

**SNELADVIES 03-2019**

Betreft:

**Risicobeoordeling met betrekking tot de  
aanwezigheid van de bacterie *Xylella  
fastidiosa* in België op olijfbomen  
geïmporteerd uit Spanje**

(SciCom 2019/04)

Wetenschappelijk sneladvies goedgekeurd door het Wetenschappelijk Comité op 10 april 2019.

**Sleutelwoorden:**

*Xylella fastidiosa*, risicobeoordeling, beheersmaatregelen, toezichtsplan

**Key terms:**

*Xylella fastidiosa*, risk assessment, control measures, surveillance plan

## Inhoud

Samenvatting .....	3
Summary .....	6
1. Referentietermen .....	8
1.1. Gestelde vragen .....	8
1.2. Wettelijke bepalingen .....	8
1.3. Methode .....	8
2. Definities & Afkortingen .....	9
3. Context .....	9
4. Antwoorden op de vragen.....	13
4.1. Wat is het risico van verspreiding van <i>X. fastidiosa</i> in en rond het getroffen bedrijf, rekening houdend meer bepaald met de lage concentratie die gedetecteerd werd op ingevoerde olijfbomen, met het moment van de introductie, met de verzamelde informatie over de aanwezige vectoren...? .....	13
4.2. Wat is het risico van verspreiding van <i>X. fastidiosa</i> via olijfbomen van hetzelfde lot als de besmette bomen bij de klanten van het getroffen bedrijf, rekening houdend met het feit dat er in de getraceerde bomen geen <i>X. fastidiosa</i> werd aangetoond, met het moment van de introductie en met de kennis over (mogelijke) vectoren in België? .....	17
4.3. Kunnen de uitgevoerde beheersmaatregelen (bv. vernietiging van de olijfbomen, gele vangplaten voor het vangen van vectoren) als model dienen voor maatregelen bij eventueel nieuwe introducties op te nemen in het noodplan? .....	17
4.4. Kan het Wetenschappelijk Comité het hierna voorgestelde toezichtsplan gedurende de twee volgende seizoenen ondersteunen? Meer bepaald wordt advies gevraagd over de werkwijze, over de ideale periode en over het onderzoek van de vectoren (o.a. vangwijze, moleculaire analyse van alle cicaden of enkel xyleem-voedende stekend-zuigende insecten, of enkel bepaalde soorten), de zin of onzin om hoge bomen op stam te bemonsteren. ....	18
4.5. Wat is de betekenis van detectie van <i>X. fastidiosa</i> met hoge Ct (Cycle treshold) waarden en welke conclusies kunnen hieruit getrokken worden naar de mogelijke verspreiding van de bacterie met inachtneming van de andere resultaten van het onderzoek (vectoren, planten in de omgeving)? .....	19
5. Onzekerheden .....	19
6. Conclusies.....	20
7. Aanbevelingen.....	20
Referenties.....	21
Leden van het Wetenschappelijk Comité .....	22
Belangenconflict .....	22
Dankbetuiging.....	22
Samenstelling van de werkgroep.....	23
Wettelijk kader.....	23
Disclaimer .....	23

## Figuren

Figuur 1. Symptomen vastgesteld op druivelaars (links) en op olijfbomen (rechts) wat met <i>X. fastidiosa</i> besmette planten betreft. Bron: EPPO Global Database ( <a href="https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/photos">https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/photos</a> ). ....	10
Figuur 2. Schuimcicade ( <i>Philaenus spumarius</i> ). Bron: Flickr ( <a href="https://www.flickr.com/photos/overton_cat/2766563572">https://www.flickr.com/photos/overton_cat/2766563572</a> ).....	11
Figuur 3. Evolutie van de populatieabundantie schuimcicaden ( <i>Philaenus spumarius</i> ) (figuur links) en groene dwergcicaden ( <i>Cicadella viridis</i> ) (figuur rechts), in België in de loop van het jaar. Bron: onderzoeksproject "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" (op basis van observaties op het terrein, van gegevens afkomstig van het Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen en van gegevens afkomstig van het observatienetwerk Observations.be).....	16

## Samenvatting

### **Sneladvies 03-2019 van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het FAVV over de risicobeoordeling met betrekking tot de aanwezigheid van de bacterie *Xylella fastidiosa* in België op olijfbomen geïmporteerd uit Spanje.**

#### Context en gestelde vragen

Naar aanleiding van de detectie van *Xylella fastidiosa* op olijfbomen afkomstig uit Spanje in het najaar 2018 heeft het FAVV en de betrokken operator beheersmaatregelen getroffen om de verdere verspreiding tegen te gaan. Het Wetenschappelijk Comité wordt verzocht de volgende vragen te beantwoorden:

1. Wat is het risico van verspreiding van *Xylella fastidiosa* in en rond het getroffen bedrijf, rekening houdend met de lage concentratie die gedetecteerd werd op ingevoerde olijfbomen, met het moment van de introductie, met de verzamelde informatie over de aanwezige vectoren...?
2. Wat is het risico van verspreiding van *X. fastidiosa* via olijfbomen van hetzelfde lot als de besmette bomen bij de klanten van het getroffen bedrijf, rekening houdend met het feit dat er in de getraceerde bomen geen *X. fastidiosa* werd aangetoond, met het moment van de introductie en met de kennis over (mogelijke) vectoren in België?
3. Kunnen de uitgevoerde beheersmaatregelen (bv. vernietiging van de olijfbomen, gele vangplaten voor het vangen van vectoren) als model dienen voor maatregelen bij eventueel nieuwe introducties op te nemen in het noodplan?
4. Kan het Wetenschappelijk Comité het hierna voorgestelde toezichtsplan gedurende de twee volgende seizoenen ondersteunen? Meer bepaald wordt advies gevraagd over de werkwijze, over de ideale periode en over het onderzoek van de vectoren (o.a. vangwijze, moleculaire analyse van alle cicaden of enkel xyleem-voedende stekend-zuigende insecten, of enkel bepaalde soorten), de zin of onzin om hoge bomen op stam te bemonsteren.
5. Wat is de betekenis van detectie van *Xylella fastidiosa* met hoge Ct (*Cycle threshold*) waarden en welke conclusies kunnen hieruit getrokken worden naar de mogelijke verspreiding van de bacterie met inachtneming van de andere resultaten van het onderzoek (vectoren, planten in de omgeving)?

#### Methode

Het advies is gebaseerd op: **(i)** de beoordeling, door experts, van het technische dossier uitgewerkt door het FAVV met de resultaten van het onderzoek uitgevoerd naar aanleiding van de detectie van *X. fastidiosa* in september in België, met de beschrijving van de uitgevoerde beheersmaatregelen ingevolge deze detectie en een voorstel van toezichtsplan gedurende de volgende twee seizoenen, **(ii)** verschillende wetenschappelijke referenties, alsook **(iii)** expertopinie.

#### Antwoorden op de vragen

1. Op basis van de hierna opgelijste elementen, meer bepaald het feit dat een klein aantal olijfbomen een positief resultaat voor *X. fastidiosa* vertoonden, dat deze resultaten licht hoger waren dan de detectielimieten (= hoge Ct-waarden), dat de betrokken operator regelmatig een insecticidebehandeling toegepast heeft (= eliminatie van de vectorinsecten), dat uitroeiingsmaatregelen werden ingesteld en dat de bacterie niet kon worden aangetoond in de directe omgeving van het getroffen bedrijf, is het Wetenschappelijk Comité van mening dat het risico op verspreiding van *X. fastidiosa* in en rond het getroffen bedrijf laag is (matige onzekerheid).
2. Op basis van het feit dat slechts 13 olijfbomen afkomstig van de drie positieve partijen verkocht werden en dat 11 ervan teruggevonden werden en negatief waren, is het

Wetenschappelijk Comité van oordeel dat het risico op verspreiding van *X. fastidiosa* via de klanten van het getroffen bedrijf zeer laag is (matige onzekerheid).

3. Het Wetenschappelijk Comité is van oordeel dat de ingestelde beheersmaatregelen adequaat zijn en als model kunnen dienen voor de maatregelen in het noodplan bij een eventuele nieuwe insleep van *X. fastidiosa*, maar suggereert echter enkele wijzigingen, waaronder het gebruik van sweep netten in de plaats van chromatische vallen (gele vangplaten) om insecten te bemonsteren.
4. Het Wetenschappelijk Comité ondersteunt het toezichtsplan dat door het FAVV voorgesteld is gedurende de volgende twee seizoenen, maar stelt enkele aanpassingen voor, waaronder met name de aanplanting van vleugeltjesbloemen (*Polygala myrtifolia*) in het getroffen bedrijf als lokplant. Deze plantensoort is zeer vatbaar voor *X. fastidiosa*.
5. Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat de in dit geval waargenomen hoge Ct-waarden wijzen op een latente aanwezigheid van *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* in olijfbomen die uit Spanje ingevoerd zijn. Dit suggereert een lage aanwezigheidsgraad waarbij de bacterie zich niet echt vasthecht en bijgevolg de ziekte zich niet echt klinisch manifesteert.

### Onzekerheden

De onzekerheden in dit advies zijn deze die inherent zijn aan een expert opinie. Andere onzekerheden hebben te maken met het feit dat twee olijfbomen afkomstig van de eerste positieve partij niet konden teruggevonden worden en derhalve getest worden, het feit dat de subspecies van *X. fastidiosa* niet kon bepaald worden (door gebrek aan voldoende DNA hoeveelheid om de sequencerig ervan mogelijk te maken) en het feit dat de analyseresultaten licht hoger waren dan de detectielimieten (= hoge Ct-waarden) en dat op dit niveau het risico op 'vals positieven' significant geacht wordt.

### Conclusies

Op basis van de elementen van het technische dossier dat het FAVV overhandigde, meer bepaald de doorgevoerde uitroeiingsmaatregelen, oordeelt het Wetenschappelijk Comité dat het risico op verspreiding van *X. fastidiosa* in en rond het getroffen bedrijf laag is.

Bovendien ondersteunt het Wetenschappelijk Comité het toezichtsplan dat door het FAVV voorgesteld is gedurende de volgende twee seizoenen, maar stelt enkele aanpassingen voor.

### Aanbevelingen

In verband met de in te stellen maatregelen bij een eventuele nieuwe insleep van *X. fastidiosa* beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om:

- de subspecies te identificeren om het gastheerbereik te verfijnen en, bijgevolg, het aantal planten die moeten worden vernietigd te beperken,
- het gebied van 200 m rondom het getroffen bedrijf als inspectiegebied te beschouwen, zowel voor de nader omschreven planten als voor de vectorinsecten,
- sweep netten te gebruiken in plaats van chromatische vallen (gele vangplaten) om insecten te bemonsteren.

In verband met het voorgestelde toezichtsplan gedurende de twee volgende seizoenen beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om:

- zich te richten op de gebieden met een hogere plantendiversiteit bij het toezicht van de nader omschreven planten en vectorinsecten in de onmiddellijke nabijheid van het getroffen bedrijf,
- insecten te vangen in een gebied van 200 m rondom het getroffen bedrijf met sweep netten op twee tijdstippen (half augustus en half september), en de mogelijke aanwezigheid van DNA van *X. fastidiosa* te onderzoeken in alle dwergcicaden en alle (bekende of mogelijke) xyleemvoedende stekend-zuigende vectorinsecten,

- vleugeltjesbloemen als lokplant in het getroffen bedrijf aan te planten, en deze regelmatig te inspecteren op zoek naar mogelijke symptomen.

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om de *X. fastidiosa* detectiemethoden verder te standaardiseren en te valideren, zodat het risico op vals positieve resultaten geminimaliseerd wordt. De *cyclus-cutoff* en de bijbehorende detectielimiet in aantal kopieën van het doelwit-DNA zouden dienen bepaald te worden. Op basis van de huidige kennis dient de waarde van 35 als *cyclus-cutoff* beschouwd te worden.

## 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. Referentietermen

### 1.1. Gestelde vragen

Het Wetenschappelijk Comité wordt verzocht de volgende vragen te beantwoorden:

1. Wat is het risico van verspreiding van *Xylella fastidiosa* in en rond het getroffen bedrijf, rekening houdend met de lage concentratie die gedetecteerd werd op ingevoerde olijfbomen, met het moment van de introductie, met de verzamelde informatie over de aanwezige vectoren...?
2. Wat is het risico van verspreiding van *X. fastidiosa* via olijfbomen van hetzelfde lot als de besmette bomen bij de klanten van het getroffen bedrijf, rekening houdend met het feit dat er in de getraceerde bomen geen *X. fastidiosa* werd aangetoond, met het moment van de introductie en met de kennis over (mogelijke) vectoren in België?
3. Kunnen de uitgevoerde beheersmaatregelen (bv. vernietiging van de olijfbomen, gele vangplaten voor het vangen van vectoren) als model dienen voor maatregelen bij eventueel nieuwe introducties op te nemen in het noodplan?
4. Kan het Wetenschappelijk Comité het hierna voorgestelde toezichtsplan gedurende de twee volgende seizoenen ondersteunen? Meer bepaald wordt advies gevraagd over de werkwijze, over de ideale periode en over het onderzoek van de vectoren (o.a. vangwijze, moleculaire analyse van alle cicaden of enkel xyleem-voedende stekend-zuigende insecten, of enkel bepaalde soorten), de zin of onzin om hoge bomen op stam te bemonsteren.
5. Wat is de betekenis van detectie van *Xylella fastidiosa* met hoge Ct (*Cycle threshold*) waarden en welke conclusies kunnen hieruit getrokken worden naar de mogelijke verspreiding van de bacterie met inachtneming van de andere resultaten van het onderzoek (vectoren, planten in de omgeving)?

### 1.2. Wettelijke bepalingen

Richtlijn 2000/29/EG van de Raad van 8 mei 2000 betreffende de beschermende maatregelen tegen het binnenbrengen en de verspreiding in de Gemeenschap van voor planten en voor plantaardige producten schadelijke organismen.

Verordening (EU) 2016/2031 van het Europees Parlement en de Raad van 26 oktober 2016 betreffende beschermende maatregelen tegen plaagorganismen bij planten.

Uitvoeringsbesluit (EU) 2015/789 van de Commissie van 18 mei 2015 betreffende maatregelen om het binnenbrengen en de verspreiding in de Unie van *Xylella fastidiosa* (Wells et al.) te voorkomen.

Koninklijk besluit van 10 augustus 2005 betreffende de bestrijding van voor planten en plantaardige producten schadelijke organismen.

### 1.3. Methode

Het advies is gebaseerd op: **(i)** de beoordeling, door experts, van het technische dossier uitgewerkt door het FAVV met de resultaten van het onderzoek uitgevoerd naar aanleiding van de detectie van *X. fastidiosa* in september in België, met de beschrijving van de uitgevoerde beheersmaatregelen ingevolge deze detectie en een voorstel van toezichtsplan gedurende de volgende twee seizoenen, **(ii)** verschillende wetenschappelijke referenties, alsook **(iii)** expertopinie.



## 2. Definities & Afkortingen

Ct	<i>Cycle threshold</i> (= cyclusedrempel), in het kader van een kwantitatieve real time PCR stemt dit overeen met het minimum aantal vermeerderingscycli van het genetisch materiaal dat in het monster aanwezig is dat leidt tot een fluorescentiesignaal dat aanzienlijk hoger is dan de achtergrondruis (= detectie van het vermeerderd genetisch materiaal).
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i> (= Europese Autoriteit voor voedselveiligheid)
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> (= enzym-verbonden immunosorbent analyse)
EPPO	<i>European and Mediterranean Plant Protection Organization</i>
FAVV	Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen
LED	<i>Light emitting diode</i> (= licht uitzendende diode)
Nader omschreven planten	Waardplanten en alle voor opplant bestemde planten, met uitzondering van zaden, van de in bijlage I van het Uitvoeringsbesluit (EU) 2015/789 opgenomen geslachten of soorten, met name de planten waarvan bekend is dat zij vatbaar zijn voor de Europese en niet-Europese isolaten van <i>X. fastidiosa</i> .
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (= polymerasekettingreactie)
SciCom	Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen
VS	Verenigde Staten van Amerika
Waardplanten	Alle planten bestemd voor opplant, met uitzondering van zaden, van de geslachten en soorten die zijn opgenomen in de databank van de Commissie van voor <i>Xylella fastidiosa</i> vatbare waardplanten op het grondgebied van de Unie (cf. <a href="https://ec.europa.eu/food/plant/plant_health_biosecurity/legislation/emergency_measures/xylella-fastidiosa/susceptible_en">https://ec.europa.eu/food/plant/plant_health_biosecurity/legislation/emergency_measures/xylella-fastidiosa/susceptible_en</a> ) waarvan is vastgesteld dat zij op het grondgebied van de Unie vatbaar zijn voor <i>X. fastidiosa</i> of indien een lidstaat een gebied heeft afgebakend voor een of meer ondersoorten van <i>X. fastidiosa</i> .

Gelet op de besprekingen tijdens de werkgroepvergadering van 08/03/2019 en de plenaire zittingen van het Wetenschappelijk Comité van 22/02/2019 en 22/03/2019, alsook de definitieve elektronische goedkeuring van het voorlopig sneladvies door de leden van het Wetenschappelijk Comité op 10/04/2019,

**geeft het Wetenschappelijk Comité het volgend sneladvies:**

## 3. Context

*Xylella fastidiosa* (Wells et al.) is een fytopathogene bacterie die verantwoordelijk is voor tal van plantenziekten waarvan de economische, sociale en milieugerelateerde gevolgen zeer groot kunnen zijn. Daarom wordt deze bacterie op Europees niveau gereguleerd als schadelijk quarantaineorganisme (cf. Richtlijn 2000/29/EG, Verordening (EU) 2016/2031 en Koninklijk besluit van 10 augustus 2005): het binnenbrengen en het verspreiden ervan zijn verboden op het Europese grondgebied. Deze bacterie is sinds het einde van de XIX<sup>de</sup> eeuw gekend en verantwoordelijk voor 'Pierce's disease' bij druivelaars (*Vitis vinifera*) in de VS, waar ze geleid heeft tot de vernietiging van tienduizenden hectaren wijngaarden in Zuid-Californië. In het zuiden van de VS infecteert de bacterie eveneens verschillende species van het genus *Prunus* spp., zoals perzikboom (*P. persica*), amandelboom (*P. dulcis*), pruimenboom (*P. domestica*) en abrikozenboom (*P. armeniaca*), waarop ze symptomen als verkleuring van de bladeren veroorzaakt die tot het afsterven van de getroffen planten kan leiden. In Centraal en Latijns-Amerika infecteert de bacterie ook koffieplanten (*Coffea* spp.). De bacterie leidt eveneens tot bonte chlorose bij citrusvruchten, in het bijzonder bij sinaasappelbomen

(*Citrus sinensis*) in Zuid-Amerika, voornamelijk in Brazilië. In Europa is, sinds de aanwezigheid van de bacterie bevestigd werd in 2013 in Zuid-Italië (het zuiden van Apulië), deze bacterie verantwoordelijk voor het syndroom van de snelle achteruitgang van olijfbomen (*Olea europaea*) en heeft het afsterven van honderdduizenden olijfbomen, die vaak eeuwenoud waren, veroorzaakt. Ook in Europa werd later de bacterie gevonden in het zuidoosten van het continentale Frankrijk en in Corsica hoofdzakelijk op de vleugeltjesbloem (*Polygala myrtifolia*), alsook in Spanje, met name op de Balearen, hoofdzakelijk op amandelbomen, olijfbomen en druivelaars.

Naast de hoger vermelde soorten waardplanten, bestaan er zeer veel andere. De bacterie kan immers meer dan 300 plantensoorten besmetten die tot meer dan 60 botanische families behoren (EFSA, 2018). Bijvoorbeeld, oleander (*Nerium oleander*), eik (*Quercus* spp.), Westerse plataan (*Platanus occidentalis*), esdoorn (*Acer* spp.) en rozemarijn (*Rosmarinus officinalis*) zijn eveneens vatbaar voor de bacterie.

In de species *X. fastidiosa* zijn er over het algemeen vier belangrijke subspecies erkend: *X. f.* subsp. *fastidiosa*, *X. f.* subsp. *multiplex*, *X. f.* subsp. *pauca* en *X. f.* subsp. *sandyi*. Er zouden echter ook nog andere bestaan. Iedere subspecies heeft min of meer zijn eigen verspreidingsgebied en voorkeuren wat de soorten waardplanten betreft.

Bij besmette planten bevindt *X. fastidiosa* zich uitsluitend op het niveau van het xyleem, met name in de watervoerende kanalen (water en minerale zouten) van de wortel naar het blad. De symptomen zijn een gevolg van een verstoorde bevoorrading van water naar de bladeren en kunnen gemakkelijk doorgaan voor schade te wijten aan droogte (figuur 1). Vaak vertonen de bladeren een herfstverkleuring met uitdroging aan de bladrand dikwijls met een gele begrenzing, gevolgd door verdroging van bladeren en takken, groeivertraging en uiteindelijk volledige uitdroging van de plant. De symptomen zijn min of meer uitgesproken naargelang de getroffen plantensoort, de aanwezige subspecies van *X. fastidiosa* en de omgevingsomstandigheden. De bacterie is zowel aanwezig in de luchtorganen (bladeren, takjes, vruchten) als in de wortels. De meest sterke bacteriële concentraties zijn terug te vinden in de bladstelen en de bladnerven. Behalve in het equatoriaal gebied evolueert de bacteriële concentratie in het weefsel ook naargelang de seizoenen (maximaal in de zomer en minimaal in de winter) in het noordelijk halfrond en de weersomstandigheden.



**Figuur 1.** Symptomen vastgesteld op druivelaars (links) en op olijfbomen (rechts) wat met *X. fastidiosa* besmette planten betreft. Bron: EPP0 Global Database (<https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFA/photos>).

De besmetting van de planten en de verspreiding van de ziekte gebeurt hoofdzakelijk door bepaalde stekend-zuigende vectorinsecten die zich voeden met het sap van het xyleem. Ze behoren tot de orde van de halfvleugeligen (*Hemiptera*). Het betreft meer bepaald de schuimcicade (*Philaenus spumarius*)

van de familie van de *Aphrophoridae*, sommige dwergcicaden van de familie van de *Cicadellidae* en sommige cicaden die behoren tot de families van de *Cicadidae* en *Tibicinidae*. In Apulië (Italië) is de schuimcicade (figuur 2) de voornaamste vector van *X. fastidiosa*. Dit insect wordt in heel Europa en dus ook in België courant waargenomen.



Figuur 2. Schuimcicade (*Philaenus spumarius*). Bron: Flickr ([https://www.flickr.com/photos/overton\\_cat/2766563572](https://www.flickr.com/photos/overton_cat/2766563572)).

In september 2018 werd *X. fastidiosa* voor de eerste keer in België aangetroffen. Bij een officiële controle door het FAVV werden symptomen van verschrompeling van de bladeren vastgesteld op olijfbomen bij een plantengroothandel in de provincie West-Vlaanderen. Er werden monsters genomen van drie olijfbomen die symptomen vertoonden en de analysesresultaten bleken positief te zijn. Het ging om een eerste partij van olijfbomen ingevoerd uit het Spaanse vasteland (Elche, Alicante) in België op 21/05/2018. Tijdens het onderzoek werd *X. fastidiosa* eveneens gedetecteerd op een partij (op basis van een 'gemengd' monster) van twaalf asymptomatische olijfbomen (= tweede partij) die op 8/08/2018 ingevoerd werd en die afkomstig was van een andere Spaanse leverancier (Ecija, Sevilla), op één andere symptomatische olijfboom van een derde partij die op 17/09/2018 werd ingevoerd en die afkomstig was van dezelfde leverancier als de eerste partij evenals op drie asymptomatische olijfbomen afkomstig van deze eerste partij.

Na bevestiging van de resultaten werden alle olijfbomen met een positief resultaat op 28/09/2018 vernietigd. Bovendien heeft de betrokken operator, ook op 28/09/2018, geopteerd voor de vernietiging van alle andere olijfbomen, hoewel negatief, die in het betrokken bedrijf aanwezig waren. Elf (waarvan tien ondertussen door particulieren gekocht waren) van de dertien olijfbomen die uit de eerste positieve partij verkocht waren, konden teruggevonden worden en, hoewel negatief, werden deze eveneens vernietigd. De twee andere olijfbomen konden niet teruggevonden worden. Er werden geen olijfbomen uit de andere twee partijen die een positieve diagnose hadden, verkocht. Deze olijfbomen waren dus nog bij de operator aanwezig op het moment van de bemonstering en, zoals hoger vermeld, werden onmiddellijk hierna vernietigd. De betrokken operator heeft ook op dezelfde manier geopteerd voor de vernietiging, op 17/10/2018, van alle andere gespecificeerde planten in het getroffen bedrijf, in plaats van ze gedurende ten minste negen maanden in quarantaine te houden.

Een chronologisch overzicht van de gebeurtenissen met betrekking tot deze detectie van *X. fastidiosa*, waaronder sommige hieronder besproken worden, wordt hieronder gegeven:

- 21/05/2018:
  - o invoer 1<sup>ste</sup> positieve partij (24 olijfbomen)
- 08/08/2018:
  - o invoer 2<sup>de</sup> positieve partij (12 olijfbomen)

- 05/09/2018:
  - o aantreffing van symptomen op 3 olijfbomen (uit de 1<sup>ste</sup> positieve partij) bij een officiële controle uitgevoerd door het FAVV
  - o gezamenlijke bemonstering van deze 3 olijfbomen
- 11/09/2018:
  - o detectie van *X. fastidiosa* maar zonder bevestiging
- 17/09/2018:
  - o individuele herbemonstering van deze 3 olijfbomen
  - o invoer 3<sup>de</sup> positieve partij (10 olijfbomen)
- 27/09/2018:
  - o bevestigde detectie van *X. fastidiosa* op de 3 symptomatische olijfbomen afkomstig van de 1<sup>ste</sup> positieve partij
- 28/09/2018:
  - o blokkering van het bedrijf
  - o inspectie + bemonstering van alle aanwezige gespecificeerde planten (de asymptomatische olijfbomen afkomstig van de 1<sup>ste</sup> positieve partij en, de 2<sup>de</sup> en 3<sup>de</sup> positieve olijfbomen partijen inbegrepen)
  - o vernietiging van alle aanwezige olijfbomen
- 02/10/2018:
  - o plaatsing van 50 chromatische vallen (gele vangplaten) in en rond het bedrijf
- 04/10/2018:
  - o 1<sup>ste</sup> aflezing van de vallen + analyse: afwezigheid van vectorinsect + afwezigheid van *X. fastidiosa*
- 05/10/2018:
  - o bevestigde detectie van *X. fastidiosa* voor een partij van 12 asymptomatische olijfbomen (= 2<sup>de</sup> positieve partij), op één olijfbom afkomstig van de 3<sup>de</sup> positieve partij maar ook op 3 asymptomatische olijfbomen afkomstig van de 1<sup>ste</sup> positieve partij
- 14/10/2018:
  - o hoewel negatief, vernietiging van de 11 olijfbomen die konden teruggevonden worden op de 13 die verkocht waren vanaf de 1<sup>ste</sup> positieve partij
- 15/10/2018:
  - o 2<sup>de</sup> aflezing van de vallen + analyse: afwezigheid van vectorinsect + afwezigheid van *X. fastidiosa*
- 17/10/2018:
  - o hoewel negatief, vernietiging van alle aanwezige gespecificeerde planten
- 19/10/2018:
  - o deblokkering van het bedrijf
- 25/10/2018:
  - o 3<sup>de</sup> aflezing van de vallen + analyse: aanwezigheid van één specimen van *Cicadella viridis* (mogelijke vectorinsect) + afwezigheid van *X. fastidiosa*

Bij gebrek aan een voldoende hoeveelheid bacteriële DNA was het niet mogelijk de subspecies van *X. fastidiosa* te bepalen die gedetecteerd werd op de positieve olijfbomen (noch door het sequencen van het gedetecteerde genetisch materiaal, noch door het uitvoeren van moleculaire testen).

Het Uitvoeringsbesluit (EU) 2015/789 voorziet een uitzondering op de instelling van afgebakende gebieden en de toepassing van strikte uitroeiingsmaatregelen (verwijdering en vernietiging van nader omschreven planten in een straal van 100 m rond de besmette planten, handelsbeperkingen in een gebied van 5 km...) in geval van een recente insleep zonder verspreiding van *X. fastidiosa* (cf. art. 4., paragraaf 6). Er moeten echter drie voorwaarden vervuld zijn:

1. er zijn bewijzen dat *X. fastidiosa* recent in het gebied is binnengebracht met de planten waarop het is aangetroffen of de aanwezigheid van *X. fastidiosa* werd vastgesteld op een fysiek beschermde locatie tegen de vectoren van dit organisme;
2. alles wijst erop dat deze planten besmet waren voordat ze in het betrokken gebied binnengebracht werden;
3. in de nabijheid van de planten zijn, na overeenkomstig internationaal gevalideerde testmethoden uitgevoerde tests, geen vectoren van *X. fastidiosa* geconstateerd.

Het Uitvoeringsbesluit (EU) 2015/789 voorziet eveneens (cf. Art. 4, paragraaf 7) dat, in het hoger bedoelde geval, de betrokken Lidstaat:

1. gedurende ten minste twee jaar een jaarlijks onderzoek uitvoert naar eventuele besmetting van andere planten dan die waarop *X. fastidiosa* in eerste instantie werd aangetroffen;
2. op grond van dit onderzoek bepaalt of het noodzakelijk is een afgebakend gebied in te stellen;
3. aan de Commissie en de andere Lidstaten de redenen opgeeft waarom geen afgebakend gebied is ingesteld en het resultaat meedeelt – van zodra dit beschikbaar is – van het onder punt 1. bedoelde onderzoek.

Dit advies betreft bijgevolg de beoordeling van het technisch dossier uitgewerkt door het FAVV in het kader van het Uitvoeringsbesluit (EU) en waarvan het de bedoeling is aan te tonen dat het niet nodig is afgebakende gebieden in te stellen, noch strikte uitroeiingsmaatregelen toe te passen die in dit besluit voorzien zijn.

## 4. Antwoorden op de vragen

### **4.1. Wat is het risico van verspreiding van *X. fastidiosa* in en rond het getroffen bedrijf, rekening houdend meer bepaald met de lage concentratie die gedetecteerd werd op ingevoerde olijfbomen, met het moment van de introductie, met de verzamelde informatie over de aanwezige vectoren...?**

De hierna opgelijste elementen werden ter beschikking gesteld van het Wetenschappelijk Comité en hebben gediend om het risico op verspreiding te beoordelen.

#### Met betrekking tot de olijfbomen bij de betrokken operator:

- De eerste positieve partij (ingevoerd op 21/05/2018) bevatte 24 olijfbomen waarvan er 13 aan andere operatoren verkocht waren. Elf van deze 13 verkochte olijfbomen konden teruggevonden worden. Van de 22 olijfbomen (11 verkocht en teruggevonden + 11 nog bij de betrokken operator), waren er 6 (= 27,3%) positief voor *X. fastidiosa*, dat wil zeggen met een analysesresultaat licht hoger dan de detectielimieten, wat overeenkomt met een Ct-waarde (*Cycle threshold*) lager dan 38 op basis van een detectie door een kwantitatieve real time PCR van het TaqMan® type volgens Harper et al. (2010) of van het SYBR Green® type volgens Francis et al. (2006). De 22 olijfbomen werden vernietigd.
- Alle olijfbomen van de andere twee partijen die een positieve diagnose hadden, waren nog aanwezig bij de operator op het ogenblik van de bemonstering. Deze olijfbomen werden eveneens na bemonstering vernietigd, hetzij 22 olijfbomen (= 10 + 12).
- Uit voorzorg werden alle andere olijfbomen bij de betrokken operator rechtstreeks na bemonstering op 28/09/2018 vernietigd (optie gekozen door de operator), hetzij een totaal van 171 olijfbomen.
- Maximum 19 olijfbomen zijn positief of mogelijk positief op een totaal van 215 vernietigde olijfbomen: 6 olijfbomen afkomstig van de 1<sup>ste</sup> ingevoerde partij + 1 positieve partij van 12 olijfbomen ingevolge de 2<sup>de</sup> invoer + 1 olijfbom afkomstig van de 3<sup>de</sup> ingevoerde partij. Hetzij een maximum van 8,8% (= 19/215) olijfbomen die mogelijk besmet zijn met *X. fastidiosa*.
- Naast de olijfbomen waarvan hoger sprake is, werden er 382 andere olijfbomen ingevoerd door de betrokken operator afkomstig van dezelfde twee Spaanse leveranciers en sinds begin

2018 verkocht aan 99 Belgische professionele operatoren. Er werden tweeëntwintig monsters genomen om de olijfbomen van deze groep die bij deze operatoren konden teruggevonden worden, te karakteriseren. Alle monsters waren negatief.

Met betrekking tot de andere nader omschreven planten bij de betrokken operator:

- De andere planten die vatbaar zijn voor *X. fastidiosa* (= gespecificeerde planten) en aanwezig bij de betrokken operator werden op 28/09/2018 gecontroleerd en geanalyseerd. Er werden geen symptomen aangetroffen en geen enkele bleek positief te zijn voor *X. fastidiosa*. Uit voorzorg werden deze planten bij de betrokken operator op 17/10/2018 vernietigd (optie gekozen door de operator, aangezien de andere optie is dat ze gedurende ten minste 9 maanden in quarantaine moeten bewaard worden) hetzij in totaal meer dan 5 000 planten.
- Tussen 21/05/2018, invoerdatum van de eerste partij positieve olijfbomen, en 28/09/2018, datum waarop het FAVV het getroffen bedrijf blokkeerde, zijn andere planten die vatbaar zijn voor *X. fastidiosa* (= gespecificeerde planten) in transit geweest (= buitenopslag en daarna verkocht). Bijgevolg konden deze planten noch gecontroleerd, noch geanalyseerd worden.
- Het Wetenschappelijk Comité sluit de hypothese, die het zeer onwaarschijnlijk acht, uit dat olijfbomen in België besmet worden door andere planten die vatbaar zijn voor *X. fastidiosa* bij de betrokken operator op het ogenblik dat de olijfbomen ingevoerd werden. Hiervoor baseert het Wetenschappelijk Comité zich op meerdere vaststellingen : **(i)** de derde partij olijfbomen werd positief getest binnen de 15 dagen na invoer in België, hetgeen erop wijst dat de bacterie zeer zeker reeds aanwezig was in de olijfbomen voor ze uit Spanje uitgevoerd werden ; **(ii)** in het verslag van het FAVV is er sprake van aanwezigheid van vleugeltjesbloemen, *Polygala myrtifolia*, maar deze planten waren uitsluitend in het overdekte deel (= in de serre) opgeslagen en vertoonden geen symptomen (terwijl het gaat om één van de meest vatbare plantensoorten voor *X. fastidiosa* ongeacht de subspecies) en ze werden bijna allemaal snel verkocht na de invoer van de eerste positieve partij olijfbomen; **(iii)** bovendien werden, zoals hoger aangegeven, de andere mogelijk voor *X. fastidiosa* vatbare planten bij de betrokken operator gecontroleerd en geanalyseerd en zij waren noch symptomatisch, noch positief voor *X. fastidiosa*.

Met betrekking tot de DNA-analyses van *Xylella fastidiosa*:

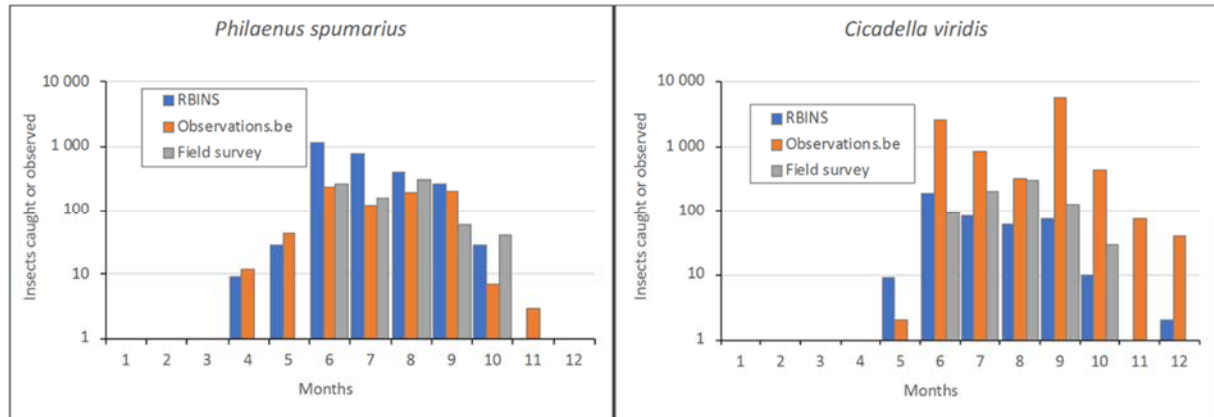
- Alle analyseresultaten van de olijfbomen waarop *X. fastidiosa* gedetecteerd werd, waren licht hoger dan de detectielimieten van de verschillende toegepaste analysemethoden, met name een kwantitatieve real time PCR van het TaqMan® type volgens Harper et al. (2010) of van het SYBR Green® type volgens Francis et al. (2006). Deze resultaten, namelijk de hoge Ct-waarden, wijzen op de aanwezigheid van een kleine hoeveelheid DNA afkomstig van *X. fastidiosa*. Inderdaad, hoe minder bacteriën aanwezig des te meer is het nodig om het in het monster aanwezige genetische materiaal te vermeerderen. Bijgevolg is het nodig om een fluorescentiesignaal te verkrijgen dat significant groter is dan de achtergrond om het aantal kwantitatieve real time PCR-vermeerderingscycli te vergroten. In het diagnoseprotocol (PM 7/24 (3)) van *X. fastidiosa* van EPPO (EPPO, 2018) wordt echter verduidelijkt dat de analyseresultaten met een Ct-waarde hoger dan 35 op basis van een detectie via kwantitatieve TaqMan® real time PCR volgens Harper et al. (2010) als 'niet overtuigend' zouden dienen beschouwd te worden. Indien enkel de volgens deze methode verkregen resultaten in overweging worden genomen en indien eerder deze drempel van 35 dan die van 38 als referentie wordt genomen (cf. hoger), dan waren slechts 3 van de 22 olijfbomen uit de eerste positieve partij (13,6%) positief en slechts 4 olijfbomen op een totaal van 215 vernietigde olijfbomen (1,9%).
- Deze analysemethoden zijn over het algemeen zeer gevoelig, maar het risico op 'vals-positieven' is significant bij waarden in de buurt van de detectielimieten. Dat wil zeggen voor elk Ct-waarde tussen 35 en 38. Daarom beveelt het Wetenschappelijk Comité aan, op basis van de huidige kennis, om alleen de drempelwaarde van 35 te beschouwen, teneinde een besluit

te nemen over de positiviteit van het geanalyseerde monster (= zekerheid van detectie van *X. fastidiosa* wanneer de Ct-waarde lager is dan 35). De detectiemethoden zouden nochtans verder gestandaardiseerd en gevalideerd dienen te worden, zodat het risico op vals positieve resultaten geminimaliseerd wordt. De statistische procedure ontwikkeld door Chandelier et al. (2010) zou bijvoorbeeld kunnen toegepast worden om de *cyclus-cutoff*, namelijk het aantal cycli waarboven monsters als negatief dienen beschouwd te worden, en de bijhorende detectielimiet van het aantal kopieën van het doelwit-DNA te bepalen.

- Bij gebrek aan voldoende hoeveelheid bacteriële DNA was het niet mogelijk de subspecies van *X. fastidiosa* te bepalen die gedetecteerd werd op de positieve olijfbomen (noch door het sequencen van het gedetecteerde genetisch materiaal, noch door het uitvoeren van moleculaire testen). Indien er onzekerheid over de aard van de subspecies blijft bestaan, is het mogelijk dat het over de subspecies *multiplex* gaat. Immers, enkel deze subspecies is aanwezig op het Spaanse vasteland van waaruit de positieve olijfbomen werden geïmporteerd. Deze subspecies is er hoofdzakelijk beperkt tot amandelbomen, maar werd geïdentificeerd op één olijfbom in de regio van Madrid. Van deze subspecies is het gekend dat deze weinig compatibel (= geringe vermeerdering) is met olijfbomen (Krugner et al., 2014). Bovendien vertonen de olijfbomen die in België als positief gediagnosticeerd zijn zeer weinig symptomen en enkel kleine hoeveelheden bacteriële DNA werden hierin waargenomen (= hoge Ct-waarden). Deze vaststellingen suggereren dat de positieve olijfbomen die in België ingevoerd werden, latente dragers waren van de subspecies *multiplex*.

Met betrekking tot de aanwezigheid van vectorinsecten bij de betrokken operator, die noodzakelijk zijn voor de verspreiding van de bacterie:

- Alle olijfbomen waren buiten opgeslagen bij de betrokken operator. Deze laatste heeft gedurende de opslagperiode om de 15 dagen een insecticidebehandeling toegepast.
- Van 2/10/2018 tot 25/10/2018 heeft het FAVV de aanwezigheid getoetst van vectorinsecten in en rond het bedrijf door middel van 50 chromatrische vallen (gele vangplaten). Er werden nooit schuimcicaden, de voornaamste gekende vectoren van *X. fastidiosa*, gedetecteerd. Nochtans is in België deze species nog actief in oktober weliswaar 10 tot 100 maal minder dan tijdens de periode juni-september (figuur 3). Onder de opgevangen insecten wordt enkel de groene dwergcicade *Cicadella viridis*, als mogelijke vector voor *X. fastidiosa* beschouwd. Echter, hoewel in België deze species nog in oktober actief is (figuur 3), werd enkel een specimen van *C. viridis* gevangen en dit buiten het getroffen bedrijf en er werd geen detecteerbaar spoor van DNA van *X. fastidiosa* aangetroffen.
- De eerste en tweede positieve partijen olijfbomen hebben respectievelijk ongeveer 4 en 2 maanden (= vernietiging van de twee partijen op 28/09/18 maar invoer op 21/05/18 voor de eerste en op 08/08/18 voor de tweede) buiten gestaan. De bemonstering en analyse van de nader omschreven planten en vectorinsecten in de directe omgeving vond pas in oktober plaats. Ondanks regelmatige insecticidebehandelingen bestaat de hypothese dat *X. fastidiosa* werd verspreid door vectorinsecten in deze periode (mei-september), hetzij verder dan 200 m vanaf de rand van het bedrijf of naar andere planten die aanwezig waren binnen het bedrijf en die vóór september verkocht werden. Het Wetenschappelijk Comité beschouwt deze hypothese echter hoogst onwaarschijnlijk, gezien **(i)** de regelmatige insecticidebehandelingen die door de operator toegepast werden en **(ii)** de vangstresultaten van de vectorinsecten waarvan sprake hierboven (hoofdvectoren en bacterie niet gedetecteerd).



**Figuur 3.** Evolutie van de populatieabundantie schuimcicaden (*Philaenus spumarius*) (figuur links) en groene dwergcicaden (*Cicadella viridis*) (figuur rechts), in België in de loop van het jaar. Bron: onderzoeksproject “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” (op basis van observaties op het terrein, van gegevens afkomstig van het Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen en van gegevens afkomstig van het observatienetwerk Observations.be).

Met betrekking tot de aanwezigheid van nader omschreven planten rond het getroffen bedrijf:

- In een gebied van 200m rond het getroffen bedrijf zijn de aanwezige planten weinig divers aangezien er aan één kant van het bedrijf een industriegebied is en langs de andere kant het hoofdzakelijk velden en weiden zijn. Er werden echter door het FAVV ‘gemengde’ monsters genomen van mogelijk vatbare planten voor *X. fastidiosa* en voor ieder monster, elke plantensoort werd een afzonderlijke analyse uitgevoerd voor wat de eventuele aanwezigheid van de bacterie betreft. In geen enkele van deze monsters werd *X. fastidiosa* aangetroffen.

Op basis van de hoger opgelijste elementen, meer bepaald het feit dat een klein aantal olijfbomen een positief resultaat voor *X. fastidiosa* vertoonden, dat deze resultaten licht hoger waren dan de detectielimieten (= hoge Ct-waarden), dat de betrokken operator regelmatig een insecticidebehandeling toegepast heeft (= eliminatie van de vectorinsecten), dat uitroeiingsmaatregelen werden ingesteld en dat de bacterie niet kon worden aangetoond in de directe omgeving van het getroffen bedrijf, is het Wetenschappelijk Comité van mening dat **het risico op verspreiding** van *X. fastidiosa* in en rond het getroffen bedrijf **laag** is (op een schaal van 5 gradaties zoals deze gebruikt door EPPO (EPPO, 2011): ‘zeer laag’ > ‘laag’ > ‘matig’ > ‘hoog’ > ‘zeer hoog’).

De **onzekerheid** in verband met deze beoordeling is **matig** (op een schaal van 3 gradaties zoals deze gebruikt door EPPO (EPPO, 2011): ‘laag’ > ‘matig’ > ‘hoog’), aangezien de subspecies niet kon bepaald worden (door gebrek aan voldoende DNA hoeveelheid om de sequencerig ervan mogelijk te maken) en, aangezien de analyseresultaten amper hoger waren dan de detectielimieten (= hoge Ct-waarden) en dat op dit niveau het risico op ‘vals positieven’ significant geacht wordt.



**4.2. Wat is het risico van verspreiding van *X. fastidiosa* via olijfbomen van hetzelfde lot als de besmette bomen bij de klanten van het getroffen bedrijf, rekening houdend met het feit dat er in de getraceerde bomen geen *X. fastidiosa* werd aangetoond, met het moment van de introductie en met de kennis over (mogelijke) vectoren in België?**

De hierna opgelijste elementen werden ter beschikking gesteld van het Wetenschappelijk Comité en hebben gediend om het risico op verspreiding via klanten te beoordelen.

- Zoals vermeld in punt 4.1, werden van de drie partijen positief gediagnosticeerde olijfbomen slechts 13 olijfbomen verkocht aan andere Belgische professionele operatoren. Deze olijfbomen waren allemaal afkomstig van de eerste positieve partij (ingevoerd op 21/05/2018).
- Deze 13 olijfbomen verbleven bij deze operatoren waar ze andere planten konden besmetten maar, aangezien de 11 olijfbomen die konden teruggevonden worden negatief bleken te zijn, lijkt dit zeer onwaarschijnlijk.

Op basis van het feit dat slechts 13 olijfbomen afkomstig van de drie positieve partijen verkocht werden en dat 11 ervan teruggevonden werden en negatief waren, is het Wetenschappelijk Comité van oordeel dat het **risico op verspreiding** van *X. fastidiosa* via de klanten van het getroffen bedrijf **zeer laag** is (op een schaal van 5 gradaties zoals deze gebruikt door EPPO (EPPO, 2011): 'zeer laag' > 'laag' > 'matig' > 'hoog' > 'zeer hoog').

De **onzekerheid** in verband met deze beoordeling is **matig** (op een schaal van 3 gradaties zoals deze gebruikt door EPPO (EPPO, 2011): 'laag' > 'matig' > 'hoog') aangezien 2 olijfbomen van de eerste positieve partij niet teruggevonden konden worden, aangezien de subspecies niet kon bepaald worden (door gebrek aan voldoende DNA hoeveelheid om de sequencerig ervan mogelijk te maken) en aangezien de analyseresultaten licht hoger waren dan de detectielimieten (= hoge Ct-waarden) en dat op dit niveau het risico op 'vals positieven' significant geacht wordt.

**4.3. Kunnen de uitgevoerde beheersmaatregelen (bv. vernietiging van de olijfbomen, gele vangplaten voor het vangen van vectoren) als model dienen voor maatregelen bij eventueel nieuwe introducties op te nemen in het noodplan?**

Zoals vermeld in punt 3, bestond de gevolgde aanpak erin alle olijfbomen afkomstig van de positief gediagnosticeerde partijen zo snel mogelijk na bevestiging van de detectie te vernietigen, evenals alle andere olijfbomen en andere gespecificeerde planten aanwezig bij de betrokken operator. Bovendien werd een inspectiezone van 200 m rond het getroffen bedrijf afgebakend en werden mogelijke vectorinsecten van *X. fastidiosa* gevangen en geanalyseerd, alsook werden aanwezige planten die mogelijk vatbaar zijn voor *X. fastidiosa* bemonsterd en geanalyseerd.

Het Wetenschappelijk Comité is van oordeel dat de ingestelde beheersmaatregelen adequaat zijn en als model kunnen dienen voor de maatregelen in het noodplan bij een eventuele nieuwe insleep van *X. fastidiosa*.

Het Wetenschappelijk Comité suggereert echter voor dit plan de volgende wijzigingen:

- Om het aantal planten die moeten worden vernietigd te beperken, beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om de aanwezige bacteriële subspecies van *X. fastidiosa* te identificeren (bij voorkeur, door het sequencen van het gedetecteerde genetisch materiaal). Om deze te kunnen bepalen en bijgevolg het gastheerbereik te verfijnen beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om onder strikte bioveiligheidsmaatregelen, levende planten waarop de bacterie werd gedetecteerd naar een afgesloten ruimte van een nationaal

referentielaboratorium over te brengen voor een grondige studie, zoals deze uitgevoerd in Nederland op koffieplanten die er ingevoerd waren vanuit Centraal-Amerika in 2014.

- Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan te verduidelijken dat het inspectiegebied, waarvan hoger sprake, overeen moet komen met een uitbreidingsgebied van 200 m vanaf de rand van het bedrijf en dat deze afstand zowel van toepassing is voor de bemonstering van de planten als voor het plaatsen van insectenvallen.
- Aangezien het gebruik van chromatische vallen (gele vangplaten) de analyse van gevangen insecten en de extractie van *X. fastidiosa* bemoeilijkt, beveelt het Wetenschappelijk Comité aan sweep netten te gebruiken om insecten te bemonsteren en dit mits naleving van een strikt bemonsteringsplan (door middel van transects, met een vaste bemonsteringsduur en gericht op de vluchtperiodes van de vectoren).

**4.4. Kan het Wetenschappelijk Comité het hierna voorgestelde toezichtsplan gedurende de twee volgende seizoenen ondersteunen? Meer bepaald wordt advies gevraagd over de werkwijze, over de ideale periode en over het onderzoek van de vectoren (o.a. vangwijze, moleculaire analyse van alle cicaden of enkel xyleem-voedende stekend-zuigende insecten, of enkel bepaalde soorten), de zin of onzin om hoge bomen op stam te bemonsteren.**

Het toezichtsplan dat het FAVV voorstelt gedurende de volgende twee seizoenen bestaat uit het monitoren van zowel de planten (in het bedrijf + een gebied van 200m daarbuiten) als de insecten (in het bedrijf + een gebied van 100m daarbuiten), gedurende de maanden augustus-september. De gespecificeerde planten in het gebied buiten het bedrijf zullen individueel worden bemonsterd ongeacht de symptomen, terwijl binnen het bedrijf de monsters afkomstig van de verschillende planten zullen worden bijeengebracht (*pooling*), behalve voor de planten met symptomen. De analyse van insecten zal gebeuren per soort en per val.

De volgende aanpassingen worden voorgesteld:

- In verband met de monitoring van de nader omschreven planten en vectorinsecten in de directe omgeving van het getroffen bedrijf suggereert het Wetenschappelijk Comité om de zones met een grotere plantendiversiteit als doelwit te nemen.
- Zoals vermeld bij punt 4.3., beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om het gebied voor het plaatsen van insectenvallen op 200 m te brengen. Het Comité suggereert om een eerste vangst half augustus uit te voeren en een tweede half september.
- Met betrekking tot de bemonstering en de analyse van asymptomatische planten, kunnen 'gemengde' monsters (= bestaande uit submonsters van verschillende plantensoorten) genomen worden maar het is noodzakelijk om aan te geven dat analyses gericht op de detectie van *X. fastidiosa* afzonderlijk dienen uitgevoerd te worden, voor elke plantensoort aanwezig in elk van deze 'gemengde' monsters.
- Het Wetenschappelijk Comité benadrukt dat door het feit dat er geen echte haard van *X. fastidiosa* is, het weinig waarschijnlijk is dat de bacterie wordt gedetecteerd, gezien die in zeer kleine hoeveelheden aanwezig was.
- Er zouden eveneens vleugeltjesbloemen (*Polygala myrtifolia*), planten die zeer vatbaar zijn voor *X. fastidiosa*, in het getroffen bedrijf kunnen aangeplant worden en als lokplant gebruikt worden om na te gaan of de bacterie zich niet gevestigd heeft (hiermee wordt bedoeld een regelmatige inspectie van deze planten om elk symptoom op te sporen dat met een eventuele infectie door de bacterie gepaard gaat).
- Zoals vermeld bij punt 4.3., beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om sweep netten te gebruiken in de plaats van chromatische vallen (gele vangplaten) om insecten te bemonsteren.
- Wat betreft de insecten, is het aangeraden om de mogelijke aanwezigheid van DNA van *X. fastidiosa* te onderzoeken in alle dwergcicaden en alle (bekende en potentiële) xyleem-voedende stekend-zuigende vectorinsecten.

- Wat betreft de bemonstering van de hoge bomen op stam, is het om praktische redenen aanvaardbaar om de meest toegankelijke planten te kiezen, tenzij symptomen op deze bomen waargenomen worden of als ze een voorkeurswaardsoort zijn van een (bekend of potentieel) vectorinsect, zoals de verschillende wilgensoorten (*Salix* spp.) die waardplanten zijn voor *Aphrophora salicina*.

#### 4.5. Wat is de betekenis van detectie van *X. fastidiosa* met hoge Ct (Cycle threshold) waarden en welke conclusies kunnen hieruit getrokken worden naar de mogelijke verspreiding van de bacterie met inachtneming van de andere resultaten van het onderzoek (vectoren, planten in de omgeving)?

De waargenomen hoge Ct-waarden kunnen aan de hand van verschillende elementen worden verduidelijkt.

- Ten eerste, de bemonsteringsplaats: aangezien *X. fastidiosa* zich niet op een homogene manier in de besmette plant verspreidt, is het belangrijk zich te richten op die delen waarop de bacterie zich vooral bevindt, namelijk niet alleen de bladsteel en de bladnerven, maar ook het hout. In dit geval had men bijgevolg takjes moeten nemen en laten analyseren met inbegrip van de bladeren, vooral in afwezigheid van symptomen. Bovendien wordt afgeraden jonge stelen/bladeren (= van het jaar zelf) te bemonsteren maar bij voorkeur monsters te nemen van rijpe bladeren/takjes.
- Ten tweede, de analysemethode: de methode die binnenkort de referentiemethode wordt is deze van de detectie door kwalitatieve TaqMan® real time PCR volgens Harper et al. (2010). Er bestaan andere analysemethoden, maar die leiden niet tot meer nauwkeurige resultaten. Serologische tests (vb. ELISA) moeten vermeden worden voor het opsporen van de bacterie op asymptomatische planten.
- Ten derde, het materiaal dat bij de analyse wordt gebruikt: voor éénzelfde opsporingsmethode door middel van de kwalitatieve TaqMan® real time PCR leidt het gebruik van een laserdetector tot nauwkeurigere resultaten dan het gebruik van een LED-detector.
- Ten vierde, de vorm waaronder *X. fastidiosa* zich in de besmette plant bevindt. De bacterie komt immers ofwel verspreid voor, de 'planktonische' vorm, ofwel onder de vorm van aggregaten/biofilms. In het tweede geval zullen de waargenomen Ct-waarden lager zijn en zullen ze blijken geven van een hogere concentratie van de bacterie in de besmette plant (en bijgevolg van haar genetisch materiaal).

Zoals vermeld in punt 4.1., is het Wetenschappelijk Comité van mening dat de in dit geval waargenomen hoge Ct-waarden wijzen op een latente aanwezigheid van *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* in olijfbomen die uit Spanje ingevoerd zijn. Dit suggereert een lage aanwezigheidsgraad waarbij de bacterie zich niet echt vasthecht en bijgevolg de ziekte zich niet echt klinisch manifesteert. Zonder rekening te houden met de ingestelde beheersmaatregelen, maar enkel op basis van de analyseresultaten wordt het risico op verspreiding van de bacterie als **matig** beoordeeld (op een schaal van 5 gradaties zoals deze gebruikt door EPPO (EPPO, 2011): 'zeer laag' > 'laag' > 'matig' > 'hoog' > 'zeer hoog').

## 5. Onzekerheden

De onzekerheden in dit advies zijn deze die inherent zijn aan een expert opinie. Andere onzekerheden hebben te maken met het feit dat twee olijfbomen afkomstig van de eerste positieve partij niet konden teruggevonden worden en derhalve getest, het feit dat de subspecies van *X. fastidiosa* niet kon bepaald worden (door gebrek aan voldoende DNA hoeveelheid om de sequencerig ervan mogelijk te maken) en het feit dat de analyseresultaten licht hoger waren dan de detectielimieten (= hoge Ct-waarden) en dat op dit niveau het risico op 'vals positieven' significant geacht wordt.

## 6. Conclusies

Op basis van de elementen van het technische dossier dat het FAVV overhandigde, meer bepaald de doorgevoerde uitroeiingsmaatregelen, oordeelt het Wetenschappelijk Comité dat het risico op verspreiding van *X. fastidiosa* in en rond het getroffen bedrijf laag is.

Bovendien ondersteunt het Wetenschappelijk Comité het toezichtsplan dat door het FAVV voorgesteld is gedurende de volgende twee seizoenen, maar stelt enkele aanpassingen voor.

## 7. Aanbevelingen

In verband met de in te stellen maatregelen bij een eventuele nieuwe insleep van *X. fastidiosa* beveelt het Wetenschappelijk Comité om:

- de subspecies te identificeren om het gastheerbereik te verfijnen en, bijgevolg, het aantal planten die moeten worden vernietigd te beperken,
- het gebied van 200 m rondom het getroffen bedrijf als inspectiegebied te beschouwen, zowel voor de nader omschreven planten als voor de vectorinsecten,
- sweep netten te gebruiken in de plaats van chromatische vallen (gele vangplaten) om insecten te bemonsteren.

In verband met het voorgestelde toezichtsplan gedurende de twee volgende seizoenen beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om:

- zich te richten op de gebieden met een hogere plantendiversiteit bij het toezicht van de nader omschreven planten en vectorinsecten in de onmiddellijke nabijheid van het getroffen bedrijf,
- de insecten in het gebied van 200 m rondom het getroffen bedrijf met behulp van sweep netten te vangen op twee tijdstippen (half augustus en half september), en de mogelijke aanwezigheid van DNA van *X. fastidiosa* te onderzoeken in alle dwergcicaden en alle (bekende of mogelijke) xyleem-voedende stekend-zuigende vectorinsecten,
- vleugeltjesbloemen als lokplant in het getroffen bedrijf aan te planten, en deze regelmatig te inspecteren op zoek naar mogelijke symptomen.

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om de *X. fastidiosa* detectiemethoden verder te standaardiseren en te valideren, zodat het risico op vals positieve resultaten geminimaliseerd wordt. De *cyclus-cutoff* en de bijbehorende detectielimiet in aantal kopieën van het doelwit-DNA zouden dienen bepaald te worden. Op basis van de huidige kennis dient de waarde van 35 als *cyclus-cutoff* beschouwd te worden.

Voor het Wetenschappelijk Comité,  
De Voorzitter,

Prof. Dr. E. Thiry (Get)  
Brussel, 16/04/2019

## Referenties

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.

## Voorstelling van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het FAVV

Het Wetenschappelijk Comité is een adviesorgaan ingesteld bij het Belgisch Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV) dat **onafhankelijk wetenschappelijk advies** verschaft met betrekking tot risicobeoordeling en risicobeheer in de voedselketen en dit op vraag van de gedelegeerd bestuurder van het FAVV, de Minister die bevoegd is voor de voedselveiligheid of op eigen initiatief. Het Wetenschappelijk Comité wordt administratief en wetenschappelijk ondersteund door de Stafdirectie voor Risicobeoordeling van het Agentschap.

Het Wetenschappelijk Comité bestaat uit 22 leden die benoemd zijn bij koninklijk besluit op basis van hun wetenschappelijke expertise in domeinen die te maken hebben met de veiligheid van de voedselketen. Het Wetenschappelijk Comité kan bij de voorbereiding van een advies beroep doen op externe deskundigen die geen lid zijn van het Wetenschappelijk Comité. Net als de leden van het Wetenschappelijk Comité dienen zij in staat te zijn om onafhankelijk en onpartijdig te kunnen werken. Om de onafhankelijkheid van de adviezen te waarborgen worden potentiële belangenconflicten transparant beheerd.

De adviezen zijn gebaseerd op een wetenschappelijke beoordeling van de vraagstelling. Zij vertolken het standpunt van het Wetenschappelijk Comité dat in consensus is genomen op basis van risicobeoordeling en de bestaande kennis over het onderwerp.

De adviezen van het Wetenschappelijk Comité kunnen **aanbevelingen** bevatten voor het controlebeleid van de voedselketen of voor de belanghebbende partijen. De opvolging van de aanbevelingen voor het beleid behoort tot de verantwoordelijkheid van de risicomangers.

Vragen over een advies kunnen gericht worden aan het secretariaat van het Wetenschappelijk Comité: [Secretariaat.SciCom@favv.be](mailto:Secretariaat.SciCom@favv.be).

## Leden van het Wetenschappelijk Comité

Het Wetenschappelijk Comité is samengesteld uit de volgende leden:

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\*\*

\* lid tot maart 2018

\*\* lid tot juni 2018

## Belangenconflict

Er werden geen belangenconflicten gemeld.

## Dankbetuiging

Het Wetenschappelijk Comité dankt de Stafdirectie voor Risicobeoordeling en de leden van de werkgroep voor de voorbereiding van het ontwerpadvies.

## Samenstelling van de werkgroep

De werkgroep was samengesteld uit:

Leden van het Wetenschappelijk Comité: F. Verheggen (verslaggever)  
Externe experts: C. Bragard (UCLouvain), J.-C. Grégoire (ULB), M. Höfte (UGent), H. Jijakli (ULiège – GxABT), J. Van Vaerenbergh (ILVO), B. Watillon/S. Steyer (CRA-W)  
Dossierbeheerder: O. Wilmart

De activiteiten van de werkgroep werden opgevolgd door de volgende leden van de administratie (als waarnemers): J. Van Autreve en V. Huyshauer van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen.

## Wettelijk kader

Wet van 4 februari 2000 houdende oprichting van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, inzonderheid artikel 8.

Koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen.

Huishoudelijk reglement, bedoeld in artikel 3 van het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, goedgekeurd door de Minister op 8 juni 2017.

## Disclaimer

Het Wetenschappelijk Comité behoudt zich, te allen tijde, het recht voor dit advies te wijzigen indien nieuwe informatie en gegevens ter beschikking komen na de publicatie van deze versie.