

AgriStrip - Le test rapide des plantes

Actualités phytosanitaires 2022

Dr. Michele Frapolli
BIOREBA AG, Christoph Merian-Ring 7, CH-4153 Reinach

BIOREBA AG

17.11.2022

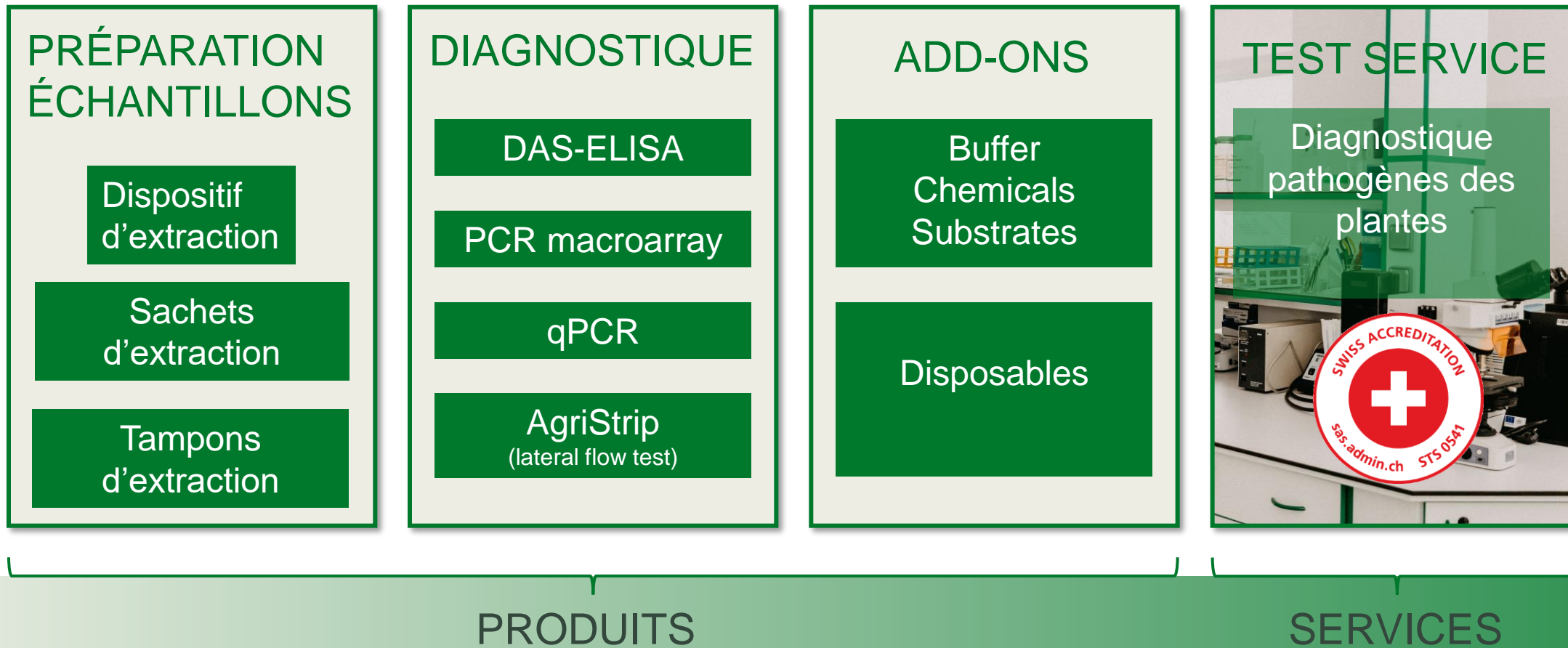
- Experts en Phytopathologie et en Agro-diagnostique depuis 1982
- Team de 15 personnes
- Distribution dans plus de 100 pays à niveau mondiale
- ISO 9001 et ISO/IEC 17025

**100% SWISS-
QUALITY**



SOLUTIONS ALL-IN-ONE BIOREBA

17.11.2022



Produits AgriStrip (test rapide)

17.11.2022

1. Maize chlorotic mottle virus (MCMV)
2. Potato virus X (PVX)
3. Potato virus Y (PVY)
4. Tobacco mosaic virus (TMV)
5. Tomato spotted wilt virus (TSWV)

Grandes cultures

1. Cucumber mosaic virus (CMV)
2. Lettuce mosaic virus (LMV)
3. Pepino mosaic virus (PepMV)
4. Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)
5. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac)
6. Pepper mild mottle virus (PMMoV)
7. ...

Légumes

1. Potato viruses (A, M, S, X, Y)
2. *Ralstonia solanacearum* (Rs)
3. *Spongospora subterranea* subsp. *subterranea* (Sss)
4. ...

Pommes de terre

1. Cucumber mosaic virus (CMV)
2. *Erwinia amylovora* (Ea)
3. Plum pox virus (PPV)

Arbres fruitiers et petit fruitiers

1. Cucumber mosaic virus (CMV)
2. Impatiens necrotic spot virus (INSV)
3. Potato virus A (PVA)
4. Potato virus X (PVX)
5. Potato virus Y (PVY)
6. *Ralstonia solanacearum* (Rs)
7. Tobacco mosaic virus (TMV)
8. Tomato mosaic virus (ToMV)
9. Tomato spotted wilt virus (TSWV)

Plantes ornementales



Quand utiliser AgriStrip

- Quand on a un soupçon de maladie
- On veut avoir des résultats fiables en peu de temps



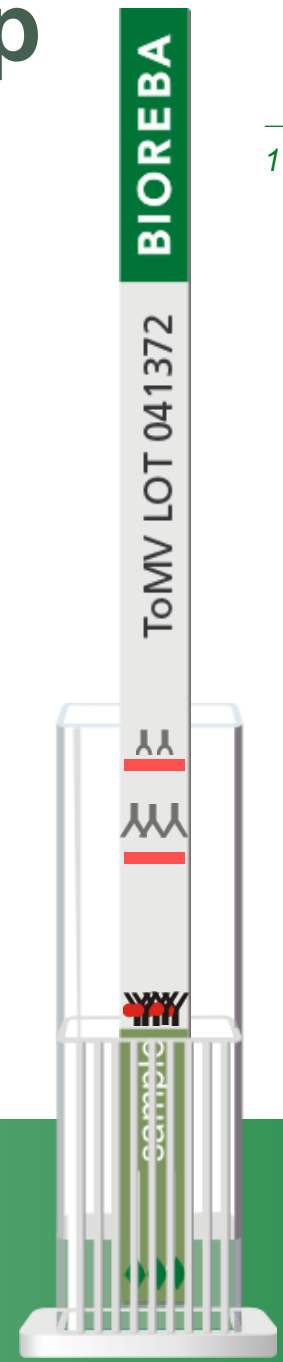
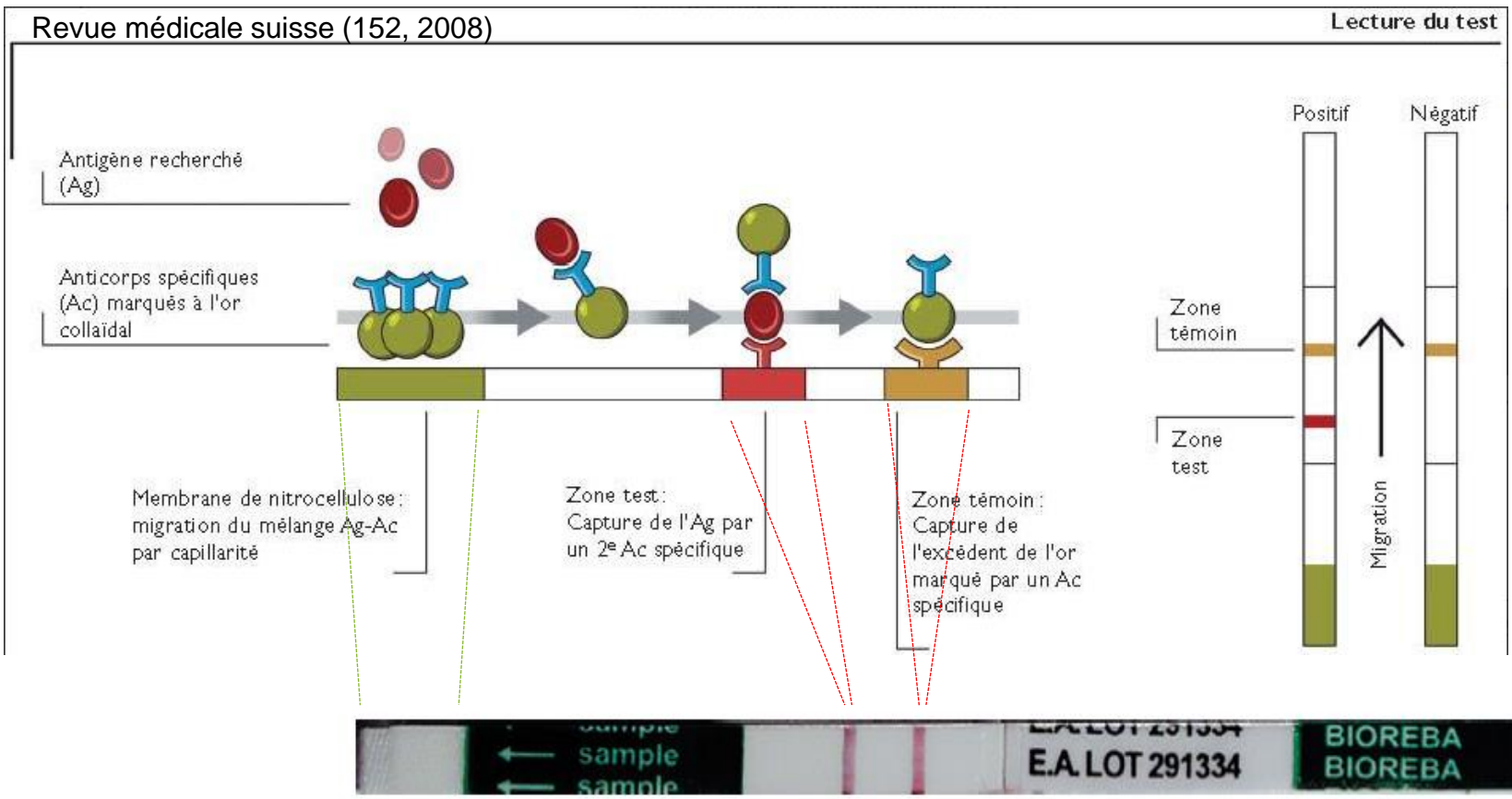
17.11.2022

Quand ne pas utiliser AgriStrip

- Screening sur des plantes asymptomatiques
- Pour tester systématiquement un nombre élevé d'échantillons
→ ELISA ou PCR

Mode de fonctionnement du test AgriStrip (Immuno-chromatographie)

17.11.2022



Exemple 1: Le virus de la mosaïque du concombre (CMV)

17.11.2022

- Décrit pour la première fois sur bananier en 1930
- Large spectre d'hôtes (> 1200 espèces de mono et dicotylédones)
- Transmission principalement par des pucerons (rarement mécaniquement)
- Son impact est considérable sur de nombreuses cultures maraîchères, fruitières et sur plantes ornementales
- Symptômes très variables en fonction de la souche et de la plante



Poivron



Haricot (Photo Ruxx Graves)



Hibiscus



Jacinthe des bois (Photo Brian Mudelson)

Exemple 2: Virus de la maladie bronzée de la tomate (TSWV)

17.11.2022

- Présence en Suisse documentée depuis 1994 (Vaud)
- Organisme de quarantaine en culture maraîchère
- Le virus se transmet par les thrips (*Frankliniella occidentalis*) sur plus de 1000 espèces de plante
- Le virus persiste dans l'insecte tout au long de sa vie
- **Mésures de lutte:** passport phytosanitaire, variétés résistantes, éliminer les mauvaises herbes (réservoir), placer des filets, désinfecter, *Macrolophus pygmaeus* (punaise),...

Tableau 1 | Principales plantes maraîchères et ornementales contaminées par le TSWV

Plantes maraîchères		
Aubergine	Laitue	Haricot
Poivron	Endive	Pois
Concombre	Courge	Epinard
Choux	Bette	Céleri
Plantes ornementales		
Marguerite	Anémone	Arum
Bégonia	Souci	Chrysanthème
Dahlia	Zinnia	Cyclamen
Glaïeul	Gerbera	Lys
Pétunia	Renoncule	Impatiens

Source Agroscope (Schumpp et Gilli, 2014)



F. occidentalis (Photo)



Cyclamen

(Photo EPPO)



Basilic (Photo EPPO)

Exemple 3: Flétrissure bactérienne (*Ralstonia solanacearum*, *Rs*)

17.11.2022

- Large spectre d'hôtes (> 200 espèces végétales)
- Organisme de quarantaine → signaler au service phytosanitaire cantonale
- Observé pour la première en Suisse en 2017 (actuellement absent)
- Peut aussi s'attaquer à des espèces ornementales (pélargonium)
- Les plantes infectés commencent à flétrir → stress hydrique



Géranium, stade précoce

(Photo IFAS)

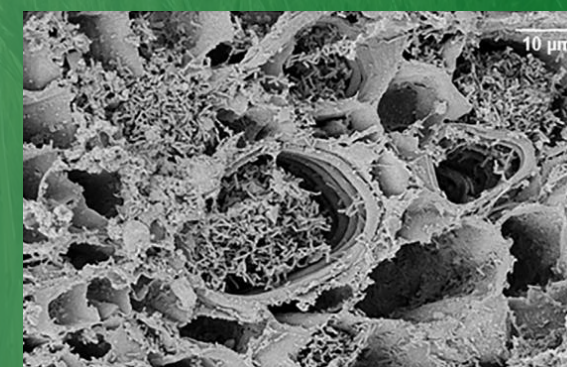
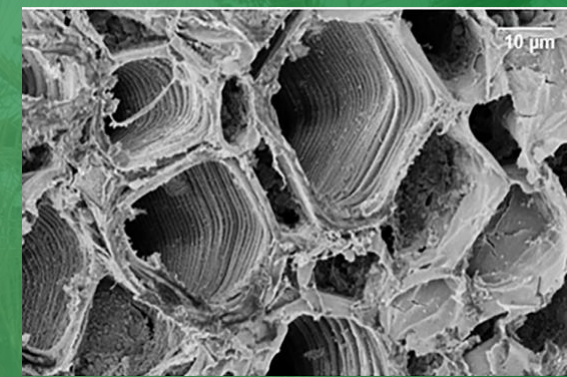


Géranium, stade avancé

(Photos IFAS)



Flux bactérien dans de l'eau Claire (Photo Univ. of Georgia)



Tiffany et al. 2018
(Trends in Microbiol)

Exemple 4: Feu bactérien (*Erwinia amylovora*, Ea)

17.11.2022

- Organisme réglementé non de quarantaine (ORNQ)
- Pour plantes hôtes (pommier, poirier, cognassier, sorbier, ...) si destinés à usage commercial (production et plante d'ornement)
- Limiter la présence du feu bactérien (SPC, OFAG):
 - Zones à faible prévalence: obligations de surveiller, annoncer et prendre des mesures
 - Au dehors de ces zone pas d'obligation d'annonce ni de lutte



Poirier infecté par Ea
(Photo Rebekah Wallace)



Framboisier infecté par Ea (Photo Brian Olson)

OFAG | Directive n°3 – Surveillance et lutte contre le feu bactérien

En vigueur depuis le 15.04.2022

Recommandation : en cas de doute, un test rapide (Ea AgriStrip) sera effectué sur place ou un échantillon sera envoyé pour analyse à un laboratoire privé (ne pas envoyer d'échantillons suspects à Agroscope).

Réalisation Ea AgriStrip

1. Échantillonnage

17.11.2022

Échantillons appropriés:

- Zone transitoire entre les tissus sains et les tissus présentant des symptômes
- Retirer l'écorce et utiliser le tissu directement sous l'écorce (cambium)
- Chancres
- Exsudats bactériens

Échantillons non appropriés:

- Fleurs asymptotiques, racines



Réalisation Ea AgriStrip

2. Homogénéisation

17.11.2022

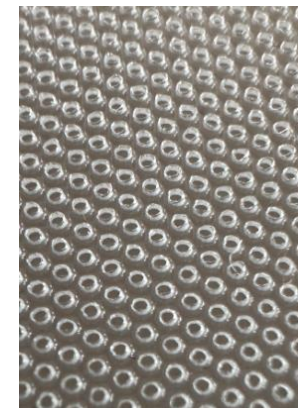


- 0.2 – 0.5 g de matériel symptomatique dans un sachet d'extraction
- Ajouter 4 ml de tampon d'extraction



Déposer 4 gouttes de l'extrait dans une cuvette

membrane



Réalisation Ea AgriStrip

3. Évaluation

Résultat en 15 minutes



Négatif



Positif

ligne contrôle
ligne test

- Ligne test à forte intensité → beaucoup d'antigène
- Ligne test à faible intensité → peu d'antigène
- Les bandelettes peuvent être conservées une fois séchées

Analyse exsudats bactériens

17.11.2022



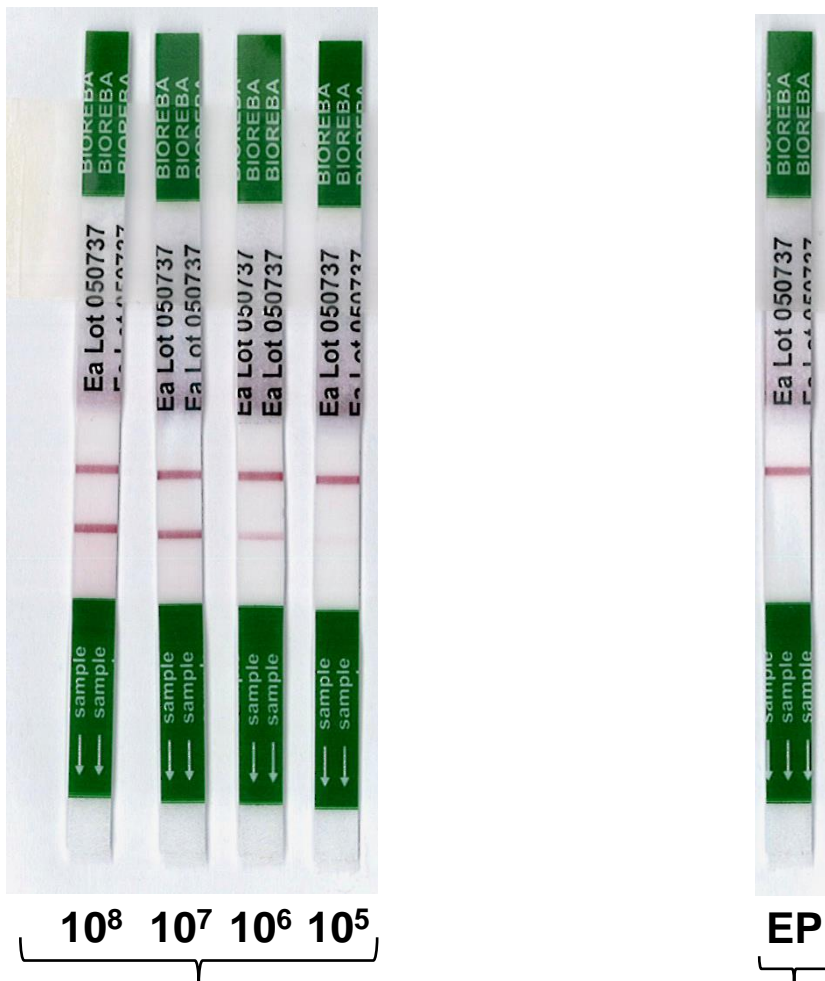
- Déposer 4 gouttes dans une cuvette
- Toucher l'exsudat avec une pipette pasteur
- Agiter dans la cuvette
- Tremper la bandelette dans l'extrait



Attention: trop de bactéries peuvent obstruer les bandelettes

Limite de détection du test rapide *Erwinia amylovora*

17.11.2022



E.a. bouillon de culture (cfu/ml)
dans le tampon d'extraction

Contrôle négatif

Résultat:

- 10^8 und 10^7 ufc/ml
visible à partir de 2-5 min
- 10^6 ufc/ml
visible à partir de 5-10 min
- 10^5 ufc/ml
visible à partir de 15-30 min!



Limite de détection:
Analyse avec un autre
test recommandé

Hygiène aux champs



17.11.2022

Hygiène:

- Couteau propre
- Désinfectant (Gigasept, Lysetol, ...)
- Nettoyer les couteaux entre les échantillons, ou utiliser un autre couteau propre
- Traitements de déchets: brûler les échantillons; sac à ordure bien fermé
- Matériel en plastique: Composants du Kit AgriStrip:
Plonger les sachets d'extraction, les cuves et les pipettes pendant 1 h dans de l'eau de javel (NaOCl).

Réalisation du test AgriStrip-ToBRFV

1. Échantillonnage

17.11.2022



Nouveau concept

- Plus pratique et rapide
- Moins de manip

- ~0.2 g tissue symptomatique dans 8 ml de tampon → Dilution 1:40 / 1:80
- Feuille ou fruit
- Pas adapte aux graines

Réalisation du test AgriStrip-ToBRFV

2. Homogénéisation

17.11.2022



- (i) Ajouter l'échantillon** **(ii) Secouer pendant 20-30 s** **(iii) Insérer le compte-gouttes**

Réalisation du test AgriStrip-ToBRFV

3. Évaluation du test

17.11.2022



Ajouter 3-4 gouttes



Attendre 15-20 min

- Test positif ne signifie pas nécessairement ToBRFV-positif
 - Réaction croisée faible avec ToMV et TMV
 - Résultat positif doit être confirmé par real-time PCR
- BIOREBA offre cette possibilité

Conclusion AgriStrip

17.11.2022

- **Résultats rapides**
- **Seulement si on a un soupçon de maladie**
- **Idéal pour tester les pathogènes directement sur le terrain**
- **Moins sensible que les méthodes moléculaires**
- **Si possible un résultat positif doit toujours être confirmé par une autre méthode (PCR, ELISA, ...)**

BIOREBA

Your Partner in Agro-Diagnostics

since 1980



Association of Swiss Laboratories
Verband Schweizer Laboratorien
Association des Laboratoires Suisses
Associazione dei Laboratori Svizzeri

BIOREBA AG
Christoph Merian-Ring 7
CH-4153 Reinach

www.bioreba.ch

Contact us:
+41 61 712 11 25
admin@bioreba.ch

Follow us:



Exemple 5: Virus du fruit rugueux brun de la tomate (Tomato brown rugose fruit virus, ToBRFV)

17.11.2022

- Apparu en Israël en 2014, en Europe en 2018 en Allemagne, détecté en Suisse en 2021
- Se transmet facilement (outils, sémences, mauvaises herbes, eau de drainage)
- Organisme de quarantaine depuis 2020 → doit être déclaré au service phytosanitaire cantonale
- Touche surtout les familles de Solanaceae (tomate, poivron) et Amaranthaceae
- Fruits ne sont plus commercialisables
- Il semble que ToBRFV puisse s'en prendre à des plantes ornementales et à certaines mauvaises herbes



Photo: Heike Scholz-Döbelin



Photo: Dr. Raed Alkowni



Photo: Heike Scholz-Döbelin

Validation et comparaison avec d'autres tests: ACW

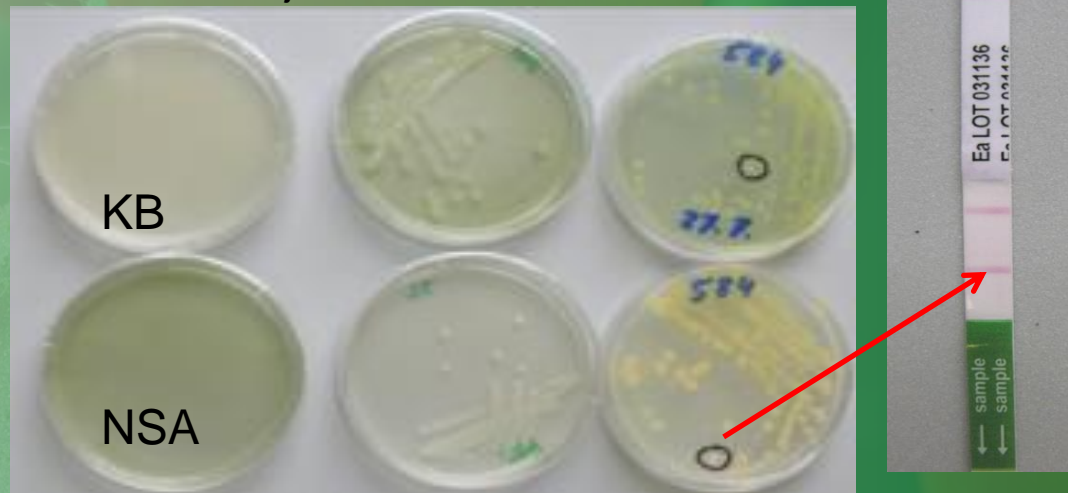
17.11.2022

Methode 1: 15 min



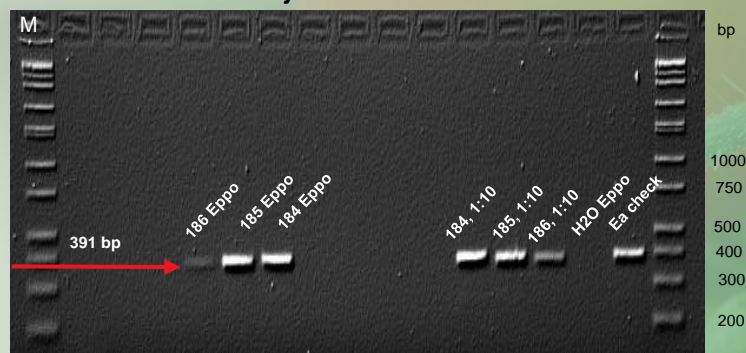
Analyse avec le test **AgriStrip**

Methode 2: 2-3 jours



Analyse standard: **méthode d'isolation**
Caractérisation visuelle des bactéries.

Methode 3: 1-2 jours



Analyse par extraction d'ADN et **nested PCR** (Llop et al., 1999; 2000)

Comparaison des méthodes 1 et 2,
se fondant sur
540 échantillons (2006-2008).

Concordance 95-98%.