

AVIS RAPIDE 03-2019

Objet :

**Evaluation de risque relative à la présence de
la bactérie *Xylella fastidiosa* en Belgique sur
des oliviers importés d'Espagne**

(SciCom 2019/04)

Avis rapide scientifique approuvé par le Comité scientifique le 10 avril 2019.

Mots-clés :

Xylella fastidiosa, évaluation du risque, mesures de gestion, plan de surveillance

Key terms:

Xylella fastidiosa, risk assessment, control measures, surveillance plan

Table des matières

Résumé	3
Summary	6
1. Termes de référence	8
1.1. Questions posées	8
1.2. Dispositions légales	8
1.3. Méthode	8
2. Définitions & Abréviations	8
3. Contexte	9
4. Réponses aux questions	13
4.1. Quel est le risque de dissémination de <i>X. fastidiosa</i> dans et autour de l'exploitation atteinte, compte tenu notamment de la faible concentration détectée sur les oliviers importés, du moment de l'introduction et des informations recueillies sur les vecteurs présents ?	13
4.2. Quel est le risque que <i>X. fastidiosa</i> se propage par l'intermédiaire des clients de l'exploitation atteinte via les oliviers du même lot que les arbres infectés, compte tenu du fait que <i>X. fastidiosa</i> n'a pas été détectée dans les arbres tracés, du moment de l'introduction et de la connaissance des vecteurs (éventuels) en Belgique ?	17
4.3. Les mesures de gestion mises en œuvre (par exemple, destruction des oliviers, pièges jaunes collants pour la capture des vecteurs) peuvent-elles servir de modèle pour les mesures à inclure dans le plan d'urgence dans l'éventualité d'une nouvelle introduction ?	17
4.4. Le Comité scientifique peut-il soutenir le plan de surveillance proposé par l'AFSCA au cours des deux prochaines saisons ? Plus spécifiquement, des avis sont demandés sur la méthode, sur la période idéale et sur la recherche des vecteurs (par exemple, méthode de capture, analyse moléculaire de toutes les cicadelles ou seulement des piqueurs-suceurs de sève brute, ou seulement de certaines espèces) et de la pertinence ou pas d'échantillonner des arbres haute tige sur pied	18
4.5. Quelle est la signification de la détection de <i>X. fastidiosa</i> avec des valeurs élevées de Ct (Cycle threshold) et quelles conclusions peut-on en tirer quant à la propagation possible de la bactérie compte tenu des autres résultats de la recherche (vecteurs, plantes dans l'environnement) ?	19
5. Incertitudes	19
6. Conclusions	20
7. Recommandations	20
Références	21
Membres du Comité scientifique	22
Conflit d'intérêts	22
Remerciements	22
Composition du groupe de travail	23
Cadre juridique	23
Disclaimer	23

Figures

Figure 1. Symptômes observés sur vigne (à gauche) et sur olivier (à droite) au niveau des végétaux infectés par <i>X. fastidiosa</i> . Source : EPPO Global Database (https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/photos)	10
Figure 2. Philène spumeuse (<i>Philaenus spumarius</i>). Source : Flickr (https://www.flickr.com/photos/overton_cat/2766563572)	11
Figure 3. Evolution de l'abondance des populations de philènes spumeuses (<i>Philaenus spumarius</i>), figure de gauche, et de cicadelles vertes (<i>Cicadella viridis</i>), figure de droite, en Belgique au cours de l'année. Source : projet de recherche « RT 15/7 XYLERIS : Fitness of <i>Xylella fastidiosa</i> in plant hosts and vectors in Belgium with investigation of specific plant growth conditions on disease development » (sur base d'observations de terrain, de données issues de l'Institut royal des Sciences naturelles de Belgique et de données issues du réseau d'observations 'Observations.be').	16

Résumé

Avis rapide 03-2019 du Comité scientifique institué auprès de l'AFSCA concernant l'évaluation de risque relative à la présence de la bactérie *Xylella fastidiosa* en Belgique sur des oliviers importés d'Espagne.

Contexte et questions posées

Suite à la détection de *Xylella fastidiosa* sur des oliviers originaires d'Espagne à l'automne 2018, l'AFSCA et l'opérateur concerné ont pris des mesures de gestion pour en empêcher sa dissémination. Le Comité scientifique est chargé de répondre aux questions suivantes :

1. Quel est le risque de dissémination de *X. fastidiosa* dans et autour de l'exploitation atteinte, compte tenu de la faible concentration détectée sur les oliviers importés, du moment de l'introduction, des informations recueillies sur les vecteurs présents... ?
2. Quel est le risque que *X. fastidiosa* se propage par l'intermédiaire des clients de l'exploitation atteinte via les oliviers du même lot que les arbres infectés, compte tenu du fait que *X. fastidiosa* n'a pas été détectée dans les arbres tracés, du moment de l'introduction et de la connaissance des vecteurs (éventuels) en Belgique ?
3. Les mesures de gestion mises en œuvre (par exemple, destruction des oliviers, pièges jaunes collants pour la capture des vecteurs) peuvent-elles servir de modèle pour les mesures à inclure dans le plan d'urgence dans l'éventualité d'une nouvelle introduction ?
4. Le Comité scientifique peut-il soutenir le plan de surveillance proposé par l'AFSCA au cours des deux prochaines saisons ? Plus spécifiquement, des avis sont demandés sur la méthode, sur la période idéale et sur la recherche des vecteurs (par exemple, méthode de capture, analyse moléculaire de toutes les cicadelles ou seulement des piqueurs-suceurs de sève brute, ou seulement de certaines espèces) et de la pertinence ou pas d'échantillonner des arbres haute tige sur pied.
5. Quelle est la signification de la détection de *X. fastidiosa* avec des valeurs élevées de Ct (*Cycle threshold*) et quelles conclusions peut-on en tirer quant à la propagation possible de la bactérie compte tenu des autres résultats de la recherche (vecteurs, plantes dans l'environnement) ?

Méthode

L'avis est fondé sur : **(i)** l'évaluation, par les experts, du dossier technique élaboré par l'AFSCA, comprenant les résultats de l'enquête menée suite à la détection de *X. fastidiosa* en septembre 2018 en Belgique, la description des mesures de gestion mises en œuvre suite à cette détection et une proposition de plan de surveillance au cours des deux prochaines saisons, **(ii)** différentes références scientifiques ainsi que **(iii)** l'opinion des experts.

Réponses aux questions

1. Sur base des éléments listés ci-dessous, notamment le fait qu'un faible nombre d'oliviers présentaient un résultat positif pour *X. fastidiosa*, que ces résultats étaient légèrement supérieurs aux limites de détection (= valeurs de Ct élevées), qu'un traitement insecticide était régulièrement appliqué par l'opérateur concerné (= élimination des insectes vecteurs), que des mesures d'éradication ont été mises en œuvre et que la bactérie n'a pas pu être mise en évidence dans l'environnement immédiat de l'exploitation atteinte, le Comité scientifique estime que le risque de dissémination de *X. fastidiosa* dans et autour de l'exploitation atteinte est faible (incertitude modérée).
2. Sur base du fait que seuls 13 oliviers issus des trois lots positifs ont été vendus et, que 11 d'entre eux ont été retrouvés et étaient négatifs, le Comité scientifique estime que le risque de propagation de *X. fastidiosa* via les clients de l'exploitation atteinte est très faible (incertitude modérée).

3. Le Comité scientifique estime que les mesures de gestion mises en œuvre sont adéquates et qu'elles peuvent servir de modèle pour les mesures à inclure dans le plan d'urgence dans l'éventualité d'une nouvelle introduction de *X. fastidiosa* mais il suggère néanmoins quelques modifications, dont l'utilisation de filets fauchoirs pour l'échantillonnage des insectes à la place de l'utilisation de pièges chromatiques (plaques jaunes collantes).
4. Le Comité scientifique soutient le plan de surveillance proposé par l'AFSCA au cours des deux prochaines saisons, tout en proposant quelques adaptations dont notamment l'installation de polygales à feuilles de myrte (*Polygala myrtifolia*), espèce végétale très sensible à *X. fastidiosa*, dans l'exploitation atteinte comme plantes-pièges.
5. Le Comité scientifique est d'avis que les valeurs élevées de Ct observées dans le cas présent indiquent une présence latente de *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* dans les oliviers importés d'Espagne. Ceci suggère un faible niveau de présence sans réelle installation de la bactérie et, par conséquent, sans réelle manifestation clinique de la maladie.

Incertitudes

Les incertitudes dans cet avis sont celles inhérentes à une opinion d'experts. D'autres incertitudes concernent le fait que deux oliviers issus du premier lot positif n'ont pu être retrouvés et par conséquent testés, le fait que la sous-espèce de *X. fastidiosa* n'a pas pu être déterminée (faute d'une quantité suffisante d'ADN que pour permettre son séquençage) et, le fait que les résultats d'analyse étaient légèrement supérieurs aux limites de détection (= valeurs de Ct élevées) et qu'à ce niveau le risque de 'faux-positifs' est jugé significatif.

Conclusions

Sur base des éléments du dossier technique transmis par l'AFSCA, notamment les mesures d'éradication mises en œuvre, le Comité scientifique évalue le risque de dissémination de *X. fastidiosa* dans et autour de l'exploitation atteinte comme étant faible.

De plus, le Comité scientifique soutient le plan de surveillance proposé par l'AFSCA au cours des deux prochaines saisons, tout en proposant quelques adaptations.

Recommandations

Au sujet des mesures de gestion à mettre en œuvre en cas de nouvelle introduction de *X. fastidiosa*, le Comité scientifique recommande :

- d'identifier la sous-espèce afin d'affiner la gamme d'hôtes et, par conséquent, de réduire le nombre de végétaux à détruire,
- de considérer la zone de 200 m autour de l'exploitation atteinte comme zone d'inspection aussi bien pour les végétaux spécifiés que pour les insectes vecteurs,
- d'utiliser des filets fauchoirs pour l'échantillonnage des insectes plutôt que des pièges chromatiques (plaques jaunes collantes).

Au sujet du plan de surveillance au cours des deux prochaines saisons, le Comité scientifique recommande :

- de cibler les zones présentant une diversité végétale plus importante lors de la surveillance des végétaux spécifiés et des insectes vecteurs dans les environs immédiats de l'exploitation atteinte,
- de capturer les insectes dans la zone de 200 m autour de l'exploitation atteinte à l'aide de filets fauchoirs et via deux passages (mi-août et mi-septembre), et de rechercher la présence éventuelle de l'ADN de *X. fastidiosa* dans toutes les cicadelles et tous les insectes vecteurs piqueurs-suceurs de sève brute (connus et potentiels),
- d'installer des polygales à feuilles de myrte comme plantes-pièges dans l'exploitation atteinte et d'inspecter régulièrement celles-ci à la recherche d'éventuels symptômes.

Le Comité scientifique recommande de standardiser et valider davantage les méthodes de détection de *X. fastidiosa* afin que le risque de résultats faussement positifs soit minimisé. Le cycle seuil limite (*cycle cut-off*) et la limite de détection correspondante en nombre de copies de l'ADN cible devraient être déterminés. Sur base des connaissances actuelles, la valeur de 35 devrait être considérée comme cycle seuil limite.

Summary

Rapid advice 03-2019 of the Scientific Committee established at the FASFC on the risk assessment concerning the presence of the bacterium *Xylella fastidiosa* in Belgium on olive trees imported from Spain.

Background and asked questions

Following the detection of *Xylella fastidiosa* on olive trees originating from Spain in autumn 2018, the FASFC and the concerned operator have taken control measures to prevent its spread. The Scientific Committee has been requested to answer the following questions:

1. What is the risk of spreading of *X. fastidiosa* in and around the affected company, given its low concentration detected on imported olive trees, the time of introduction, the information collected about present vectors...?
2. What is the risk of spreading of *X. fastidiosa* through the affected company's customers via the olive trees from the same lot as the infected trees, given that *X. fastidiosa* was not detected in the traced trees, given the time of introduction and given the knowledge about (possible) vectors in Belgium?
3. Can the implemented control measures (e.g. destruction of olive trees, use of sticky yellow traps for vector capture) serve as a model for measures to be included in the contingency plan in the event of a new introduction?
4. Can the Scientific Committee support the surveillance plan proposed by the FASFC during the next two seasons? More specifically, advice is requested on the method, the ideal period and the search for vectors (e.g. capture method, molecular analysis of all leafhoppers or only xylem-feeding piercing-sucking insects, or only certain species) and the relevance or not of sampling standing tall trees.
5. What is the significance of the detection of *X. fastidiosa* with high Cycle threshold (Ct) values and what conclusions can be drawn about the possible spread of the bacterium in light of other research results (vectors, plants in the environment)?

Method

The advice is based **(i)** on the assessment by experts of the technical dossier prepared by the FASFC, containing the results of the survey carried out following the detection of *X. fastidiosa* in September in Belgium, the description of the implemented control measures following this detection and a proposal of surveillance plan for the following two seasons, **(ii)** on different scientific references as well as **(iii)** on expert opinion.

Answers to the questions

1. Based on the elements listed below, in particular the fact that a small number of olive trees had a positive result for *X. fastidiosa*, that these results were slightly higher than the detection limits (= high Ct-values), that insecticide treatment was regularly applied by the operator concerned (= elimination of insect vectors), that eradication measures were implemented and that the bacteria could not be detected in the immediate environment of the affected company, the Scientific Committee considers that the risk of *X. fastidiosa* spreading in and around the affected company is low (moderate uncertainty).
2. Based on the fact that only 13 olive trees from the three positive lots were sold whereof 11 were found back and were negative, the Scientific Committee considers that the risk of spreading *X. fastidiosa* via customers of the affected company is very low (moderate uncertainty).
3. The Scientific Committee considers that the implemented control measures are adequate and that they can serve as a model for the measures to be included in the emergency plan in the

event of a new introduction of *X. fastidiosa* but suggests some modifications, such as the use of sweep nets to sample insects instead of using chromatic traps (sticky yellow plates).

4. The Scientific Committee supports the surveillance plan proposed by the FASFC during the next two seasons, while proposing some adaptations including the installation of myrtle-leaf milkworts (*Polygala myrtifolia*) in the affected company as trap plant. This plant species is very sensitive to *X. fastidiosa*.
5. The Scientific Committee is of the opinion that the high Ct values observed in this case are indicative of a latent presence of *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* in olive trees imported from Spain. This suggests a low level of presence without adherence of the bacterium and, consequently, without any real clinical manifestation of the disease.

Uncertainties

The uncertainties in this advice are those inherent to an expert opinion. Other uncertainties deal with the fact that two olive trees from the first positive batch could not be found back and therefore tested, the fact that the subspecies of *X. fastidiosa* could not be determined (lack of DNA to allow sequencing) and the fact that the analytical results were slightly above the detection limits (= high Ct-values) and that at this level the risk of 'false-positives' is considered significant.

Conclusions

Based on the elements of the technical dossier transmitted by the FASFC, in particular the implemented eradication measures, the Scientific Committee assesses the risk of spreading of *X. fastidiosa* in and around the affected company as low.

In addition, the Scientific Committee supports the surveillance plan proposed by the FASFC during the next two seasons, but makes some recommendations.

Recommendations

Regarding the control measures to be implemented in case of a new introduction of *X. fastidiosa*, the Scientific Committee recommends:

- to identify the subspecies in order to refine the hostrange and, consequently, to reduce the number of plants to be destroyed,
- to consider the 200 m area around the affected company as an inspection area for both specified plants and vector insects,
- to use sweep nets to sample insects instead of chromatic traps (yellow sticky plates).

Regarding the proposed surveillance plan during the next two seasons, the Scientific Committee recommends:

- to target areas of greater plant diversity when monitoring specified plants and vector insects in the immediate vicinity of the affected company,
- to capture insects in the 200 m area around the affected company with sweep nets and on two occasions (mid-August and mid-September), and to search for the possible presence of DNA of *X. fastidiosa* in all leafhoppers and all (known and potential) xylem-feeding piercing-sucking vector insects,
- install myrtle-leaf milkworts as trap plants in the affected company and regularly inspect them searching for possible symptoms.

The Scientific Committee recommends further standardization and validation of *X. fastidiosa* detection methods so that the risk of false-positive results is minimized. The cycle cut off and the corresponding detection limit in number of copies of the target DNA should be determined. Based on the current knowledge, the value of 35 should be considered as the cycle cut off.

1. Termes de référence

1.1. Questions posées

Le Comité scientifique est chargé de répondre aux questions suivantes :

1. Quel est le risque de dissémination de *Xylella fastidiosa* dans et autour de l'exploitation atteinte, compte tenu de la faible concentration détectée sur les oliviers importés, du moment de l'introduction, des informations recueillies sur les vecteurs présents... ?
2. Quel est le risque que *X. fastidiosa* se propage par l'intermédiaire des clients de l'exploitation atteinte via les oliviers du même lot que les arbres infectés, compte tenu du fait que *X. fastidiosa* n'a pas été détectée dans les arbres tracés, du moment de l'introduction et de la connaissance des vecteurs (éventuels) en Belgique ?
3. Les mesures de gestion mises en œuvre (par exemple, destruction des oliviers, pièges jaunes collants pour la capture des vecteurs) peuvent-elles servir de modèle pour les mesures à inclure dans le plan d'urgence dans l'éventualité d'une nouvelle introduction ?
4. Le Comité scientifique peut-il soutenir le plan de surveillance proposé par l'AFSCA au cours des deux prochaines saisons ? Plus spécifiquement, des avis sont demandés sur la méthode, sur la période idéale et sur la recherche des vecteurs (par exemple, méthode de capture, analyse moléculaire de toutes les cicadelles ou seulement des piqueurs-suceurs de sève brute, ou seulement de certaines espèces) et de la pertinence ou pas d'échantillonner des arbres haute tige sur pied.
5. Quelle est la signification de la détection de *X. fastidiosa* avec des valeurs élevées de Ct (*Cycle threshold*) et quelles conclusions peut-on en tirer quant à la propagation possible de la bactérie compte tenu des autres résultats de la recherche (vecteurs, plantes dans l'environnement) ?

1.2. Dispositions légales

Directive 2000/29/CE du Conseil du 8 mai 2000 concernant les mesures de protection contre l'introduction dans la Communauté d'organismes nuisibles aux végétaux ou aux produits végétaux et contre leur propagation à l'intérieur de la Communauté.

Règlement (UE) 2016/2031 du Parlement européen et du Conseil du 26 octobre 2016 relatif aux mesures de protection contre les organismes nuisibles aux végétaux.

Décision d'exécution (UE) 2015/789 de la Commission du 18 mai 2015 relative à des mesures visant à éviter l'introduction et la propagation dans l'Union de *Xylella fastidiosa* (Wells et al.).

Arrêté royal du 10 août 2005 relatif à la lutte contre les organismes nuisibles aux végétaux et aux produits végétaux.

1.3. Méthode

L'avis est fondé sur l'évaluation, par les experts, du dossier technique élaboré par l'AFSCA, comprenant les résultats de l'enquête menée suite à la détection de *X. fastidiosa* en septembre 2018 en Belgique, les mesures de gestion mises en œuvre suite à cette détection et une proposition de plan de surveillance au cours des deux prochaines saisons, sur différentes références scientifiques ainsi que sur l'opinion des experts.

2. Définitions & Abréviations

AFSCA	Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire
-------	---

Ct	<i>Cycle threshold</i> (= seuil de cycles), ce qui correspond, dans le cadre d'une PCR quantitative en temps réel, au nombre minimal de cycles d'amplification du matériel génétique présent dans l'échantillon qui conduit à un signal de fluorescence significativement supérieur au bruit de fond (= détection du matériel génétique amplifié).
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i> (= Autorité européenne de sécurité des aliments)
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> (= dosage d'immunoabsorption par enzyme liée)
EPPO	<i>European and Mediterranean Plant Protection Organization</i>
LED	<i>Light emitting diode</i> (= diode électroluminescente)
OEPP	Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (= réaction en chaîne par polymérase)
SciCom	Comité scientifique institué auprès de l'Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire
Végétaux hôtes	Tous les végétaux destinés à la plantation, à l'exception des semences, appartenant aux genres ou espèces énumérés dans la base de données de la Commission répertoriant les végétaux hôtes sensibles à <i>Xylella fastidiosa</i> sur le territoire de l'Union (cf. https://ec.europa.eu/food/plant/plant_health_biosecurity/legislation/emergency_measures/xylella-fastidiosa/susceptible_en), qui se sont révélés sensibles à <i>X. fastidiosa</i> sur le territoire de l'Union ou qui se sont révélés sensibles à une ou à plusieurs sous-espèces de <i>X. fastidiosa</i> lorsqu'un État membre a délimité une zone en fonction uniquement d'une ou de plusieurs sous-espèces de <i>X. fastidiosa</i> .
Végétaux spécifiés	Les végétaux hôtes et tous les végétaux destinés à la plantation, à l'exception des semences, appartenant aux genres ou aux espèces énumérés à l'annexe I de la Décision d'exécution (UE) 2015/789, à savoir les végétaux dont la sensibilité aux isolats européens et non européens de <i>X. fastidiosa</i> est connue.
USA	<i>United States of America</i> (= États-Unis d'Amérique)

Vu les discussions menées durant la réunion du groupe de travail du 08/03/2019 et les séances plénières du Comité scientifique des 22/02/2019 et 22/03/2019, ainsi que l'approbation électronique définitive de l'avis rapide provisoire par les membres du Comité scientifique du 10/04/2019,

le Comité scientifique émet l'avis rapide suivant :

3. Contexte

Xylella fastidiosa (Wells et al.) est une bactérie phytopathogène responsable de nombreuses maladies des végétaux dont les conséquences économiques, sociales et environnementales peuvent être majeures. C'est la raison pour laquelle cette bactérie est réglementée à l'échelle européenne en tant qu'organisme nuisible de quarantaine (cf. Directive 2000/29/CE, Règlement (UE) 2016/2031 et Arrêté royal du 10 août 2005) : son introduction et sa dissémination sont interdites sur le territoire européen. Cette bactérie est connue depuis la fin du XIX^e siècle comme étant responsable de la maladie de Pierce chez la vigne (*Vitis vinifera*) aux USA, où elle a entraîné la destruction de dizaines de milliers d'hectares de vignobles dans le sud de la Californie. Dans le sud des USA, la bactérie infecte également différentes espèces du genre *Prunus* spp., telles que le pêcher (*P. persica*), l'amandier (*P. dulcis*), le prunier (*P. domestica*) et l'abricotier (*P. armeniaca*), sur lesquelles elle provoque des symptômes de type 'brûlures foliaires' pouvant aller jusqu'à la mort des végétaux atteints. En Amérique centrale et latine, la bactérie infecte aussi les caféiers (*Coffea* spp.). La bactérie entraîne également la chlorose panachée des agrumes, particulièrement chez l'oranger (*Citrus sinensis*), en Amérique du Sud, principalement au Brésil. En Europe, depuis la confirmation de sa présence dans le sud de l'Italie (sud de la région des Pouilles) en 2013, cette bactérie est responsable du syndrome du déclin rapide de l'olivier (*Olea europaea*) et a entraîné la mort de centaines de milliers d'oliviers, parfois pluri-centenaires. En Europe

également, la bactérie a été détectée ultérieurement dans le sud-est de la France continentale et en Corse principalement sur des polygales à feuilles de myrte (*Polygala myrtifolia*) ainsi qu'en Espagne, notamment dans les îles Baléares, principalement sur des amandiers, oliviers et vignes.

Outre les espèces végétales hôtes citées ci-dessus, il en existe de très nombreuses autres. La bactérie est en effet capable d'infecter plus de 300 espèces végétales appartenant à plus de 60 familles botaniques (EFSA, 2018). Par exemple, le laurier-rose (*Nerium oleander*), les chênes (*Quercus* spp.), le platane d'Occident (*Platanus occidentalis*), les érables (*Acer* spp.) et le romarin (*Rosmarinus officinalis*) sont également sensibles à la bactérie.

Au sein de l'espèce *X. fastidiosa*, quatre sous-espèces principales sont généralement reconnues : *X. f. subsp. fastidiosa*, *X. f. subsp. multiplex*, *X. f. subsp. pauca* et *X. f. subsp. sandyi*. Il en existerait cependant d'autres. Chacune de ces sous-espèces a plus ou moins sa propre zone de répartition et ses préférences en termes d'espèces végétales hôtes.

Au sein des végétaux infectés, *X. fastidiosa* se retrouve exclusivement au niveau du xylème, à savoir les vaisseaux transportant la sève brute (eau et sels minéraux) des racines aux feuilles. Les symptômes sont la conséquence d'une perturbation de cet approvisionnement en eau des feuilles et passent facilement pour des dégâts dus à la sécheresse (figure 1). Souvent, les feuilles présentent une coloration automnale avec dessèchement du bord de la feuille, souvent accompagnée d'une délimitation jaune, suivie d'un dessèchement de l'ensemble des feuilles et des branches, d'un retard de croissance et finalement d'un dessèchement de l'ensemble de la plante. Les symptômes sont plus ou moins prononcés selon l'espèce végétale atteinte, la sous-espèce de *X. fastidiosa* présente et les conditions environnementales. La bactérie est présente à la fois dans les organes aériens (feuilles, rameaux, fruits) et dans les racines. Les plus fortes concentrations bactériennes sont trouvées dans les pétioles et la nervure centrale des feuilles. Hormis en zone équatoriale, la concentration bactérienne dans les tissus évolue également en fonction des saisons (maximale en été et minimale en hiver dans l'hémisphère nord) et des conditions climatiques.



Figure 1. Symptômes observés sur vigne (à gauche) et sur olivier (à droite) au niveau des végétaux infectés par *X. fastidiosa*. Source : EPPO Global Database (<https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/photos>).

L'infection des végétaux et la dispersion de la maladie se fait principalement via certains insectes vecteurs piqueurs-suceurs se nourrissant de la sève brute du xylème. Ils appartiennent à l'ordre des hémiptères (*Hemiptera*). Il s'agit notamment de la philène spumeuse (*Philaenus spumarius*) de la famille des *Aphrophoridae*, de certaines cicadelles de la famille des *Cicadellidae* et de certaines cigales appartenant aux familles *Cicadidae* et *Tibicinidae*. Dans la région des Pouilles (Italie), le principal

vecteur de *X. fastidiosa* est la philène spumeuse (figure 2). Cet insecte est couramment observé dans toute l'Europe et par conséquent aussi en Belgique.



Figure 2. Philène spumeuse (*Philaenus spumarius*). Source : Flickr (https://www.flickr.com/photos/overton_cat/2766563572).

En septembre 2018, *X. fastidiosa* a été détectée pour la première fois en Belgique. Lors d'un contrôle officiel effectué par l'AFSCA, des symptômes de type 'brûlures foliaires' ont été détectés sur des oliviers présents chez un grossiste en végétaux situé dans la province de Flandre-Occidentale. Des échantillons ont été prélevés sur trois oliviers symptomatiques et les résultats d'analyse se sont révélés positifs. Il s'agissait d'un premier lot d'oliviers importés d'Espagne continentale (Elche, Alicante) en Belgique le 21/05/2018. Au cours de l'enquête, *X. fastidiosa* a également été détectée sur un lot (sur base d'un échantillon 'mélange') de douze oliviers asymptomatiques importés (= second lot) le 08/08/2018 à partir d'un autre fournisseur espagnol (Écija, Séville), sur un autre olivier symptomatique issu d'un troisième lot importé le 17/09/2018 et ayant pour origine le même fournisseur que le premier lot, ainsi que sur trois oliviers asymptomatiques issus de ce premier lot.

Après confirmation des résultats, tous les oliviers présentant un résultat positif ont été détruits le 28/09/2018. De plus, l'opérateur concerné a opté pour la destruction, le 28/09/2018 également, de tous les autres oliviers présents dans l'exploitation atteinte, bien que négatifs. Onze oliviers (dont dix avaient été achetés entre-temps par des particuliers), sur les treize oliviers vendus à partir du premier lot positif, ont pu être retrouvés et, bien que négatifs, ont été détruits également. Les deux autres oliviers n'ont pas pu être retrouvés. Aucun des oliviers appartenant aux deux autres lots diagnostiqués positifs n'avait été vendu. Ces oliviers étaient donc encore présents chez l'opérateur au moment de l'échantillonnage et, comme mentionné ci-dessus, ont été détruits directement après ce dernier. De la même façon, l'opérateur concerné a aussi opté pour la destruction, le 17/10/2018, de tous les autres végétaux spécifiés présents dans l'exploitation atteinte, plutôt que de les maintenir en quarantaine pendant au moins neuf mois.

Un aperçu chronologique des événements liés à cette détection de *X. fastidiosa*, dont certains sont discutés ci-après, est repris ci-dessous :

- 21/05/2018 :
 - o importation du 1^{er} lot positif (24 oliviers)
- 08/08/2018 :
 - o importation du 2^e lot positif (12 oliviers)
- 05/09/2018 :
 - o détection de symptômes sur 3 oliviers (issus du 1^{er} lot positif) lors d'un contrôle officiel effectué par l'AFSCA

- échantillonnage groupé de ces 3 oliviers
- 11/09/2018 :
 - détection de *X. fastidiosa* mais sans confirmation
- 17/09/2018 :
 - rééchantillonnage séparé de ces 3 oliviers
 - importation du 3^e lot positif (10 oliviers)
- 27/09/2018 :
 - détection confirmée de *X. fastidiosa* sur les 3 oliviers symptomatiques issus du 1^{er} lot positif
- 28/09/2018 :
 - blocage de l'exploitation
 - inspection + échantillonnage de tous les végétaux spécifiés présents (y compris les oliviers asymptomatiques issus du 1^{er} lot positif et, les 2^e et 3^e lots d'oliviers positifs)
 - destruction de tous les oliviers présents
- 02/10/2018 :
 - placement des 50 pièges chromatiques (plaques jaunes collantes) dans et autour de l'exploitation
- 04/10/2018 :
 - 1^{er} relevé des pièges + analyse : absence d'insecte vecteur + absence de *X. fastidiosa*
- 05/10/2018 :
 - détection confirmée de *X. fastidiosa* pour un lot de 12 oliviers asymptomatiques (= 2^e lot positif) et sur 1 olivier symptomatique issu du 3^e lot positif mais également sur 3 oliviers asymptomatiques issus du 1^{er} lot positif
- 14/10/2018 :
 - bien que négatifs, destruction des 11 oliviers qui ont pu être retrouvés sur les 13 vendus à partir du 1^{er} lot positif
- 15/10/2018 :
 - 2^e relevé des pièges + analyse : absence d'insecte vecteur + absence de *X. fastidiosa*
- 17/10/2018 :
 - bien que négatifs, destruction de tous les végétaux spécifiés présents
- 19/10/2018 :
 - déblocage de l'exploitation
- 25/10/2018 :
 - 3^e relevé des pièges + analyse : présence d'un spécimen de *Cicadella viridis* (insecte potentiellement vecteur) + absence de *X. fastidiosa*

Faute d'une quantité suffisante d'ADN bactérien, il n'a pas été possible de déterminer la sous-espèce de *X. fastidiosa* détectée dans les oliviers positifs (ni par séquençage du matériel génétique détecté, ni par la réalisation de tests moléculaires).

La Décision d'exécution (UE) 2015/789 prévoit une exception à l'établissement de zones délimitées et à l'application de mesures strictes d'éradication (enlèvement et destruction des végétaux spécifiés dans un rayon de 100 m autour des végétaux infectés, restrictions commerciales dans une zone de 5 km...) en cas d'introduction récente sans propagation de *X. fastidiosa* (cf. art. 4., paragraphe 6). Trois conditions doivent toutefois être remplies :

1. il apparaît que *X. fastidiosa* a été récemment introduite dans la zone avec les végétaux sur lesquels sa présence a été constatée, ou que la présence de *X. fastidiosa* a été constatée sur un site matériellement protégé contre les vecteurs de cet organisme;
2. tout indique que ces végétaux étaient infectés avant leur introduction dans la zone concernée;
3. aucun vecteur porteur de *X. fastidiosa* n'a été détecté à proximité de ces végétaux à partir des analyses pratiquées conformément à des méthodes d'analyse validées à l'échelon international.

La Décision d'exécution (UE) 2015/789 prévoit également (cf. art. 4., paragraphe 7) que, dans le cas visé ci-dessus, l'État membre concerné :

1. effectue une enquête annuelle pendant au moins deux ans pour déterminer si des végétaux autres que ceux sur lesquels la présence de *X. fastidiosa* a été constatée en premier lieu ont été infectés;
2. détermine, en fonction des résultats de cette enquête, s'il est nécessaire d'établir une zone délimitée;
3. notifie à la Commission et aux autres États membres les raisons pour lesquelles aucune zone délimitée n'a été établie et les résultats de l'enquête visée au point 1., dès qu'ils sont disponibles.

Le présent dossier vise, par conséquent, à évaluer le dossier technique élaboré par l'AFSCA dans le cadre de la Décision d'exécution (UE) 2015/789 et dont l'objectif est de démontrer qu'il n'est pas nécessaire, ni d'établir des zones délimitées, ni d'appliquer les mesures strictes d'éradication prévues par cette décision.

4. Réponses aux questions

4.1. Quel est le risque de dissémination de *X. fastidiosa* dans et autour de l'exploitation atteinte, compte tenu notamment de la faible concentration détectée sur les oliviers importés, du moment de l'introduction et des informations recueillies sur les vecteurs présents ?

Les éléments listés ci-dessous ont été mis à la disposition du Comité scientifique et ont servi à évaluer le risque de dissémination.

A propos des oliviers présents chez l'opérateur concerné :

- Le premier lot positif (importé le 21/05/2018) comportait 24 oliviers dont 13 avaient été vendus à d'autres opérateurs. Onze de ces 13 oliviers vendus ont pu être retrouvés. Des 22 oliviers (11 vendus et retrouvés + 11 encore présents chez l'opérateur concerné), 6 (= 27,3%) étaient positifs pour *X. fastidiosa*, c'est-à-dire associé à un résultat d'analyse légèrement supérieur aux limites de détection et correspondant à une valeur de Ct (*Cycle threshold*) inférieure à 38 sur base d'une détection par PCR quantitative en temps réel de type TaqMan® selon Harper et al. (2010) ou de type SYBR Green® selon Francis et al. (2006). Ces 22 oliviers ont été détruits.
- Tous les oliviers appartenant aux deux autres lots diagnostiqués positifs étaient encore présents chez l'opérateur au moment de l'échantillonnage. Ces oliviers ont également été détruits après échantillonnage, soit 22 oliviers (= 10 + 12).
- Par précaution, tous les autres oliviers présents chez l'opérateur concerné ont été détruits le 28/09/2018 directement après échantillonnage (option choisie par l'opérateur), soit 171 oliviers au total.
- Sur un total de 215 oliviers détruits, un maximum de 19 oliviers sont positifs ou potentiellement positifs : 6 oliviers issus du 1^{er} lot importé + 1 lot positif de 12 oliviers suite à la 2^e importation + 1 olivier issu du 3^e lot importé. Soit un maximum de 8,8% (= 19/215) d'oliviers potentiellement infectés par *X. fastidiosa*.
- Outre les oliviers dont il est question ci-dessus, 382 autres oliviers ont été importés chez l'opérateur concerné à partir des deux mêmes fournisseurs espagnols et vendus à 99 opérateurs professionnels belges depuis le début de l'année 2018. Quarante-deux échantillons ont été prélevés afin de caractériser les oliviers, issus de ce groupe, qui ont pu être retrouvés chez ces opérateurs. Tous ces échantillons se sont avérés négatifs.

A propos des autres végétaux spécifiés présents chez l'opérateur concerné :

- Les autres végétaux sensibles à *X. fastidiosa* (= végétaux spécifiés) et présents chez l'opérateur concerné ont été inspectés le 28/09/2018 et analysés. Aucun ne montrait de symptôme et aucun ne s'est avéré positif pour *X. fastidiosa*. Par précaution, ces végétaux ont toutefois également été détruits le 17/10/2018 (option choisie par l'opérateur, l'autre option étant leur conservation en quarantaine pendant au moins 9 mois), soit plus de 5.000 végétaux au total.
- Entre le 21/05/2018, date de l'importation du premier lot d'oliviers positifs, et le 28/09/2018, date du blocage par l'AFSCA de l'exploitation atteinte, d'autres végétaux sensibles à *X. fastidiosa* (= végétaux spécifiés) ont transité par celle-ci (= stockage à l'extérieur et ensuite vente). Ces végétaux n'ont, par conséquent, pas pu être ni inspectés, ni analysés.
- Le Comité scientifique écarte l'hypothèse, qu'il juge très peu probable, de la contamination des oliviers en Belgique à partir d'autres végétaux sensibles à *X. fastidiosa* présents chez l'opérateur concerné au moment des importations des oliviers. Pour cela, le Comité scientifique s'appuie sur plusieurs constats : **(i)** le troisième lot d'oliviers a été testé positif dans les 15 jours suivant son importation en Belgique, ce qui indique que la bactérie était très certainement déjà présente dans les oliviers avant leur exportation hors d'Espagne ; **(ii)** dans le rapport de l'AFSCA, il est question d'une présence de polygales à feuilles de myrte, *Polygala myrtifolia*, mais ces plants étaient stockés exclusivement dans la partie couverte (= dans la serre), ne présentaient aucun symptôme (alors qu'il s'agit d'une des espèces végétales les plus sensibles à *X. fastidiosa* quelle que soit la sous-espèce) et ont été rapidement presque tous vendus après importation du premier lot d'oliviers positif ; **(iii)** de plus, comme indiqué ci-dessus, les autres végétaux potentiellement sensibles à *X. fastidiosa* présents chez l'opérateur concerné ont été inspectés et analysés, et ceux-ci n'étaient ni symptomatiques, ni positifs pour *X. fastidiosa*.

A propos des analyses d'ADN de *Xylella fastidiosa* :

- Tous les résultats d'analyse des oliviers dans lesquels *X. fastidiosa* a été détectée étaient légèrement supérieurs aux limites de détection des différentes méthodes d'analyse appliquées, à savoir une PCR quantitative en temps réel de type TaqMan® selon Harper et al. (2010) ou de type SYBR Green® selon Francis et al. (2006). Ces résultats, à savoir des valeurs de Ct élevées, indiquent la présence d'une faible quantité d'ADN ayant pour origine *X. fastidiosa*. En effet, moins la bactérie est présente, plus il faut amplifier son matériel génétique présent dans l'échantillon, et par conséquent augmenter le nombre de cycles de PCR quantitative en temps réel, afin d'obtenir un signal de fluorescence significativement supérieur au bruit de fond. Cependant, dans le protocole de diagnostic (PM 7/24 (3)) de *X. fastidiosa* de l'OEPP (EPP, 2018), il est précisé que les résultats d'analyse présentant une valeur de Ct supérieure à 35 sur base d'une détection par PCR quantitative en temps réel de type TaqMan® selon Harper et al. (2010) devraient être considérés comme 'non-concluants'. Si seuls les résultats obtenus selon cette méthode sont pris en compte et si ce seuil de 35 est pris comme référence plutôt que le seuil de 38 (cf. ci-dessus), seuls 3 oliviers sur les 22 issus du premier lot positif (13,6%) étaient alors positifs et même seuls 4 oliviers sur le total des 215 oliviers détruits (1,9%).
- Ces méthodes d'analyse sont généralement très sensibles mais le risque de 'faux-positifs' est jugé significatif aux valeurs avoisinant les limites de détection. C'est-à-dire pour toute valeur de Ct comprise entre 35 et 38. C'est la raison pour laquelle le Comité scientifique recommande, sur base des connaissances actuelles, de considérer uniquement le seuil de 35 afin de conclure quant à la positivité de l'échantillon analysé (= détection certaine de *X. fastidiosa* lorsque la valeur de Ct est inférieure à 35). Les méthodes de détection devraient cependant être davantage standardisées et validées afin que ce risque de résultats faussement positifs soit minimisé. La procédure statistique développée par Chandelier et al. (2010) pourrait, par exemple, être appliquée afin de déterminer le cycle seuil limite (*cycle cut-off*), c'est-à-dire le

nombre de cycles au-delà duquel les échantillons doivent être considérés comme négatifs, et la limite de détection correspondante en nombre de copies de l'ADN cible.

- Faute d'une quantité suffisante d'ADN bactérien, il n'a pas été possible de déterminer la sous-espèce de *X. fastidiosa* détectée dans les oliviers positifs (ni par séquençage du matériel génétique détecté, ni par la réalisation de tests moléculaires). S'il persiste une incertitude sur la nature de la sous-espèce, il est probable que celle-ci soit la sous-espèce *multiplex*. En effet, en Espagne continentale, d'où les oliviers positifs ont été importés, seule cette sous-espèce est présente. Elle y est principalement limitée aux amandiers, mais a été identifiée sur un olivier dans la région de Madrid. Cette sous-espèce est connue pour être peu compatible (= faible multiplication) avec l'olivier (Krugner et al., 2014). De plus, les oliviers diagnostiqués comme positifs en Belgique ne montraient que très peu de symptômes, et seules de faibles quantités d'ADN bactérien y ont été détectées (= valeurs de Ct élevées). Ces constats suggèrent que les oliviers positifs importés en Belgique étaient porteurs latents de la sous-espèce *multiplex*.

A propos de la présence d'insectes vecteurs chez l'opérateur concerné, nécessaires à la dissémination de la bactérie :

- Chez l'opérateur concerné, tous les oliviers étaient stockés à l'extérieur. Ce dernier leur a appliqué un traitement insecticide tous les 15 jours durant la durée du stockage.
- Du 02/10/2018 au 25/10/2018, la présence d'insectes vecteurs dans et autour de la firme a été évaluée par l'AFSCA à l'aide de 50 pièges chromatiques (plaques jaunes collantes). Le vecteur principal connu de *X. fastidiosa*, la philène spumeuse (*P. spumarius*), n'a jamais été détecté. Pourtant, cette espèce est encore en activité au mois d'octobre en Belgique, même si 10 à 100 fois moins active que pendant la période juin-septembre (figure 3). Parmi les insectes capturés, seule une espèce, la cicadelle verte *Cicadella viridis*, est considérée comme vecteur potentiel de *X. fastidiosa*. Cependant, bien que cette espèce soit encore en activité au mois d'octobre en Belgique (figure 3), un seul spécimen de *C. viridis* a été capturé, et ce à l'extérieur de l'exploitation atteinte, et aucune trace détectable d'ADN de *X. fastidiosa* n'a été détectée.
- Cependant, les premier et second lots d'oliviers positifs sont restés respectivement environ 4 et 2 mois (= destruction des deux lots le 28/09/18 mais importation le 21/05/18 pour le premier et le 08/08/18 pour le second) à l'extérieur. L'échantillonnage et l'analyse des végétaux spécifiés et insectes vecteurs présents dans l'environnement immédiat n'a eu lieu qu'en octobre. Malgré les traitements insecticides réguliers, l'hypothèse existe que *X. fastidiosa* ait été, au cours de cette période (mai-septembre), disséminée par des insectes vecteurs, soit au-delà de 200 m à partir des pourtours de l'exploitation, soit à d'autres végétaux présents au sein de l'exploitation et vendus avant le mois de septembre. Le Comité scientifique juge toutefois cette hypothèse très peu probable vu (i) les traitements insecticides réguliers appliqués par l'opérateur et vu (ii) les résultats du piégeage des insectes vecteurs dont il est question ci-dessus (vecteur principal et bactérie non détectés).

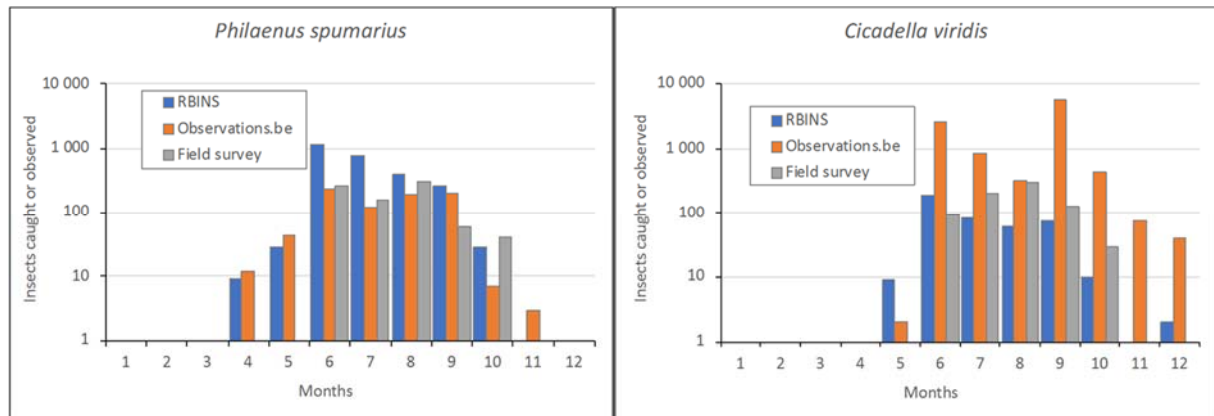


Figure 3. Evolution de l'abondance des populations de philènes spumeuses (*Philaenus spumarius*), figure de gauche, et de cicadelles vertes (*Cicadella viridis*), figure de droite, en Belgique au cours de l'année. Source : projet de recherche « RT 15/7 XYLERIS : Fitness of *Xylella fastidiosa* in plant hosts and vectors in Belgium with investigation of specific plant growth conditions on disease development » (sur base d'observations de terrain, de données issues de l'Institut royal des Sciences naturelles de Belgique et de données issues du réseau d'observations 'Observations.be').

A propos de la présence de végétaux spécifiés autour de l'exploitation atteinte :

- Dans une zone de 200 m autour de l'exploitation atteinte, la végétation présente est peu diversifiée étant donné qu'une zone industrielle est adjacente à l'un des côtés de l'exploitation et que ce sont principalement des prairies et des champs qui bordent les autres côtés. Des échantillons 'mélange' de végétaux potentiellement sensibles à *X. fastidiosa* ont toutefois été prélevés par l'AFSCA et, pour chacun de ces échantillons, chaque espèce végétale a été analysée séparément quant à la présence éventuelle de la bactérie. *X. fastidiosa* n'a été détectée dans aucun de ces échantillons.

Sur base des éléments listés ci-dessus, notamment le fait qu'un faible nombre d'oliviers présentaient un résultat positif pour *X. fastidiosa*, que ces résultats étaient légèrement supérieurs aux limites de détection (= valeurs de Ct élevées), qu'un traitement insecticide était régulièrement appliqué par l'opérateur concerné (= élimination des insectes vecteurs), que des mesures d'éradication ont été mises en œuvre et que la bactérie n'a pas pu être mise en évidence dans l'environnement immédiat de l'exploitation atteinte, le Comité scientifique estime que le **risque de dissémination** de *X. fastidiosa* dans et autour de l'exploitation atteinte est **faible** (sur une échelle de 5 grades telle que celle utilisée par l'OEPP (EPPO, 2011) : 'très faible' > 'faible' > 'modéré' > 'élevé' > 'très élevé').

L'**incertitude** associée à cette évaluation est **modérée** (sur une échelle de 3 grades telle que celle utilisée par l'OEPP (EPPO, 2011) : 'faible' > 'modérée' > 'élevée') vu que la sous-espèce n'a pas pu être déterminée (faute d'une quantité suffisante d'ADN que pour permettre son séquençage) et, vu que les résultats d'analyse étaient légèrement supérieurs aux limites de détection (= valeurs de Ct élevées) et qu'à ce niveau le risque de 'faux-positifs' est jugé significatif.

4.2. Quel est le risque que *X. fastidiosa* se propage par l'intermédiaire des clients de l'exploitation atteinte via les oliviers du même lot que les arbres infectés, compte tenu du fait que *X. fastidiosa* n'a pas été détectée dans les arbres tracés, du moment de l'introduction et de la connaissance des vecteurs (éventuels) en Belgique ?

Les éléments listés ci-dessous ont été mis à disposition du Comité scientifique et ont servi à évaluer le risque de dissémination par l'intermédiaire des clients.

- Comme indiqué au point 4.1., parmi les trois lots d'oliviers diagnostiqués positifs, seuls 13 oliviers avaient été vendus à d'autres opérateurs professionnels belges. Ces oliviers étaient tous issus du premier lot positif (importé le 21/05/2018).
- Ces 13 oliviers ont séjourné chez ces opérateurs où ils auraient pu contaminer d'autres végétaux mais, vu que les 11 oliviers qui ont pu être retrouvés étaient négatifs, cela semble fort peu probable.

Sur base du fait que seuls 13 oliviers issus des trois lots positifs ont été vendus et, que 11 d'entre eux ont été retrouvés et étaient négatifs, le Comité scientifique estime que le **risque de propagation** de *X. fastidiosa* via les clients de l'exploitation atteinte est **très faible** (sur une échelle de 5 grades telle que celle utilisée par l'OEPP (EPPO, 2011) : 'très faible' > 'faible' > 'modéré' > 'élevé' > 'très élevé').

L'**incertitude** associée à cette évaluation est **modérée** (sur une échelle de 3 grades telle que celle utilisée par l'OEPP (EPPO, 2011) : 'faible' > 'modérée' > 'élevée') vu que 2 oliviers issus du premier lot positif n'ont pu être retrouvés, vu que la sous-espèce n'a pas pu être déterminée (faute d'une quantité suffisante d'ADN que pour permettre son séquençage) et, vu que les résultats d'analyse étaient légèrement supérieurs aux limites de détection (= valeurs de Ct élevées) et qu'à ce niveau le risque de 'faux-positifs' est jugé significatif.

4.3. Les mesures de gestion mises en œuvre (par exemple, destruction des oliviers, pièges jaunes collants pour la capture des vecteurs) peuvent-elles servir de modèle pour les mesures à inclure dans le plan d'urgence dans l'éventualité d'une nouvelle introduction ?

Comme indiqué au point 3., l'approche suivie a consisté en la destruction de tous les oliviers issus des lots diagnostiqués positifs ainsi que de tous les autres oliviers et autres végétaux spécifiés présents chez l'opérateur concerné, dès que possible après confirmation de la détection. De plus, une zone d'inspection de 200 m autour de l'exploitation atteinte a été délimitée et a fait l'objet d'une capture et analyse des insectes potentiellement vecteurs de *X. fastidiosa* ainsi que d'un échantillonnage et analyse des végétaux potentiellement sensibles à *X. fastidiosa* présents.

Le Comité scientifique estime que les mesures de gestion mises en œuvre sont adéquates et qu'elles peuvent servir de modèle pour les mesures à inclure dans le plan d'urgence dans l'éventualité d'une nouvelle introduction de *X. fastidiosa*.

Cependant, le Comité scientifique suggère les modifications suivantes à ce plan :

- Afin de restreindre le nombre de végétaux devant faire l'objet d'une destruction, le Comité scientifique recommande que la sous-espèce bactérienne de *X. fastidiosa* présente soit identifiée (de préférence, par séquençage du matériel génétique détecté). Afin de pouvoir déterminer celle-ci, et par conséquent affiner la gamme d'hôtes, le Comité scientifique recommande le transfert, sous conditions strictes de biosécurité, des végétaux vivants dans lesquels la bactérie a été détectée vers un espace de confinement d'un laboratoire national de référence pour une étude approfondie, comme celle réalisée aux Pays-Bas sur les caféiers qui y avaient été importés en provenance d'Amérique centrale en 2014.

- Le Comité scientifique recommande de préciser que la zone d'inspection, dont il est question ci-dessus, doit correspondre à une zone 'couronne' de 200 m à partir des pourtours de l'exploitation et que cette distance s'applique aussi bien pour les prélèvements des végétaux que pour le piégeage des insectes.
- Etant donné que l'utilisation de pièges chromatiques (plaques jaunes collantes) rend difficile l'analyse des insectes capturés et l'extraction de *X. fastidiosa*, le Comité scientifique recommande l'utilisation de filets fauchoirs pour l'échantillonnage des insectes, et ce en respectant un plan d'échantillonnage rigoureux (à travers des transects, avec une durée d'échantillonnage fixe et en ciblant les périodes de vol des vecteurs).

4.4. Le Comité scientifique peut-il soutenir le plan de surveillance proposé par l'AFSCA au cours des deux prochaines saisons ? Plus spécifiquement, des avis sont demandés sur la méthode, sur la période idéale et sur la recherche des vecteurs (par exemple, méthode de capture, analyse moléculaire de toutes les cicadelles ou seulement des piqueurs-suceurs de sève brute, ou seulement de certaines espèces) et de la pertinence ou pas d'échantillonner des arbres haute tige sur pied.

Le plan de surveillance proposé par l'AFSCA au cours des deux prochaines saisons consiste à surveiller à la fois les végétaux (dans l'entreprise + une zone de 200 m à l'extérieur) et les insectes (dans l'entreprise + une zone de 100 m à l'extérieur), durant la période août-septembre. Les végétaux spécifiés dans la zone à l'extérieur de l'entreprise seront échantillonnés individuellement quels que soient les symptômes tandis qu'au sein de l'entreprise, les échantillons provenant de végétaux différents seront associés (*pooling*), sauf pour les végétaux symptomatiques. L'analyse des insectes se fera par espèce et par piège.

Les adaptations suivantes sont proposées :

- Au sujet de la surveillance des végétaux spécifiés et des insectes vecteurs dans les environs immédiats de l'exploitation atteinte, le Comité scientifique suggère de cibler les zones présentant une diversité végétale plus importante.
- Comme indiqué au point 4.3., le Comité scientifique recommande de porter à 200 m la zone à couvrir lors du piégeage des insectes. Il suggère de réaliser une première capture mi-août et une seconde mi-septembre.
- En ce qui concerne l'échantillonnage et l'analyse des végétaux asymptomatiques, des échantillons 'mélange' (= constitués de sous-échantillons provenant de différentes espèces végétales) peuvent être prélevés mais il est nécessaire de préciser que les analyses visant à détecter *X. fastidiosa* doivent être réalisées séparément pour chacune des espèces végétales présentes dans chacun de ces échantillons 'mélange'.
- Le Comité scientifique souligne qu'en l'absence d'un véritable foyer de *X. fastidiosa*, il est peu probable que la bactérie soit détectée, car présente en très faibles quantités.
- Des polygales à feuilles de myrte (*Polygala myrtifolia*), espèce végétale très sensible à *X. fastidiosa*, pourraient également être installées dans l'exploitation atteinte et utilisées comme plantes-pièges afin de vérifier que la bactérie ne s'est pas établie (sous-entendu, inspection régulière de ces plantes afin de détecter tout symptôme lié à une infection éventuelle par la bactérie).
- Comme indiqué au point 4.3., le Comité scientifique recommande d'utiliser des filets fauchoirs pour l'échantillonnage des insectes, plutôt que des pièges chromatiques (plaques jaunes collantes).
- Au sujet des insectes, il est recommandé de rechercher la présence éventuelle de l'ADN de *X. fastidiosa* dans toutes les cicadelles et tous les insectes vecteurs piqueurs-suceurs de sève brute (connus et potentiels).
- Par rapport à l'échantillonnage des arbres de haute tige, il est acceptable, pour des raisons pratiques, de plutôt choisir les végétaux les plus accessibles sauf si des symptômes sont

observés au niveau de ces arbres ou s'il s'agit d'une espèce hôte préférentielle d'un insecte vecteur (connu ou potentiel), telle que les différentes espèces de saule (*Salix* spp.) pour l'aphrophore des saules (*Aphrophora salicina*).

4.5. Quelle est la signification de la détection de *X. fastidiosa* avec des valeurs élevées de Ct (Cycle threshold) et quelles conclusions peut-on en tirer quant à la propagation possible de la bactérie compte tenu des autres résultats de la recherche (vecteurs, plantes dans l'environnement) ?

Les valeurs élevées de Ct observées peuvent s'expliquer par différents éléments.

- Premièrement, le lieu d'échantillonnage : sachant que *X. fastidiosa* n'est pas distribuée de manière homogène dans la plante infectée, il est important de cibler les zones au niveau desquelles la bactérie se concentre, à savoir pas uniquement le pétiole et la nervure centrale des feuilles, mais également le bois. Dans le cas présent, il aurait fallu par conséquent prélever et faire analyser un rameau, incluant des feuilles, surtout en l'absence de symptôme. De plus, il est déconseillé de prélever des jeunes tiges/feuilles (= de l'année) mais d'échantillonner de préférence des feuilles/rameaux mûr(e)s.
- Deuxièmement, la méthode d'analyse : la méthode qui deviendra prochainement celle de référence est la détection par PCR quantitative en temps réel de type TaqMan® selon Harper et al. (2010). D'autres méthodes d'analyse existent mais ne conduisent pas à des résultats plus précis. Les tests sérologiques (ex. : ELISA) sont à éviter pour la détection de la bactérie sur des végétaux asymptomatiques.
- Troisièmement, le matériel utilisé lors de l'analyse : pour une même méthode de détection par PCR quantitative en temps réel de type TaqMan®, l'utilisation d'un détecteur laser conduira à des résultats plus précis que l'utilisation d'un détecteur de type LED.
- Quatrièmement, la forme sous laquelle *X. fastidiosa* se trouve dans la plante infectée. En effet, soit la bactérie se présente sous une forme dispersée, la forme 'planctonique', soit elle se présente sous une forme d'agrégats/de biofilms. Dans le second cas, les valeurs de Ct observées seront plus faibles et témoigneront d'une concentration plus forte de la bactérie dans la plante infectée (et par conséquent de son matériel génétique).

Comme indiqué au point 4.1., le Comité scientifique est d'avis que les valeurs élevées de Ct observées dans le cas présent indiquent une présence latente de *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* dans les oliviers importés d'Espagne. Ceci suggère un faible niveau de présence sans réelle installation de la bactérie et, par conséquent, sans réelle manifestation clinique de la maladie. Sans tenir compte des mesures de gestion mises en œuvre mais sur base des seuls résultats d'analyse, le risque de propagation de la bactérie est évalué comme **modéré** (sur une échelle de 5 grades telle que celle utilisée par l'OEPP (EPPO, 2011) : 'très faible' > 'faible' > 'modéré' > 'élevé' > 'très élevé').

5. Incertitudes

Les incertitudes dans cet avis sont celles inhérentes à une opinion d'experts. D'autres incertitudes concernent le fait que deux oliviers issus du premier lot positif n'ont pu être retrouvés et par conséquent testés, le fait que la sous-espèce de *X. fastidiosa* n'a pas pu être déterminée (faute d'une quantité suffisante d'ADN que pour permettre son séquençage) et, le fait que les résultats d'analyse étaient légèrement supérieurs aux limites de détection (= valeurs de Ct élevées) et qu'à ce niveau le risque de 'faux-positifs' est jugé significatif.

6. Conclusions

Sur base des éléments du dossier technique transmis par l'AFSCA, notamment les mesures d'éradication mises en œuvre, le Comité scientifique évalue le risque de dissémination de *X. fastidiosa* dans et autour de l'exploitation atteinte comme étant faible.

De plus, le Comité scientifique soutient le plan de surveillance proposé par l'AFSCA au cours des deux prochaines saisons, tout en proposant quelques adaptations.

7. Recommandations

Au sujet des mesures de gestion à mettre en œuvre en cas de nouvelle introduction de *X. fastidiosa*, le Comité scientifique recommande :

- d'identifier la sous-espèce afin d'affiner la gamme d'hôtes et, par conséquent, de réduire le nombre de végétaux à détruire,
- de considérer la zone de 200 m autour de l'exploitation atteinte comme zone d'inspection aussi bien pour les végétaux spécifiés que pour les insectes vecteurs,
- d'utiliser des filets fauchoirs pour l'échantillonnage des insectes plutôt que des pièges chromatiques (plaques jaunes collantes).

Au sujet du plan de surveillance au cours des deux prochaines saisons, le Comité scientifique recommande :

- de cibler les zones présentant une diversité végétale plus importante lors de la surveillance des végétaux spécifiés et des insectes vecteurs dans les environs immédiats de l'exploitation atteinte,
- de capturer les insectes dans la zone de 200 m autour de l'exploitation atteinte à l'aide de filets fauchoirs et via deux passages (mi-août et mi-septembre), et de rechercher la présence éventuelle de l'ADN de *X. fastidiosa* dans toutes les cicadelles et tous les insectes vecteurs piqueurs-suceurs de sève brute (connus et potentiels),
- d'installer des polygales à feuilles de myrte comme plantes-pièges dans l'exploitation atteinte et d'inspecter régulièrement celles-ci à la recherche d'éventuels symptômes.

Le Comité scientifique recommande de standardiser et valider davantage les méthodes de détection de *X. fastidiosa* afin que le risque de résultats faussement positifs soit minimisé. Le cycle seuil limite (*cycle cut-off*) et la limite de détection correspondante en nombre de copies de l'ADN cible devraient être déterminés. Sur base des connaissances actuelles, la valeur de 35 devrait être considérée comme cycle seuil limite.

Pour le Comité scientifique,
Le Président,

Prof. Dr. E. Thiry (Se)
Bruxelles, le 16/04/2019

Références

Chandelier A., Planchon V., Oger R., 2010. Determination of cycle cut off in real-time PCR for the detection of regulated plant pathogens. *EPPO Bulletin*. 40:52–58.

EFSA, 2018. Update of the *Xylella* spp. host plant database. *EFSA Journal*. 16(9):5408.

EPPO, 2011. PM 5/3(5) Guidelines on Pest Risk Analysis, Decision-support scheme for quarantine pests.

EPPO, 2018. PM 7/24 (3) *Xylella fastidiosa*. Diagnostic. *EPPO Bulletin*. 48(2):175–218.

Francis M., Lin H., Cabrera-La Rosa J., Doddapaneni H., Civerolo E.L., 2006. Genome-based PCR primers for specific and sensitive detection and quantification of *Xylella fastidiosa*. *European Journal of Plant Pathology*. 115:203–213.

Harper S.J., Ward L.I. and Clover G.R., 2010. Development of LAMP and real-time PCR methods for the rapid detection of *Xylella fastidiosa* for quarantine and field applications. *Phytopathology*. 100(12):1282-8; erratum 2013;103(7):762.

Krugner R., Sisterson M.S., Chen J.C., Stenger D.C., Johnson M.W., 2014. Evaluation of olive as a host of *Xylella fastidiosa* and associated sharpshooter vectors. *Plant Disease*. 98:1186–1193.

Présentation du Comité scientifique institué auprès de l'AFSCA

Le Comité scientifique (SciCom) est un organe consultatif institué auprès de l'Agence fédérale belge pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA) qui rend des **avis scientifiques indépendants** en ce qui concerne l'évaluation et la gestion des risques dans la chaîne alimentaire, et ce sur demande de l'administrateur délégué de l'AFSCA, du ministre compétent pour la sécurité alimentaire ou de sa propre initiative. Le Comité scientifique est soutenu administrativement et scientifiquement par la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques de l'Agence alimentaire.

Le Comité scientifique est composé de 22 membres, nommés par arrêté royal sur base de leur expertise scientifique dans les domaines liés à la sécurité de la chaîne alimentaire. Lors de la préparation d'un avis, le Comité scientifique peut faire appel à des experts externes qui ne sont pas membres du Comité scientifique. Tout comme les membres du Comité scientifique, ceux-ci doivent être en mesure de travailler indépendamment et impartialement. Afin de garantir l'indépendance des avis, les conflits d'intérêts potentiels sont gérés en toute transparence.

Les avis sont basés sur une évaluation scientifique de la question. Ils expriment le point de vue du Comité scientifique qui est pris en consensus sur la base de l'évaluation des risques et des connaissances existantes sur le sujet.

Les avis du Comité scientifique peuvent contenir des **recommandations** pour la politique de contrôle de la chaîne alimentaire ou pour les parties concernées. Le suivi des recommandations pour la politique est la responsabilité des gestionnaires de risques.

Les questions relatives à un avis peuvent être adressées au secrétariat du Comité scientifique : Secretariat.SciCom@afsca.be

Membres du Comité scientifique

Le Comité scientifique est composé des membres suivants :

S. Bertrand*, M. Buntinx, A. Clinquart, P. Delahaut, B. De Meulenaer, N. De Regge, S. De Saeger, J. Dewulf, L. De Zutter, M. Eeckhout, A. Geeraerd, L. Herman, P. Hoet, J. Mahillon, C. Saegerman, M.-L. Scippo, P. Spanoghe, N. Speybroeck, E. Thiry, T. van den Berg, F. Verheggen, P. Wattiau**

* membre jusqu'en mars 2018

** membre jusqu'en juin 2018

Conflit d'intérêts

Aucun conflit d'intérêts n'a été signalé.

Remerciements

Le Comité scientifique remercie la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques et les membres du groupe de travail pour la préparation du projet d'avis.

Composition du groupe de travail

Le groupe de travail était composé de :

Membres du Comité scientifique :	F. Verheggen (rapporteur)
Experts externes :	C. Bragard (UCLouvain), J.-C. Grégoire (ULB), M. Höfte (UGent), H. Jijakli (ULiège – GxABT), J. Van Vaerenbergh (ILVO), B. Watillon/S. Steyer (CRA-W)
Gestionnaire du dossier :	O. Wilmart

Les activités du groupe de travail ont été suivies par les membres de l'administration suivants (comme observateurs) : J. Van Autreve et V. Huyshauer de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire.

Cadre juridique

Loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, notamment l'article 8 ;

Arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire ;

Règlement d'ordre intérieur visé à l'article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 8 juin 2017.

Disclaimer

Le Comité scientifique conserve à tout moment le droit de modifier cet avis si de nouvelles informations et données deviennent disponibles après la publication de cette version.