

Rapport annuel d'activité, année 2019
Laboratoire National de Référence
Nématodes phytoparasites sur toutes matrices

Nom du responsable du LNR

Laurent FOLCHER

Nom du laboratoire où l'activité du LNR est mise en oeuvre

Laboratoire de la santé des végétaux

Nom de l'unité où l'activité du LNR est mise en oeuvre

LSV-unité de nématologie - site de Rennes

Nom du ou des laboratoires ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré

sans objet

Nom des unités ayant collaboré avec le LNR dans le cadre de son mandat sur l'exercice considéré

sans objet

Dangers sanitaires de catégories 1 et 2 couverts par le mandat

Dangers sanitaires de catégorie 1 : *Bursaphelenchus xylophilus*, *Ditylenchus destructor*, *Globodera pallida*, *Globodera rostochiensis*, *Heterodera zea*, *Meloidogyne chitwoodi*, *Meloidogyne enterolobii*, *Meloidogyne ethiopica*, *Meloidogyne fallax*, *Nacobbus aberrans*

Dangers sanitaires de catégorie 2 : *Aphelenchoides besseyi*, *Ditylenchus dipsaci*, *Punctodera chaltoensis*, *Radopholus citrophilus*, *Radopholus similis*, *Xiphinema americanum* (*sensus stricto*)

Les faits marquants de l'année

Pour l'unité, déjà Laboratoire National de Référence (LNR) depuis de nombreuses années, l'année 2019 a été celle de la référence avec sa désignation en tant que Laboratoire de Référence de l'Union Européenne (LRUE) sur un mandat nématodes phytoparasites. Cette désignation formalisée par un " Implementing act " en date du 27/03/2019 fait suite au succès de la candidature qui avait été déposée à l'été 2018. Si l'officialisation du mandat européen remonte à la fin du premier trimestre 2019, les missions et les activités du LRUE – Mandat nématodes - ont débuté officiellement le 01/08/2019, date fixée par la Commission européenne. Les premières actions significatives du LRUE en 2019 se sont notamment attachées à assister la Commission européenne dans la mise en application du nouveau règlement 2016/2031 en identifiant le réseau des LNR européens travaillant sur les nématodes, promouvoir l'intérêt d'un tel réseau et organiser le premier Essai InterLaboratoire d'Aptitude (EILA) dans ce nouveau cadre réglementaire.

Au niveau français, l'anticipation de la menace liée au nématode du pin, pour autant encore jamais détecté sur peuplement forestier en France, s'est traduite par le renforcement du réseau de laboratoires agréés existant et par la création d'un nouveau réseau dédié à la recherche de *Bursaphelenchus xylophilus* sur l'insecte vecteur du nématode. En parallèle à cette animation de réseaux, le plan d'urgence dédié a bénéficié de l'expertise de l'unité, tant dans sa construction que dans sa révision avant publication. La forte contribution de l'unité à la surveillance du territoire, puisqu'elle répond aux besoins analytiques d'une vingtaine de notes de service, lettres à diffusion limitée ou lettres ordre de service éditées par la DGAI dans son domaine de compétence, rend compte également de l'identification de nouveaux ou d'extensions de foyers présentant des contaminations par *M. chitwoodi* et/ou *M. fallax*. Le renforcement constant ces dernières années des activités de recherche s'est très concrètement traduit en 2019 par la construction effective d'un pôle de compétences en nématologie au service de la santé végétale. Ce pôle dénommé " NemAlliance " est le fruit d'un rapprochement des nématologistes de l'Anses et de l'Inrae sur le centre de recherche du Rheu. Ce pôle permet de constituer un groupe de recherche de taille significative, dotée d'une meilleure capacité expérimentale et associant des compétences nécessaires pour traiter des questions tant à l'échelle populationnelle qu'à l'échelle des communautés. Cette association de compétences constitue une originalité au niveau national sur la problématique des nématodes et permet de concilier la recherche sur un groupe biologique d'importance majeure dans la biologie des sols, des activités sur l'évaluation, la gestion du risque en lien avec le monde agricole, la formation et l'alerte par rapport à l'émergence de nouveaux problèmes phytosanitaires liés aux nématodes. Les activités de recherche, en particulier celles liées à la formation par la recherche, sont également à présent renforcées en 2019 par la disponibilité d'une Habilitation à Diriger les Recherches (HDR) au sein de l'unité. Cette HDR, obtenue par le chef d'unité, permettra notamment l'encadrement direct de futurs doctorants.

L'expertise de l'unité reste régulièrement sollicitée tant dans son rôle de LNR et d'appui associé qu'elle apporte auprès de la DGAI que dans son rôle de LRUE et d'appui associé apporté à la Commission européenne.

Abréviations

LNR : Laboratoire National de Référence
LRUE : Laboratoire de Référence de l'Union Européenne
EILA : Essai InterLaboratoire d'Aptitude
HDR : Habilitation à Diriger les Recherches
DGAI : Direction Générale de l'Alimentation

1. Méthodes développées ou révisées

Nombre de méthodes développées ou révisées proposées à l'autorité compétente

0 méthode(s)

Informations complémentaires

sans objet

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

1 méthode(s)

Intitulé de chacune des méthodes transférées

Détection de *Bursaphelenchus xylophilus* par PCR temps réel dans un groupe d'insectes vecteurs (ANSES/LSV/MA057 v2)

2. Matériels biologiques ou chimiques, échantillons et souches d'intérêt

Information disponible auprès du LNR.

3. Activités d'analyse

3.1 Analyses officielles de première intention

Nombre d'analyses officielles de première intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)

880 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

880 analyses officielles de 1ère intention

Les principales analyses concernent :

- la détection et l'identification spécifique de nématodes phytoparasites du sol ou de produits végétaux par morphologie et ou PCR conventionnelle avec 289 analyses,
- la semi-quantification par PCR temps réel de *Meloidogyne chitwoodi* et *M. fallax* dans le sol avec 131 analyses

En 2019 le volume d'analyse de 1ere intention a diminué suite au transfert aux laboratoires agréés des analyses de détection et d'identification de *Bursaphelenchus xylophilus*, que ce soit sur emballage en bois (hors import) ou dans l'insecte vecteur du genre *Monochamus*.

3.2 Analyses officielles de confirmation

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année (de biotypage, sérotypage, caractérisation moléculaire...)

188 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Le nombre d'analyses de confirmation, 188 analyses, a augmenté fortement en 2019 des suites du transfert aux laboratoires agréés des analyses de détection et identification *Bursaphelenchus xylophilus* sur bois.

3.3 Autres analyses

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

1263 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

1263 analyses ont été réalisées en 2019 pour une moyenne sur 5 ans de 2051 analyses dont 94 analyses réalisées dans le cadre de diagnostic pour des professionnels, ou des expérimentations (moyenne de 231 sur 5 ans).

De plus, 1073 analyses ont été traitées en activité interne (mise au point et validation de méthode, contrôle des élevages, préparation d'EILA, suivi de compétences...) (moyenne de 1789 sur 5 ans).

Le nombre d'analyse non officielles reste donc à peu près stable comparé à l'année précédente. La diminution des analyses pour les professionnels semble se poursuivre (environ - 100) mais l'activité interne augmente légèrement (environ +150). Comme cela avait été constaté, l'activité interne fluctue d'une année sur l'autre en fonction des programmes et des projets de recherche engagés et de la mise en place de délégation d'analyses officielles (*Bursaphelenchus xylophilus* en 2019 notamment).

3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année

Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

National : 1 (Détection de *Bursaphelenchus xylophilus* par PCR en temps réel organisé par le LNR)

UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE) : 1 (Détection de kystes sans cône vulvaire de type *Globodera* et identification de *Globodera pallida* et *G. rostochiensis* organisé par le LRUE)

International : 0

4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement

Oui

Types de matériaux de référence produits (MRI, contrôle positif ou négatif, autre)

Contrôles positifs, contrôles négatifs

Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence
ADN, kystes, nématodes isolés, formulation de MRI, tubercules de pomme de terre

Nombre de lots produits dans l'année
11

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années
en baisse

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR et du réseau
Oui

Types de matériaux de référence produits et fournis (MRE, MRI, contrôle positif ou négatif, autre)
Contrôles positifs, contrôles négatifs, formulation de MRI

Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence
ADN, lyophilisats, nématodes dans matrice ou nématodes en solution aqueuse, kystes, tubercules de pomme de terre, oignon déshydraté contaminé avec *D. dipsaci*.

Nombre de lots produits dans l'année
23

Nombre d'unités distribuées au plan national
1100

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) des tendances en termes d'activité sur les 5 dernières années
En augmentation

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux
Non

5. Activités d'appui scientifique et technique

5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé, etc...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR

Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année
0 demande(s)

Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente
0 rapport(s)

5.2 Autres expertises

Les membres de l'équipe du LNR peuvent avoir des activités d'expertise (internes: CES, GT ou externe: EFSA...) ou des activités auprès de commissions de normalisation (Afnor...).

Demandes d'appui de la DGAL :

- sur le cadrage des expérimentations *Meloidogyne* à déployer sur le premier trimestre 2020. Production d'une instruction pour l'interprétation des valeurs de Ct en termes de semi-quantification des niveaux des populations de *M. chitwoodi* et *M. fallax* (1 jour).
- sur le cadrage des expérimentations portant sur le nématode *Heterodera carotae* à déployer sur le premier trimestre 2020. (1 jour).
- Expertise sur les prélèvements de bois dans le cadre de la recherche du nématode du pin, traitement de données suite au transfert aux laboratoires agréés des analyses sur palette (matrice, Ct, ...) et proposition d'optimisation des prélèvements sur les emballages en bois (création d'un protocole expérimental piloté par DGAI) (5 jours)
- Création et remplissage d'une table attributaire pour cartographier les foyers de *Meloidogyne* de quarantaine en France métropolitaine (4 jours, initiative LNR)
- Expertise sur les données existantes des cas positifs de détection du nématode du pin sur les emballages en bois :
- sur la mise en place d'analyse de détection du nématode à kyste de la carotte (*Heterodera* groupe *Goettingiana* en Normandie) (2 jours)
- pour la mise en place d'analyses de détection du nématode à kyste de la carotte (*Heterodera* groupe *Goettingiana*) en Normandie : rédaction d'un mode opératoire portant sur le dénombrement des larves et œufs viables dans les kystes, destiné aux laboratoires agréés et formation de 3 agents de laboratoires agréés (3 jours)

Participation à la plateforme ESV sur modèle nématode du pin (4.5j)

Participation au groupe de travail épidémiologie en santé végétale interne à l'Anses (3 jours)

Participation au Technical Panel for Diagnostic Protocol de l'IPPC (5 jours) et au panel nématodes de quarantaine OEPP (3 jours).

Test efficacité station de traitement des effluents (1.5 jours)

Impacts du nouveau règlement en SV UE 2016-2031 en application au 14/12/19 : Evaluation des impacts pour la DGAI et appui LSV. Analyse d'impacts pour l'unité : Analyses des listes provisoires d'organismes nuisibles par unités techniques (1 jour).

Révision documents OEPP (1.25 jours) :

Consultation OEPP sur le projet de norme " Sentinel woody plants: concept and application " pour le 08/02/2019 (0.25 jour);

Consultation OEPP pour le 22/03/2019 sur 6 projets de normes de la série PP1 (Evaluation biologique des produits phytosanitaires), document expertisé : norme PP 1/ () Root knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in outdoor crops (0.25 jour);

Groupe de travail de l'OEPP sur l'étude de la réglementation phytosanitaire (18 au 21 juin) : pas de commentaire particulier remonté par l'unité (0.25 jour);

Consultation OEPP on Standards from the series PM 7 (PM 7/98 and PM 7/77) - Deadline extended 2019-08-12 (0.25 jour);

Préparation du Panel OEPP sur les mesures phytosanitaires 22-24/10/2019, documents à expertiser ; deadline 18/10 (0.25 jour).

Révision document EFSA:

Draft guidance on commodity risk assessment for the evaluation of high risk plants (0.25 jour).

Des audits de confinement sont réalisés pour le compte de la DGAL (4 jours) :

- Demande de renouvellement pour l'agrément 2008/61 du Comité Nord (CNPPT)
- Demande de renouvellement pour l'agrément 2008/61 du RD3PT

- Audit 2008-61 du LD31 suite à demande extension pour intégration du nématode du pin dans le périmètre de l'agrément
- Audit 2008-61 du LDA 33 suite à des travaux structurels du laboratoire

5.3 Dossiers de demande d'agrément

Nombre de dossiers de demande d'agrément étudiés dans l'année

8 dossier(s)

Détail de ces activités et estimation du temps consacré

Révisions pour la DGAL (BERL) avant publication au BO des différents documents destinés à encadrer les appels à candidatures portant sur les deux réseaux nématode du pin (bois et vecteurs) (1.5 jours).

5.4 Activités d'appui ou de conseil aux autorités ou aux professionnels

Le LNR est régulièrement sollicité par les professionnels pour des conseils sur les mesures à prendre en cas de présence de nématodes en culture ou avant leur mise en place. Cette année nous avons été sollicités notamment:

- Par divers professionnels pour des conseils lors de la découverte de problèmes nématologiques en culture
- Pour intervenir sur le nématode du pin dans le cadre de l'Université des Métiers / Parcours santé des végétaux de FREDON France à Amboise-37 (1 jour)

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Oui

Nombre de laboratoires agréés dans le réseau

10 laboratoires

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Non

6.2 Essais interlaboratoires d'aptitude

6.2.1 Organisation d'essais interlaboratoires d'aptitude

Nombre d'EILA organisés par le LNR au cours de l'année

2 EILA

Nom de l'EILA

Détection de *Bursaphelenchus xylophilus* par PCR temps réel selon la méthode ANSES/LSV/MA020 version 3

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

Non

Nombre de laboratoires participants

4 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

2 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Oui

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

1 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

0 laboratoire(s)

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

2 laboratoire(s)

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

2 laboratoire(s) agréé(s)

Nature des écarts (limiter aux laboratoires agréés)

faux positifs (des échantillons de copeaux de bois sains ont été déclarés positifs par les deux laboratoires)

Gestion des écarts (limiter aux laboratoires agréés) : actions mises en œuvre pour l'identification des causes et définition des mesures correctives

Une réunion téléphonique avec les laboratoires du réseau nématode du pin a été organisée par le LNR (11/06/2019) pour présenter les meilleures options de nettoyage du matériel afin d'éviter les contaminations inter échantillons. A la suite de la réunion, un panel de 20 flacons de copeaux de bois à statut connu a été envoyé aux laboratoires agréés

Suivi de décisions sur l'agrément

sans objet

Evolution du réseau dans le temps

Extension en 2019 du réseau " Nématode du pin " pour la matrice bois à un laboratoire supplémentaire.

Nom du 2ème EILA

" Détection de kystes sans cône vulvaire de type *Globodera* et identification de *Globodera pallida* et *G. rostochiensis* "

" Detection of *Globodera* cysts without vulval cone and identification of *Globodera pallida* and *G. rostochiensis*"

Cet EILA est-il réalisé sous accréditation "17043"?

Oui

Nombre de laboratoires participants à cet EILA

32 laboratoire(s)

(**) au sens de la norme 17043

Nombre de laboratoires agréés participants à cet EILA

7 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à cet EILA?

Oui

Nombre de laboratoires participants à cet EILA, en cours de demande d'agrément

0 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants à cet EILA

24 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants à cet EILA: français/étrangers étrangers**Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante** par le LNR**

0 laboratoire(s)

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

0 laboratoire(s) agréé(s)

Evolution du réseau de cet EILA dans le temps

Résultats non connus. EILA en cours

6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers

Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)

Non

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires**Actions mises en œuvre**

sans objet

6.4 Formation, organisation d'ateliers**Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année**

1 journée(s)

Détail de ces activités et nombre de participants par journée

journée d'échange LNR Anses en santé des végétaux / laboratoires agréés (46 participants)

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

5 session(s) de formation

(**) au sens de la norme 17043

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

1-Détection *Ditylenchus* sp et identification *Ditylenchus dipsaci* et *destructor* par morphobiométrie (5participants – 2 jours)

2-" Détection de *Bursaphelenchus xylophilus* par PCR temps réel sur bois de conifères (MA020) " " Détection de *Bursaphelenchus xylophilus* par PCR temps réel dans un groupe d'insectes vecteurs (MA057) " (3 participants – 1.5 jours)

3-" Détection de *Bursaphelenchus xylophilus* dans un groupe d'insectes vecteurs selon la MA057 " (3 participants – 1.5jours)

4-" Détection des genres *Globodera* et *Heterodera* et identification des groupes d'espèces d'*Heterodera* (groupes *Avenae*, *Goettingiana* et *Schachtii*) " (4 participants - 3 jours)

5-Détection du genre et identification des groupes d'espèces d'*Heterodera* (groupes *avenae*, *goettingiana* et *schachtii*) (3 participants – 1 jour)

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Dispense d'une formation à la reconnaissance des nématodes phytoparasites des plantes herbacées pour la DGAI-INFOMA (15 participants, 1 jour).

6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)

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

0 EILV

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

0 EILT

7. Surveillance, alertes

7.1 Surveillance programmée par l'autorité sanitaire, notamment PS/PC et prophylaxie officielle en santé animale

L'autorité sanitaire a mis en œuvre dans l'année une surveillance programmée dans le champ du LNR

Non

7.2 Autres activités de surveillance

Le LNR est impliqué dans des activités de surveillance autres que celle programmée par l'autorité sanitaire

Non

7.3 Fiches d'alerte ou de signal

Le LNR a émis dans l'année des fiches d'alerte ou de signal dans Salsa (système d'alerte sanitaire de l'Anses)

Oui

Nombre de fiches émises dans Salsa dans l'année:

3 fiche(s)

8. Activités de recherche en lien avec l'activité de référence

| Acronyme | Titre | Statut |
|---------------------------------------|---|----------|
| MELOTROP | Global warming and distribution of root-knot nematode species of the tropical group – 2016 A 199 – Eupresco call 2016 – | en cours |
| EUPHRESKO 2016-A-215 | Improvement of diagnostics of quarantine pathogens by digital PCR – 2016 A 215 – Eupresco call 2016 | terminé |
| PRACTIBAR | Use of barcoding, from theory to practice – 2016 A 217 – Eupresco call 2016 | terminé |
| VALITEST | Validation of diagnostic tests to support plant health | en cours |
| GECONEM | Comment gérer collectivement la résistance variétale face aux populations de nématodes à kyste de la pomme de terre ? | en cours |
| SPECIAGLOB (Projet de thèse) | Caractérisation des espèces cryptiques au sein de deux complexes d'espèces appartenant au genre <i>Globodera</i> | en cours |
| Habilitation à Diriger des Recherches | Vie de populations en interactions et applications à l'évaluation du risque sanitaire en agriculture (97 pages.) | terminé |

9. Relations avec le CNR

Existence d'un CNR dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

10. Relations avec le LRUE

Détention d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du mandat de LRUE

Pests on plants - Nematodes

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

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

Aucun

Annexes

Publications scientifiques nationales et internationales *(Revue à comité de lecture)*

Robinet C, Castagnone-Sereno P, Mota M, Roux G, Sarniquet C, Tassus X, et al. Effectiveness of clear-cuttings in non-fragmented pine forests in relation with EU regulations for the eradication of the pine wood nematode. *Journal of Applied Ecology*. 2019. doi: 10.1111/1365-2664.13564.

Thevenoux R, Folcher L, Esquibet M, Fouville D, Montarry J, Grenier E. The hidden diversity of the potato cyst nematode *Globodera pallida* in the south of Peru. *Evolutionary Applications*. 2019.

Communications internationales

Folcher L, Grossi de Sa M. European Union Reference Laboratory for plant pests on nematodes : scope, implementation and objectives. In: Eppo, editor. 13th Meeting of the Panel on Diagnostics in Nematology; 13/11/2019; Paris2019.

27.

Folcher L, Grossi de Sa M. European Union Reference Laboratory for plant pests on nematodes : scope, implementation and objectives. In: Eppo, editor. Workshop for Heads of Plant Pest Diagnostic Laboratories; 10/09/2019; Paris2019.

Viaene N, Damme N, Gamel S, Grossi de Sa M, Folcher L. The European Union Reference Laboratory (EURL) for Plant-Parasitic Nematodes. AAB Conference on Advances in Nematology; 10/12/2019; Edinburgh, UK2019.

81.

Viaene N, Grossi de Sa M, Folcher L. The European Union Reference Laboratory (EURL) for Plant-Parasitic Nematodes and its role in the new Plant Health Regulation. The day after... Effects and implications of the new Plant Health Regulations (PHR) with emphasis on nematology; 16/12/2019; Wageningen, NL2019.

Autres *(thèses, rapports de projets, d'expertise, et documents d'appui scientifique et technique)*

Folcher L. Vie de populations en interactions et applications à l'évaluation du risque sanitaire en agriculture [HDR]: Université Bretagne Sud; 2019.