



Rapport annuel d'activité, année 2022
Laboratoire National de Référence
Autres champignons sur toutes matrices

Nom du responsable du LNR

Renaud IOOS

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

Laboratoire de la santé des végétaux — station de Malzéville (près de Nancy)

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

Unité de mycologie

Dangers sanitaires tels que définis par l'article L.201-1 du code rural et de la pêche maritime couverts par le mandat

Organismes de Quarantaine (OQ, Règlement d'Exécution (UE) 2019/2072 de la Commission du 28 novembre 2019)

- Annexe II, Partie A, Organismes nuisibles dont la présence n'est pas connue sur le territoire de l'Union européenne :

Anisogramma anomala (Peck) E. Müller [CRSPAN]

Apiosporina morbosa (Schwein.) Arx [DIBOMO]

Atropellis spp. [1ATRPG]

Botryosphaeria kuwatsukai (Hara) G.Y. Sun & E. Tanaka [PHYOPI]

Bretziella fagacearum (Bretz) Z.W. de Beer, T.A. Duong & M.J. Wingfield, comb. nov. [CERAFa]

Chrysomyxa arctostaphyli Dietel [CHMYAR]

Cronartium spp. [1CRONG], à l'exception de *Cronartium gentianeum*, de *Cronartium pini* (Willdenow) Jørstad [ENDCPI] et de *Cronartium ribicola* Fischer [CRONRI].

Davidsoniella virescens (R.W. Davidson) Z.W. de Beer, T.A. Duong & M.J. Wingfield [CERAVI]

Elsinoë australis Bitanc. & Jenkins [ELSIAU]

Elsinoë citricola X.L. Fan, R.W. Barreto & Crous [ELSICI]

Elsinoë fawcettii Bitanc. & Jenkins [ELSIFA]

Fusarium oxysporum f. sp. *albedinis* (Kill. & Maire) W.L. Gordon [FUSAAL]

Guignardia laricina (Sawada) W. Yamam & Kaz. Itô [GUIGLA]

Gymnosporangium spp. [1GYMNG], à l'exception de:

Gymnosporangium amelanchieris E. Fisch. ex F. Kern, *Gymnosporangium atlanticum* Guyot & Malencçon, *Gymnosporangium clavariiforme* (Wulfen) DC [GYMNCF], *Gymnosporangium confusum* Plowr. [GYMNCO], *Gymnosporangium cornutum* Arthur ex F. Kern [GYMNCR], *Gymnosporangium fusisporum* E. Fisch., *Gymnosporangium gaeumannii* H. Zogg, *Gymnosporangium gracile* Pat., *Gymnosporangium minus* Crowell, *Gymnosporangium orientale* P. Syd. & Syd., *Gymnosporangium sabiniae* (Dicks.) G. Winter [GYMNFU], *Gymnosporangium torminali-juniperini* E. Fisch. et *Gymnosporangium tremelloides* R. Hartig [GYMNTR]

Coniferiporia sulphurascens (Pilát) L.W. Zhou & Y.C. Dai [PHELSU]

Coniferiporia weirii (Murrill) L.W. Zhou & Y.C. Dai [INONWE]

Melampsora farlowii (Arthur) Davis [MELMFA]

Melampsora medusae f. sp. *tremuloidis* Shain [MELMMT]

Mycodiella laricis-leptolepidis (Kaz. Itô, K. Satô & M. Ota) Crous [MYCOLL]

Neocosmospora ambrosia

Neocosmospora euwallaceae

Phoma andina Turkensteen [PHOMAN]

Phyllosticta citricarpa (McAlpine) Van der Aa [GUIGCI]

Phyllosticta solitaria Ellis & Everhart [PHYSSL]

Phymatotrichopsis omnivora (Duggar) Hennebert [PHMPOM]

Phytophthora ramorum (isolats de pays tiers) Werres, De Cock & Man in 't Veld [PHYTRA]

Pseudocercospora angolensis (T. Carvalho & O. Mendes) Crous & U. Braun [CERCAN]

Pseudocercospora pini-densiflorae (Hori & Nambu) Deighton [CERSPD]

Puccinia pittieriana Hennings [PUCCPT]

Septoria malagutii E.T. Cline [SEPTLM]

Sphaerulina musiva (Peck) Quaedvl., Verkley & Crous. [MYCOPP]

Stegophora ulmea (Fr.) Syd. & P. Syd [GNOMUL]

Thecaphora solani Thirumulachar & O'Brien Mordue [THPHSO]

Tilletia indica Mitra [NEOVIN]

Venturia nashicola S. Tanaka & S. Yamamoto [VENTNA]

- Annexe II, Partie B, Organismes nuisibles dont la présence est connue sur le territoire de l'Union européenne :

Ceratocystis platani (J. M. Walter) Engelbr. & T. C. Harr [CERAFP]

Fusarium circinatum Nirenberg & O'Donnell [GIBBCI]

Geosmithia morbida Kolarík, Freeland, Utley & Tisserat [GEOHMO]

Synchytrium endobioticum (Schilb.) Percival [SYNCEN]

Les faits marquants de l'année

Dans le cadre de son mandat de LNR « autres champignons sur toutes matrices » l'unité a mis au point une nouvelle méthode de détection de *Venturia nashicola* par PCR en temps réel, qui fera l'objet d'une publication scientifique en cours de rédaction et d'une méthode d'analyse Anses. L'unité est par ailleurs en cours de validation d'un test de détection ciblant *Ceratocystis platani*, qui permettra d'accélérer la confirmation des cas positifs obtenus par le laboratoire agréé.

Une nouvelle thèse cofinancée et co-encadrée ANSES INRAE a démarré en 2022 sur la thématique du champignon émergent sur érable *Cryptostroma corticale*, ce dernier émerge à une thématique « one Health », car il attaque les plantes, et peut causer des dommages chez l'humain par son potentiel allergène.

Enfin deux nouveaux projets financés par la DGAL commencent en 2022 : ARMIPISTAGE et PINIPOP, et qui concernent tous les deux des champignons pathogènes forestiers.

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Dans le cadre du projet de recherche CREATIVE, une nouvelle méthode de détection du champignon de quarantaine *Venturia nashicola* a été développée. Elle est basée sur deux tests de PCR en temps réel ciblant deux régions différentes du génome (détection/confirmation). La méthode permet de détecter ce champignon de quarantaine directement dans l'air (spores du champignon), sur des feuilles ou sur des fruits symptomatiques. Il n'y avait pour l'instant aucune méthode officielle ciblant ce parasite de quarantaine, difficile à isoler en culture pure et à caractériser morphologiquement. Ce travail fera l'objet d'une publication scientifique dont le manuscrit est en préparation, et d'une méthode d'analyse au format ANSES qui est en cours de préparation.

L'actuelle méthode MOA15 pour la détection de *Ceratocystis platani* permet de détecter le champignon de quarantaine dans un échantillon de tissus de platane de volume important. Néanmoins, elle n'est pas toujours adaptée à la détection du champignon dans des conditions d'échantillon ancien ou très dégradé. Le LNR a donc entrepris la validation d'un test moléculaire, qui pourra être utilisé en cas de nécessité de confirmation de positif obtenu par le laboratoire agréé.

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

0 méthode(s)

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

0 méthode(s)

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

1638 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

1638 analyses de première intention ont été réalisées en 2022.

Les principales analyses de première intention concernent le diagnostic mycologique spécialisé avec respectivement 1434 analyses et la recherche spécifique de champignons réglementés avec 204 analyses. Ces analyses de diagnostic spécialisé sont réalisées dans le cadre la surveillance du territoire, les analyses pour certification à l'export, ou pour le contrôle de pépinières.

Le nouveau règlement européen en matière d'organismes de quarantaine comporte plus de 40 espèces de champignons et oomycètes réglementés auxquelles s'ajoutent les champignons réglementés pour les différents DROM. Un total de quinze champignons phytopathogènes réglementés ont fait l'objet de multiples demandes de recherche spécifique. Ces chiffres sont en nette augmentation par rapport à 2020 et 2021, et reviennent à la hauteur de ceux des années pré COVID.

A noter en 2022, comme en 2021 une nouvelle augmentation du nombre de demandes d'analyses (53) de recherche des isolats de la race tropicale 4 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc TR4) sur bananiers en provenance des DROM (SALIM), suite à la progression inquiétante de cette maladie en Amérique du Sud, et à la découverte de nouveaux foyers de l'agent pathogène sur l'île de Mayotte.

Apparaissent également plus significativement cette année les demandes de recherche du champignon agent de la maladie des mille chancres du noyer *Geosmithia morbida*, que le LNR vient de détecter en France pour la première fois en décembre 2022 dans le cadre de la SORE.

3.2 Analyses officielles de confirmation

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

24 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Un total de 24 analyses de confirmation (positives ou négatives) a été réalisé en 2022, ce qui est un total stable par rapport aux années précédentes. Le décompte est comme suit (n résultats confirmés/n échantillons pour confirmation reçus ou examinés) :

- *Tilletia* spp. (10/10)
- *Ceratocystis platani* (14/14)

3.3 Autres analyses

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

3000 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Plus de 3000 analyses ont été réalisées dans le cadre des études méthodologiques (développement, optimisation, caractérisation de méthodes), ou dans le cadre de projets de recherche (CREATIVE [(*Alternaria* et *Venturia*)], PhyloPhyllo, EFSA Phyllosticta, EUPHRESO Phytophthoras, LabEx SIAMOIS), mais ne sont pas comptabilisées par le LIMS utilisé par le laboratoire. Le nombre de ces analyses non officielles en lien avec le mandat LNR est considéré comme stable par rapport aux dernières années.

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 *Fusarium circinatum* sur végétaux par PCR en temps réel selon la méthode officielle MA003 – organisateur ANSES LSV dans le cadre de son mandat de LNR « autres champignons sur toutes matrices »

- UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE) : 2 (sous la forme d'un seul « proficiency test » comportant deux types de panels d'échantillons)

Détection de *Phytophthora ramorum* par caractérisation morphologique -organisateur LRUE fungi (ANSES LSV)

Détection de *Phytophthora ramorum* par PCR conventionnelle selon la méthode officielle MOA018 partie B version 1a – organisateur LRUE fungi (ANSES LSV)

- International : 0

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

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Non

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

Non

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

Non

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

Oui

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

Contrôle réactionnel positif (test PCR), souches pures de champignon ou d'oomycète.

Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence

Solution purifiée de plasmides, culture pure de souche (explants sous huile stérile)

Nombre de lots produits dans l'année

1

Nombre d'unités distribuées au plan national

1 souche de champignon, 1 contrôle plasmidique

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

Constant

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Non

5. Activités d'appui scientifique et technique

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

Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année

0 demande(s)

Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente

0 rapport(s)

5.2 Autres expertises

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

Le laboratoire participe, en tant que membre de la Commission d'accréditation Biologie Agro-alimentaire du COFRAC (6 jours), du panel OEPP sur les maladies fongiques (2 jours en présentiel, 2 jours de préparation).

5.3 Dossiers de demande d'agrément

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

0 dossier(s)

5.4 Activités d'appui

Description de ces activités et estimation du temps consacré

En 2022, l'unité (2 agents habilités) a examiné 2 dossiers de demande de renouvellement d'agrément selon le règlement 2016/2031 pour le compte de la DGAI (2 jours pour chacun)

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

5 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 *Phytophthora ramorum* sur végétaux par PCR conventionnelle selon la méthode officielle MOA018 partie B version 1a (22PramB)

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

Non

Nombre de laboratoires participants

2 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

2 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Non

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

0 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**

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 dans le temps

Stable

Nom du 2ème EILA

Détection de *Fusarium circinatum* sur semences de pin par PCR temps réel selon la méthode officielle ANSES/LSV MA003 v3

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

Non

Nombre de laboratoires participants à cet EILA

3 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants à cet EILA

2 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

0 laboratoire(s)

(**) Au sens de la norme 17043

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

1 laboratoire(s)

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

1 laboratoire(s) agréé(s)

Nature des écarts (limiter aux laboratoires agréés) de cet EILA

Erreur dans la production de résultat (échantillon négatif déclaré comme indéterminé par le participant)

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

Ecart lié à l'utilisation d'un kit réactionnel moins performant

Suivi de décisions sur l'agrément pour cet EILA

Sans impact

Evolution du réseau de cet EILA dans le temps

Stable

**6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers
Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)**

Non

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires

Actions mises en œuvre

- Analyses en doublon pour *Ceratocystis platani* (MOA015) (confirmation par analyse d'images)
- Analyses en doublon pour *Tilletia* spp. (MOA017) (confirmation par analyse d'images)
- Analyses en doublon pour *Hymenoscyphus fraxineus* (MA 003) (confirmation par analyse des reliquats d'échantillons ou extraits d'ADN)
- Analyses en doublon pour *Phytophthora ramorum* (MOA 018) (confirmation par analyse des reliquats d'échantillons ou extraits d'ADN)
- Analyses en doublon pour *Dothistroma pini*, *D. septosporum* et *Lecanosticta acicola* (MA002) (confirmation par analyse des reliquats d'échantillons ou extraits d'ADN)

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/laboratoires agréés (70 participants)

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

0 session(s) de formation

(**) Au sens de la norme 17043

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Néant

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

Oui

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:

1 fiche(s)

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

Acronyme	Titre	Statut
Eupresco 2018-A-289	Bioinformatics network	terminé
Eupresco Phyllosticta	Sampling and analysis of asymptomatic Citrus fruit and leaf litter to detect the infection of <i>Phyllosticta citricarpa</i> and setting up a method to distinguish this species from the new species <i>P. paracitricarpa</i>	en cours
Eupresco Phytophthora nurseries	Early detection of Phytophthoras in EU nurseries and traded plants	terminé
Eupresco soil pathogens	Reliable detection of plant pathogens in soil	en cours
EFSA Phyllosticta	Reduce risk assessment uncertainty: suitability of Mediterranean citrus production areas for <i>Phyllosticta citricarpa</i>	en cours
AMI Pathobiome	Analyse du pathobiome dans les denrées végétales	terminé
PINIPOP	Suivi des populations de <i>Cronartium pini</i> agent de la rouille vésiculeuse des pins	en cours
ARMIPISTAGE	Détection et suivi des mortalités associées aux Armillaires en forêt de résineux	en cours

9. Relations avec le CNR

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

Non

10. Relations avec le LRUE

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

Oui

Intitulé du mandat de LRUE

Pests on plants - on Fungi and oomycetes

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

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

Aucun

ANNEXES

Liste des publications et communications 2022 dans le cadre du mandat « Autres champignons sur toutes matrices ».

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

- **Publications scientifiques nationales ou internationales**

Brunetti, A., K. Heungens, J. Hubert, R. loos, G. L. Bianchi, F. De Amicis, A. Chandelier, S. Van Der Linde, A. Perez-Sierra, V. Gualandri, M. R. Silletti, V. N. Trisciuzzi, S. Rimondi, T. Baschieri, E. Romano, V. Lumia, M. Luigi, F. Faggioli et M. Pilotti. 2022. "Interlaboratory Performance of a Real-Time PCR Method for Detection of *Ceratocystis platani*, the Agent of Canker Stain of *Platanus* spp." *Journal of Fungi* 8 (8): 778.

Dumartinet, T., S. Ravel, V. Roussel, L. Perez-Vicente, J. Aguayo, C. Abadie et J. Carlier. 2022. "Complex adaptive architecture underlies adaptation to quantitative host resistance in a fungal plant pathogen." *Molecular Ecology* 31 (4): 1160-1179. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/mec.16297>.

Hubert, J., C. Fourrier-Jeandel, E. Nakamura, N. Hugot et R. loos. 2022. "First report of peanut rust caused by *Puccinia arachidis* on *Arachis hypogaea* in New Caledonia." *New Disease Reports* 46 (1): e12104. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ndr2.12104>.

Schenck, N., C. Renault, C. Saurat, J.B. Daubree, E. Kersaudy, C. Husson et R. loos. 2022. "First report of *Lecanosticta acicola* causing brown spot needle blight on Atlas cedar in France." *New Disease Reports* 45 (2): e12082. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ndr2.12082>.

Thierry, M., F. Charriat, J. Milazzo, H. Adreit, S. Ravel, S. Cros-Arteil, S. Borron, V. Sella, T. Kroj, R. loos, E. Fournier, D. Tharreau et P. Gladieux. 2022. "Maintenance of divergent lineages of the Rice Blast Fungus *Pyricularia oryzae* through niche separation, loss of sex and post-mating genetic incompatibilities." *PLOS Pathogens* 18 (7): e1010687. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010687>.

- **Ouvrages et Chapitres d'ouvrage**

loos, R. 2022. "Molecular detection of wheat blast pathogen in seeds." Dans *Plant Pathology: Method and Protocols*, édité par N. Luchi, In *Methods in molecular biology*. New-York, NY: Humana.

- **Communications nationales**

Fontaine, K., C. Fourrier-Jeandel, A. D. Armitage, A.-L. Boutigny, M. Crepet, V. Caffier, C. Gnide, J. Shiller, B. Le Cam, M. Giraud, R. loos et J. Aguayo. 2022. "Sur les traces des champignons défoliateurs de pommier en France : résultats du projet Creative." Oral Journée Scientifiques et Doctorales de l'ANSES, Maisons-Alfort, France, 19 octobre 2022.

- **Conférences sur invitation**

loos, R. 2022. "Méthode officielle française pour la détection de *Ceratocystis platani*, recherche sur arbre symptomatique." Oral Colloque international Chancre coloré du platane, Paris, FR, 27th-28th September 2022.