 2018 et à prévenir sa propagation

- (UE) 2022/1193 établissant des mesures destinées à éradiquer *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Yabuuchi *et al.* 1996 emend. Safni *et al.* 2014 et à prévenir sa propagation.

Listes détaillées en annexe

Les faits marquants de l'année

- Les analyses de première et seconde intention ont globalement diminué en raison des récentes mesures de gestion de la surveillance du territoire (SORE), en particulier pour *Xylella fastidiosa*. Par contre, la tendance est au renforcement des contrôles sur *Ralstonia* spp., *Xanthomonas citri* pv. *citri*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* et *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*

- Dans le cadre de la coordination d'un projet Euphresco, l'unité a organisé un essai inter-laboratoires de validation d'analyse de détection de *Xylella fastidiosa* sur bois dormants. Ce projet qui a associé 15 laboratoires européens ou internationaux va permettre de valider un schéma de détection reconnu sur cette matrice.

- Notre participation à un EILV, puis un EILA organisés par le LRUE sur la détermination de la sous-espèce de Xf a permis de conforter l'utilisation en routine de notre méthode interne basée sur la PCR tetraplex (Dupas *et al.*, 2019).

- Dans le cadre d'un projet Euphresco et en partenariat avec le LRUE, le laboratoire participe à un projet sur *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* sur plants de haricot et sur semences.

- Suite aux changements en 2022 des règlements techniques UE 2022/1193 et 2022/1194 concernant *Clavibacter sepedonicus* et *Ralstonia* spp., nous avons engagé des travaux d'intégration de la PCR en temps réel dans les schémas de détection.

- Nous nous sommes positionnés sur 2 nouveaux projets Euphresco sur l'épidémiologie de RSSC en Europe et sur l'utilisation de la PCR digitale pour la détection de *Xylella fastidiosa*.

- A la suite de travaux de thèse menés au laboratoire sur *Xylella fastidiosa* (articles Dupas *et al.* 2022 ; Cuntly *et al.*, 2022) et en partenariat avec l'équipe Emersys de l'INRAe (Angers), des analyses génomiques ont été poursuivies dans l'unité. Une technique innovante d'enrichissement avant séquençage complet (Boutigny *et al.* 2023) permettra d'accéder directement aux génomes bactériens à partir d'échantillons de végétaux sans isolement de la souche.

- Toujours pour Xf, les analyses de diversité génétique et des routes d'invasion des souches françaises se sont poursuivies en particulier avec les échantillons de la région Occitanie.

- La thèse Cifre engagée en 2022 et financée par la Fédération des Producteurs de Plants de Pomme de terre s'est poursuivie 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.

- Le LNR s'est impliqué dans la formation avec l'accueil d'un étudiant en master en apprentissage, d'un étudiant grec en Erasmus+ pendant 4 mois, d'une doctorante espagnole pendant un mois, de deux scientifiques de notre homologue écossais (SASA) et d'un scientifique de notre homologue néerlandais (NIVIP).

- Deux nouvelles méthodes ont été développées ou révisées dans l'unité, une première méthode interne pour la détection de *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* et une 6^{ème} version de la méthode de détection de *Xylella fastidiosa* sur végétaux.

Abréviations

- DGAI = Direction Générale de l'Alimentation
- HTS = séquençage haut débit - LNR = Laboratoire National de Référence
- LRUE = Laboratoire de Référence de l'Union Européenne
- EILA : Essai Inter-Laboratoires d'Aptitude
- EILV : Essai Inter-Laboratoires de Validation
- EILT : Essai Inter-Laboratoires de Transfert
- RSSC : *Ralstonia solanacearum* species complex
- Xf : *Xylella fastidiosa*

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.

Préciser l'intitulé et donner une brève description de chacune de ces méthodes

- Sur la ligne de détection de *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* sur semences de maïs et végétal symptomatique, la PCR en temps réel Pal *et al.* (2019) (modifiée par le NIB) permettant de distinguer *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*, classé organisme de quarantaine en UE, de *Pantoea stewartii* subsp. *indologenes* présent dans la flore des semences a été validée en méthode interne. Dans le cadre de son application dans notre schéma de détection, le résultat positif par méthode de dépistage moléculaire est ensuite confirmé par isolement sur milieu et identification de la souche.
- Détection de *Xylella fastidiosa* par PCR en temps réel sur végétal (MA039 V6). Des modifications majeures ont été officialisées en février 2023 dans cette méthode sur végétaux. En particulier, nous avons intégré une nouvelle méthode d'extraction pour l'olivier et les chênes et la possibilité d'analyser les bois dormants

Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre

1 méthode(s)

Préciser l'intitulé et donner une brève description de chacune de ces méthodes

Détection de *Xylella fastidiosa* par PCR en temps réel sur végétal (MA039 V6)

Des modifications majeures ont été officialisées en février 2023 dans cette méthode sur végétaux. En particulier, nous avons intégré une nouvelle méthode d'extraction pour l'olivier et les chênes et la possibilité d'analyser les bois dormants

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

1 méthode(s)

Intitulé de chacune des méthodes transférées

Détection de *Xylella fastidiosa* par PCR en temps réel sur végétal (MA039 V6)

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

720 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Le LNR a réalisé 720 analyses de première intention (soit 62% de l'activité en analyses officielles). Les analyses sont globalement en baisse par rapport à 2022. 60% (444) des analyses et 75% (862) des échantillons sont des analyses de bactéries de quarantaine dont 382 sur les lignes RSSC sur effluents, adventices ou autres plantes hôtes et sur *Solanum* sp. avec la détection conjointe de *Clavibacter sepedonicus* ; les autres organismes de quarantaine analysés sont *Xanthomonas citri* pv. *citri* à l'import (23), *Xylella fastidiosa* sur des cas particuliers hors du réseau des laboratoires agréés (23), *Pantoea stewartii* pv. *stewartii* (import).

Notons qu'à la suite des travaux d'optimisation de la détection de *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* réalisés dans le cadre du projet H2020 Valitest, du partenariat avec le LRUE et du projet collaboratif Euphresco, la PCR Pal et al. (2019) (modifiée par le NIB) très spécifique de cette bactérie et validée en méthode interne en 2022, a été mise en application dans le schéma de détection sur semences de maïs en 2023.

En 2023, les analyses de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* sur végétaux et sur semences constituent une nouveauté pour notre laboratoire en lien avec le travail d'acquisition de compétences par le LRUE.

Hors quarantaine, les volumes d'analyse les plus importants restent la détection d'*Erwinia amylovora* sur végétaux asymptomatiques pour la délivrance de passeport phytosanitaire européen (PPE) (149), puis l'activité de diagnostic divers (36) en soutien aux acteurs de terrain publics ou privés et les analyses de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* sur kiwi (30) ou *Clavibacter insidiosus* (16).

Notons une demande en croissance d'identification « fine » (espèces, pathovar ou sous-espèce) de souches isolées par des laboratoires tiers dans le cadre de diagnostics généralistes (hors réseau des laboratoires agréés).

A noter également une demande d'analyse pour *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

533 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Le LNR a réalisé 533 analyses de seconde intention (39% de l'activité en analyses officielles). Après 2 années de fortes hausses, les analyses officielles de confirmation réalisées en 2023 rejoignent celles de 2020 (543) ou 2019 (404). Ces analyses ne concernent que des bactéries de quarantaine et en particulier *Xylella fastidiosa* ou *Ralstonia solanacearum*.

Sur 533 analyses, 274 sont des confirmations de résultats de détection positive de *Xylella fastidiosa* des laboratoires agréés par PCR en temps réel : 223 végétaux (méthode officielle MA039 V5 ou V6 sortie en février 2023) et 51 groupes de vecteurs (méthode officielle MA065 V1).

En 2023, ce nombre de confirmations a été en baisse en raison des nouvelles stratégies de gestion de la DGAI en Corse et en PACA (diminution des prélèvements sur foyers). Ainsi, la répartition des échantillons végétaux en 2023 entre les 3 régions positives a été la suivante : 8% pour la Corse (en stratégie d'enrayement), 12% pour PACA et 80% pour l'Occitanie.

Le LNR a également réalisé 172 analyses correspondant aux déterminations de sous-espèces de *Xylella fastidiosa* par PCR tetraplex Dupas et al. (2019) et/ou analyse MLST sur végétaux et 51 MLST sur vecteurs.

Il est à noter que notre schéma de détermination de sous-espèces a été conforté par un EILV, puis un EILA organisé par le LRUE en 2023. Le taux de réussite de la détermination de la sous-espèce en 2023 est de 94% sur végétaux (tetraplex Dupas ou MLST) et de 92% sur vecteurs (MLST). Enfin, 8 souches ont été isolées à partir de végétaux d'intérêt et conservées dans notre collection interne.

Sur *Ralstonia solanacearum*, les confirmations correspondent à des méthodes moléculaires de dépistage sur des échantillons positifs par immunofluorescence, des isolements et test biologique dans le but d'isoler la souche en présence.

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

Activité stable avec plus de 4500 analyses moléculaires, 134 isolements, 125 tests d'immunofluorescence et 10 tests de pouvoir pathogène.

En référence :

Méthodologie sur *Xylella fastidiosa* :

- Utilisation de la PCR digitale en détermination de sous-espèce : 166 réactions PCR.
- EILV (organisation LRUE, panel de 38 échantillons) de détermination des sous-espèces par PCR tetraplex Dupas set n°1 et set n°5 ; PCR Hodgett : 684 réactions PCR.
- Détermination des « sequence types » (ST) sur des échantillons d'intérêt de Corse (10), PACA (32) et Occitanie (47) (stage ERASMUS+) : 623 tests PCR
- Analyses de vecteurs autres que *Philaenus spumarius* : 90 réactions PCR
- Détection sur bois dormants : tests préliminaires à l'EILV (64 réactions PCR) ; EILV Euphresco : préparation des panels pour les 15 participants (panel de 10 échantillons) ; 200 tests d'homogénéité et stabilité des panels préparés (Master en alternance – Université de Montpellier). Participation à l'EILV : 684 réactions PCR.
- Essais d'optimisation de mise en culture sous atmosphère contrôlée pauvre en oxygène : 12 boîtes

Méthodologie sur RSSC :

- Travaux de validation de la PCR en temps réel Vreeburg : 132 tests d'inclusivité, 72 tests de détermination du séquevar, 50 tests de détermination du phylotype et 40 tests d'exclusivité ; 201 tests PCR de détermination du seuil de détection, 72 PCR pour comparer simplex et duplex ; 6 boîtes d'isolement. Vérification par immunofluorescence (41 souches cibles Rssc et 17 souches non cibles).
- Organisation d'un essai de performance des antisérums sur la détection des 4 phylotypes de RSSC avec les laboratoires agréés : 40 tests IF et 20 tests IF en participation (panel de 4 lames).
- Travaux d'appropriation de la ligne d'analyse *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* sur plantes de haricot symptomatiques : 60 tests d'isolements, 32 tests PCR spécifiques, 10 tests de pouvoir pathogène (organisation LRUE – panel de 4 échantillons)
- Travaux d'appropriation de la partie moléculaire de la ligne d'analyse de détection des bactéries du chancre citrique selon la méthode officielle MA068 : *Xanthomonas citri* pv. *citri* et

Xanthomonas citri pv. *aurantifolii*. Tests d'exclusivité/inclusivité : 565 tests PCR et 64 isolements ; seuil de détection : 481 réactions PCR et 4 boîtes d'isolement.

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.
- Organisation d'un EILV dans le cadre du projet AMI DigiDiag impliquant le test de trois panels de 15 échantillons (préparés par trois équipes) passés par 5 équipes possédant des appareils de PCR digitale dont le Qiacuity de Qiagen, l'Absolute Q de ThermoFisher et les QX200 et QX600 de Bio-Rad). Les résultats obtenus ont été discutés, entre autres, dans le cadre d'un workshop qui s'est tenu en novembre 2023 à Maisons Alfort (impliquant 18 participants).
- Collaboration avec le Centro de Biotecnología y Genómica de Planta (Espagne-Madrid) dans le cadre des travaux d'une thèse sur la recherche de souches hypermutantes au sein de l'espèce *Pseudomonas syringae*. La doctorante est venue durant 5 semaines travailler sur une partie de notre collection de souches, pour mettre en évidence la présence de souches hypermutantes en réalisant entre autres des tests de croissance des souches sur des milieux supplémentés d'antibiotiques.

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

Xylella fastidiosa : Recherche par amplification génomique (PCR temps réel) dans insecte selon MA065v1 organisé par le LSV LNR toutes bactéries phytopathogènes sauf exceptions

- UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE) : 1

Xylella fastidiosa : molecular subsp. determination organisé par le LRUE (NVWA)

- 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

Macérat végétal contaminé et/ou suspension bactérienne inactivé(es) en microtube

Nombre de lots produits dans l'année

6 lots

Nombre d'unités distribuées au plan national

- 3 tubes de souches inactivées (*Xylella fastidiosa* ou *Clavibacter sepedonicus* ou *Ralstonia solanacearum*).
- 3 tubes de macérats de pomme de terre dopés avec *Clavibacter sepedonicus* ou *Ralstonia solanacearum*).

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

La tendance est à la baisse pour 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) :

- Rédaction d'une note analysant l'impact de la mise en œuvre des nouveaux règlements UE (2022/1194 *Clavibacter sepedonicus* et 2022/1193 *Ralstonia solanacearum*) sur l'activité de LNR et sur le fonctionnement du réseau des laboratoires agréés (1 jour).
- Courrier et réunion avec la DGAL à destination de pays tiers (dont la Chine) pour demander la levée des restrictions à l'import de semences d'apiacées liées à des contaminations à 'Candidatus *Liberibacter solanacearum*' (3 jours).
- Avis sur les nouvelles normes OEPP PM 9/2 National regulatory control system for *Clavibacter sepedonicus* & PM 9/3 National regulatory control system for *Ralstonia solanacearum* (0,5 jour) - Avis sur "recipes of cultivation media" in EPPO Diagnostic Protocols (1h)
- Relecture d'un article scientifique international dans une revue à comité de lecture (1J)
- L'équipe a contribué aux discussions sur les protocoles OEPP en bactériologie. Les protocoles sur lesquels des retours de l'équipe ont été réalisés sont :

- o Révision du Diagnostic protocol PM 7/110 – protocole de diagnostic de *Xanthomonas* spp. sur solanacées - Finalisation à la suite du panel de 2022 (0,5 jour)
 - o Révision du projet de Diagnostic protocol PM7/24 (version 5) for *Xylella fastidiosa* (2 personnes de l'équipe sont dans le groupe rédactionnel + 1 personne dans le panel: 2 jours)
 - o Revue du projet de Diagnostic protocol PM 7/New *Pectobacterium* spp. and *Dickeya* spp. (0,5 jour)
 - o A la demande de l'OEPP, relecture du projet de rapport final Euphresco ISONEED (2 jours)
- L'équipe a également contribué aux commentaires et discussions sur le protocole CIPV : IPPC diagnostic protocol on *Xylella fastidiosa* - EPPO regional comments. Avis de l'équipe sur les versions en consultation d'experts, puis de la région européenne/méditerranéenne sur le DP25 *Xylella fastidiosa* du CIPV (1 agent, 2 jours) et implication d'un agent en tant que membre du groupe rédactionnel du protocole DP25 et du groupe OEPP de synthèse des avis de la région européenne et méditerranéenne (1 agent, 2 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

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) dont organisation d'une mission en Tunisie pour 2024 (2 jours).
- Participation au groupe de travail de surveillance de *Xylella fastidiosa* de la plateforme d'épidémiologie-végétale PESV dont co-animation du GT (1 agent ; 6 jours ; participation 1 agent, 1,5 jours); participation au sous-groupe de surveillance vectorielle (2 pers., 2 jours),
- Participations de BVO aux CROPSAV d'Occitanie (2 agents ; 1 jour)
- Contributions (partage d'informations réciproque) aux réunions pentapartites avec les bureaux de la DGAI
- Avis sur consultation dans le cadre d'un groupe de travail de la Commission européenne sur la réglementation et déréglementation d'organismes nuisibles (1h)
- Sur demande DGAI, réponses et transmission à destination de laboratoires volontaires du protocole de détection moléculaire de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* sur kiwi sans symptôme dans le cadre d'un projet d'analyses d'autocontrôles. (1 jour)
- Réunion scientifique avec homologues espagnols sur *Draeculaphala robinsoni* (0,5 jour)
- Réponse à sollicitations concernant l'import (SPPSI/SDEIGIR/BGIR) (0,5 jour)

En 2023, 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 : 2 en présentiel (audit initial) et 3 documentaires (renouvellement ou extension). Total : 12 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.

Appui aux professionnels :

- Transmission d'éléments sur des analyses pour l'export de plants d'*Erwinia nigrifluens*, *Erwinia rubrifaciens* (*Brenneria nigrifluens* et *Brenneria rubrifaciens*).
- Eléments sur les possibilités d'analyses de semences concernant les bactéries suivantes : *Xanthomonas translucens* pv. *translucens* sur triticales et avoine ; *Xanthomonas axonopodis* pv. *alfalfae* sur luzerne
- Eléments pour expertise judiciaire sur plants de tomate

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

1 EILA

Nom de l'EILA

Détection de *Xylella fastidiosa* par PCR en temps réel sur insectes vecteurs

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

Non

Nombre de laboratoires participants

4 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

3 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 laboratoires) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

0 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s)

(**) Au sens de la norme 17043

Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s) agréé(s)

Evolution du réseau dans le temps

Stable

**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. Analyses en doublons réalisées par le LNR et le laboratoire agréé sur 2 lignes analytiques :

- *Erwinia amylovora* sur végétaux symptomatiques : 15 analyses (1 laboratoire, le second n'ayant pas reçu d'échantillons de routine).
- *Ralstonia solanacearum* sur plantes adventices (ex : morelle) : 17 analyses (un seul laboratoire concerné)

De plus, des actions du LNR ont répondu à des besoins de laboratoires :

- Suivi particulier d'un laboratoire effectué par le LNR suite à des non-conformités observées dans le cadre de confirmations d'analyse.

6.4 Formation, organisation d'ateliers

Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année

2 journée(s)

Détail de ces activités et nombre de participants par journée

- une demie journée d'échanges sur les alternatives aux EILA en santé des végétaux en visio-conférence (mars 2023)
- une journée d'échange LNR/laboratoires agréés en présentiel en juin (56 participants)

Nombre de sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels, organisées dans l'année

1 session(s) de formation

Détail de ces activités, durée moyenne des sessions et nombre de participants par session

- Formation aux nouvelles modalités de mise en œuvre de la version 6 de la MA039 par visio-conférence. Cette formation d'une demi-journée visait à l'organisation d'un EILT avant transfert de la nouvelle version de la méthode aux laboratoires agréés (2 jours).

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Sans objet

(**) Au sens de la norme 17043

6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)

Nombre d'EIL de validation (EILV) organisés par le LNR au cours de l'année

1 EILV

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

- Détection de *Xylella fastidiosa* sur bois dormant (15 laboratoires) – Euphresco. Résultats en cours d'analyse.

Nombre d'EIL de transfert (EILT) organisés par le LNR au cours de l'année

1 EILT

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

Détection de *Xylella fastidiosa* par PCR en temps réel sur végétaux selon la méthode MA039 version 06 ; 7 participants 100% conformes

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

Non

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)

Oui

Nombre de fiches émises dans Salsa dans l'année:

2 fiche(s)

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
Eupresco 2020-A352	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> on bean and soybean : engaging the old enemy	en cours
Eupresco Phylib III 2019-F-310	The biology and epidemiology of 'Candidatus <i>Liberibacter solanacearum</i> ' 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
Eupresco 2021-A-383	<i>Xylophilus ampelinus</i> presence and accurate detection in nurseries and vineyards.	en cours
Eupresco 2018-A-275	Use of new diagnostic tools for detection of <i>Pantoea stewartii</i> subsp. <i>stewartii</i> from plant and seeds	terminé
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
Eupresco 2022-A-406	Diagnosis of <i>Xylella fastidiosa</i> : detection on dormant plants, important for Mediterranean countries (Xf DORM)	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

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

Sans objet

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

Le laboratoire a participé en août 2023 à la cinquième réunion des LNR du LRUE Bactériologie en présentiel à Lyon (1 agent, 1 jour), organisée par le consortium NVWA (Pays Bas) - ILVO (Belgique) - CREA (Italie) - NIB (Slovénie). Cet événement a été délocalisé à Lyon pour permettre la participation le lendemain à la conférence EFSA sur *Xylella fastidiosa*, satellite de l'International Conference on Plant Pathology.

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

Aucun

ANNEXES

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 et al.
2	<i>Ralstonia solanacearum</i> (Smith) Yabuuchi et al. Emend. Safni et al.
3	<i>Xylella fastidiosa</i> (Wells et al.): 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 et al. : 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 et al. sur semences de <i>Medicago sativa</i> L.
2	<i>Xylophilus ampelinus</i> Willems et al. sur matériel de multiplication de <i>Vitis</i> L.
3	<i>Erwinia amylovora</i> (Burrill) Winslow et al. 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 et al. 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 et al., <i>Xanthomonas gardneri</i> (ex Šutič) Jones et al., <i>Xanthomonas perforans</i> Jones et al.; <i>Xanthomonas vesicatoria</i> (ex Doidge) Vauterin et al. 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 et al. sur plants de <i>Solanum lycopersicum L.</i>
8	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (Smith & Townsend) Conn sur plants de <i>Cydonia oblonga Mill.</i> , <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 et al. sur plants de <i>Corylus avellana L.</i>
11	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> (Smith) Gardan et al. 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 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

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.

Liste des publications et communications 2023 dans le cadre du mandat
« Toutes bactéries excepté les bactéries sur bananier, agrumes et plantes
tropicales et les bactéries réglementées non de quarantaine sur semences vraies
(sauf *Clavibacter michiganensis* subsp *insidiosus*) »

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

• **Publications scientifiques nationales ou internationales**

- Boutigny, A-L, B Remenant, B Legendre, V Beven, M Rolland, Y Blanchard, and A Cunty. 2023. "Direct Xylella fastidiosa whole genome sequencing from various plant species using targeted enrichment." Journal of Microbiological Methods 208: 106719.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mimet.2023.106719>.
- Dupas, E, K Durand, A Rieux, M Briand, O Pruvost, A Cunty, N Denancé, C Donnadiou, B Legendre, C Lopez-Roques, S Cesbron, V Ravigné, and M-A Jacques. 2023. "Suspensions of two bridgehead invasions of Xylella fastidiosa subsp. multiplex in France." Communications Biology 6 (1): 103.
<https://doi.org/10.1038/s42003-023-04499-6>.
- Giovani, B, A-L Boutigny, K Djelouah, A Fox, and A-M D'Onghia. 2023. "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): 525-530.
<https://doi.org/10.36253/phyto-14085>.
- Scortichini, M, M Saponari, G Loconsole, B Legendre, V Olivier, F Poliakoff, M Bergsma-Vlami, R Gottsberger, T Dreo, S Loreti, P Mueller, M. M. López, S Cesbron, A Cunty, B Landa, S Koenig, and J Van Vaerenbergh. 2023. "PM 7/24 (5) Xylella fastidiosa." EPPO Bulletin 53 (2): 205-276.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/epp.12923>.

• **Communications internationales**

- Boutigny, A-L, Q Pouderoux, C Tayeh, A Fraisse, J Aguayo, H Bergis, E Chaix, E Cherchame, P Kooh, S Perelle, K Romero, S Roussel, and B Remenant. 2023. "Pathobiome analysis in vegetables food products." Poster 12th International congress of plant pathology (ICPP), Lyon, France, 21/08/23 - 25/08/23.
- Boutigny, A-L, B Remenant, B Legendre, V Beven, M Rolland, Y Blanchard, and A Cunty. 2023. "Direct Xylella fastidiosa whole genome sequencing from plant using targeted enrichment." Poster 12th International Congress of Plant Pathology, Lyon, 2023/08/20/25.
- Cunty, A, S Paillard, C François, C Rivoal, G Cellier, A Chabirand, and V Olivier. 2023. "Missions of the Plant Health Laboratory as a National Reference Laboratory regarding the detection of Ralstonia solanacearum species complex." Poster 7th International Bacterial Wilt Symposium, Montevideo, Uruguay, 2023/03/19/24.
- Cunty, A, S Paillard, C François, C Rivoal, G Cellier, A Chabirand, and V Olivier. 2023. "Missions of the Plant Health Laboratory as a National Reference Laboratory regarding the detection of Ralstonia solanacearum species complex." Poster EAPR Pathology & Pests Section Meeting, Arras, 2023/09/03/6.
- De Jerphanion, P, A Quillévéré-Hamard, M Marjou, M-A Jacques, V Olivier, and M Strugarek. 2023. "Delimiting survey of X. fastidiosa subsp. multiplex: bringing together multidisciplinary

- expertise to support risk management." Oral 4th EFSA European conference on *Xylella fastidiosa*, Lyon, 2023/08/19/20.
- Forveille, A, E Dupas, M Le Gallo, V Olivier, and A Cunty. 2023. "Examples of application of droplet digital PCR in plant health." Poster 16th Plants Bacteria meeting, Aussois, 2023/03/20/24.
 - Foucher, J, I Serandat, N Valette, T Baldwin, C Andro, V Olivier, and V Grimault. 2023. "Validation of a new detection method of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on tomato seeds." Poster 16th Plants Bacteria meeting, Aussois, 2023/03/20/24.
 - Legendre, B, A Cunty, A Forveille, C Dousset, A-L Boutigny, C Rivoal, A Brunet, and V Olivier. 2023. "Current situation of *Xylella fastidiosa* in France." Poster 4th EFSA European conference on *Xylella fastidiosa*, Lyon, 2023/08/19/20.
 - Olivier, V, B Legendre, A Brunet, C Dousset, A Forveille, C Rüger, and A Cunty. 2023. "Update of the distribution of *Xylella fastidiosa* in plants and vectors in France." Poster 16th Plants Bacteria meeting, Aussois, 2023/03/20/24.
 - Paillard, S, A-L Boutigny, M Hiaumet, C Dutrieux, P Portier, and V Olivier. 2023. "Improved detection scheme for the quarantine pathogen *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* in maize." Poster 16th Plants Bacteria meeting, Aussois, 2023/03/20/24.
 - Sallen, A, V Leclerc V, S Paillard, P Reignault, A Cunty, and A-C Le Roux. 2023. "Evaluation of the phenotypic and genotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* in continental France and the risks for emergence of other species of the *Ralstonia* spp. complex." Poster EAPR Pathology & Pests Section Meeting, Arras, 2023/09/03/6.
 - Sallen, A, V Leclerc V, S Paillard, P Reignault, A Cunty, and A-C Le Roux. 2023. "Evaluation of the phenotypic and genotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* in continental France and the risks for emergence of other species of the *Ralstonia* spp. complex." Poster 7th International Bacterial Wilt Symposium, Montevideo, Uruguay, 2023/09/03/6.