
Demande d'appui scientifique et technique sur les questions relatives aux mesures de prophylaxie et de gestion de l'unité de production en cas de foyer de ToBRFV

**Demande « n° 2020-SA-0038 »
Saisine liée « n° 2019-SA-0080 »**

RAPPORT d'appui scientifique et technique

Mars 2020

Mots clés

Tomato brown rugose fruit virus, mesures prophylactiques, gestion, foyer, désinfection, semences
Tomato brown rugose fruit virus, prophylactic measures, management, outbreak, disinfection, seeds

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

RAPPORTEURS

M. Mathieu ROLLAND – Chargé de projet scientifique, ANSES, Laboratoire de la santé des végétaux (LSV), compétences en virologie, diagnostic

M. Stéphan STEYER – Maître de recherche, Centre Wallon de Recherches Agronomiques (Belgique), compétences en virologie, prophylaxie et diagnostic (membre du GT ToBRFV qui a produit l'expertise sur la saisine liée 2019-SA-0080)

M. Eric VERDIN – Ingénieur de recherche, INRAE, compétences en virologie, maladies émergentes, diagnostic, épidémiologie, spécialiste des virus des espèces maraîchères et ornementales (membre du GT ToBRFV qui a produit l'expertise sur la saisine liée 2019-SA-0080)

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Christine TAYEH – coordinatrice scientifique, unité Evaluation des Risques Biologiques (ERB) pour la santé des végétaux – Anses

CONTRIBUTIONS EXTÉRIEURES À L'AGENCE

« Mise à disposition de données relatives à la distribution du ToBRFV au niveau de la semence », M. Aviv DOMBROVSKY – chercheur, Department of Plant Pathology and Weed Research, Agricultural Research Organization ARO (Israel)

« Mise à disposition de données relatives aux pratiques culturales dans les exploitations productrices de tomates », Mme Claire GOILLON – Chargée d'expérimentation en maraîchage, APREL (Association Provençale de Recherche et d'Expérimentation légumière, France)

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	7
Liste des tableaux.....	7
Liste des figures	8
1 Contexte, objet et modalités de réalisation des travaux.....	9
1.1 Contexte.....	9
1.2 Objet de la demande	9
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	9
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts	10
2 Recommandations de gestion	11
2.1 Méthodologie de travail	11
2.2 Modalités de désinfection.....	11
2.2.1 Données générales sur la survie du ToBRFV en absence de désinfection	11
2.2.2 Données sur la survie du ToBRFV en cas de désinfection	13
2.2.2.1 Sur les mains.....	13
2.2.2.2 Désinfection des surfaces et des outils par les solutions désinfectantes	14
2.2.2.3 Désinfection par la chaleur.....	18
2.2.3 Recommandations formulées dans d'autres pays européens.....	18
2.2.4 Produits disponibles.....	19
2.2.4.1 Produits phytopharmaceutiques.....	19
2.2.4.2 Produits biocides.....	19
2.2.5 Recommandations	19
2.2.5.1 Lavage des mains	19
2.2.5.2 Désinfection des surfaces	19
2.2.5.3 Désinfection des outils et équipements	20
2.3 Mesures de prophylaxie.....	20
2.3.1 Mesures à destination des professionnels.....	21
2.3.1.1 Modalités de gestion de la culture : marche en avant, séparation dans l'espace	21
2.3.1.2 Désinfection de tout ce qui entre et sort de l'unité de production : mains, vêtements, chaussures, matériels réutilisables (outils, palettes, pots, godets, etc.), véhicules, etc.....	22
2.3.1.2.1 Mesures proposées à l'entrée du site de production (verrou rouge) :	22
2.3.1.2.2 Mesures proposées à l'entrée d'une unité de production (verrou vert) :	23
2.3.1.2.3 Mesures proposées lors du travail au sein d'une unité de production :	23
2.3.2 Mesures à destination des préleveurs	23
2.4 Gestion de l'unité de production en cas de foyer voire systématiquement en fin de culture	24
2.4.1 En cas de suspicion	24
2.4.1.1 Délimitation des zones infectées	24
2.4.1.2 Renforcement des mesures prophylactiques	24
2.4.2 En cas de confirmation après analyse	25
2.4.2.1 Désinfection des outils et des équipements	25
2.4.2.2 Suppression des colonies de bourdons.....	25
2.4.2.3 Enlèvement et destruction du matériel végétal.....	25
2.4.2.3.1 Enlèvement	25
2.4.2.3.2 Destruction des plants.....	26
2.4.2.3.3 Destruction des fruits.....	27

2.4.2.4	Nettoyage des abris	28
2.4.2.5	Désinfection.....	28
2.4.2.5.1	<i>Structure</i>	28
2.4.2.5.2	<i>Circuit d'irrigation</i>	28
2.4.2.5.3	<i>Sol et substrats de culture</i>	28
2.4.2.6	Vide sanitaire.....	29
2.4.2.7	Rotation	30
2.5	Désinfection des semences	30
2.5.1	Distribution du virus dans la semence	30
2.5.2	Désinfection du ToBRFV dans les semences	30
2.5.3	Recommandations	31
3	Conclusions	32
4	Bibliographie.....	34
ANNEXES	37
Annexe 1 : Lettre de la demande	38

Sigles et abréviations

CGMMV : *Cucumber green mottle mosaic virus*

FERA : The Food and Environment Research Agency (UK)

MES : matières en suspension

OEPP : Organisation Européenne et méditerranéenne pour la Protection des Plantes

ONPV : Organisation Nationale de la Protection des Végétaux

PepMV : *Pepino mosaic virus*

PSTVd : *Potato spindle tuber viroid*

TMV : *Tobacco mosaic virus*

ToBRFV : *Tomato brown rugose fruit virus*

ToMV : *Tomato mosaic virus*

Liste des tableaux

Tableau 1. Résultats ELISA sur des plantes-tests 3 semaines après inoculation avec des prélèvements effectués sur de la peau ou des gants contaminés par de la sève infectée par le ToBRFV _____	11
Tableau 2. Résultats ELISA sur des plantes-tests 3 semaines après inoculation avec des prélèvements effectués sur différentes surfaces contaminées par de la sève infectée par le ToBRFV _____	12
Tableau 3. Résultats ELISA sur des plantes-tests 3 semaines après inoculation avec des prélèvements effectués sur des mains contaminées par des feuilles infectées par le ToBRFV et lavées par différents traitements _____	13
Tableau 4. Résultats ELISA sur des plantes-tests 3 semaines après inoculation avec des prélèvements effectués sur des mains contaminées par des feuilles infectées par le ToBRFV et lavées par différents produits _____	13
Tableau 5. Résultats ELISA sur des plantes-tests 3 semaines après inoculation avec des prélèvements effectués sur différentes surfaces contaminées par de la sève infectée par le ToBRFV et traitées par différents désinfectants _____	15
Tableau 6. Tableau récapitulatif des efficacités de différents désinfectants sur des virus d'intérêt dans la littérature scientifique _____	17
Tableau 7. Résultats ELISA sur des plants-tests 3 semaines après inoculation avec des prélèvements effectués sur des plateaux contaminés par de la sève infectée par le ToBRFV et soumis à un traitement thermique _____	18

Liste des figures

Figure 1. Illustration des protocoles d'expérimentation mises en place dans le AHDB Research project___ 12

Figure 2. Séparation des espaces (adaptée de GSPP standard v3.2) _____ 22

1 Contexte, objet et modalités de réalisation des travaux

1.1 Contexte

En janvier 2020, l'Anses a publié un avis et un rapport relatifs à l'évaluation du risque simplifiée du tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) pour la France métropolitaine.

1.2 Objet de la demande

Suite au signalement du premier foyer de ToBRFV en Bretagne (France métropolitaine), l'Anses est sollicitée afin d'apporter une réponse aux interrogations suivantes :

1) « Besoin : protocole opérationnel à destination des préleveurs (SRAL, SOC, etc.) et des professionnels en amont et à l'aval d'une contamination par le ToBRFV : quel protocole, quel produit, quelle concentration, quelle durée, quelle température, etc.

- Mesures de prophylaxie :
 - Désinfection de tout ce qui entre et sort de l'unité de production : mains, vêtements, chaussures, matériels réutilisables (outils, palettes, pots, godets, etc.), véhicules, etc.
 - Autres modalités de gestion de la culture : marche en avant, séparation dans l'espace
- Gestion de l'unité de production en cas de foyer voire systématiquement en fin de culture
 - Désinfection du contenant et du contenu permanent de l'unité de production : panneaux de la serre, sol, circuit d'irrigation, supports, paillasse, etc.
 - Durée d'un vide sanitaire ? Ou d'une rotation dans la serre ?
 - Gestion des plants infectés : séchage avant évacuation ? Quel produit ? Quelle élimination ? Transport ou sur place ? Dans quelles conditions ? »

L'Anses précise que la réponse à la demande se fera sous forme de recommandations à mettre en œuvre pour répondre à ces différentes questions, recommandations qui pourront servir de base pour la rédaction d'un protocole.

2) « Nous avons proposé à la Commission européenne de mettre en place des mesures de désinfection des semences à l'import, et à défaut nous pourrions le recommander au plan national. Nous aurions donc besoin de votre avis concernant les méthodes possibles pour ce faire (quel produit, à quelle dilution et pendant quelle durée). »

L'Anses réalisera un état des lieux des méthodes possibles ou disponibles pour la désinfection des semences.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié l'instruction de cette saisine à trois rapporteurs sans appel à candidatures réunissant les compétences nécessaires en virologie, en épidémiologie végétale, en prophylaxie et en analyse de risque phytosanitaire.

Les travaux d'expertise ont eu lieu entre le 05/03/2020 et le 20/03/2020.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (mai 2003) ».

1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'agence (www.anses.fr).

2 Recommandations de gestion

2.1 Méthodologie de travail

Les questions posées nécessitent un travail de collecte et d'analyse de données à partir (i) du rapport d'évaluation de risque simplifiée et de l'avis correspondant à la saisine 2019-SA-0080 (Anses, 2020), (ii) d'un document produit en interne au laboratoire de la santé des végétaux, (iii) des questionnaires envoyés aux auteurs de publications scientifiques dans le cadre du premier travail d'expertise, (iv) des réponses des organisations nationales de la protection des végétaux (ONPV) obtenues par le demandeur, et (v) de la littérature scientifique (ou non) publiée depuis la date de validation du premier travail d'expertise en novembre 2019.

2.2 Modalités de désinfection

Etant donné que la désinfection est une mesure de prophylaxie et de lutte qui sera citée à maintes reprises dans les parties suivantes, une première partie distincte traitant des différentes modalités de désinfection est proposée. Elle est construite à partir de la littérature (scientifique ou non) et un bilan des produits existants sur le marché français et ce afin de donner des recommandations. Dans les parties suivantes, la référence à cette partie sera faite quand nécessaire.

2.2.1 Données générales sur la survie du ToBRFV en absence de désinfection

Depuis novembre 2019, des données sur la survie du ToBRFV ont été obtenues et mises à jour en février 2020 par le FERA dans le cadre d'un projet de recherche « ADHB Research Project : PE 033 » et présentées à l'occasion de différents webinars (Fox, 2020). Elles constituent les seules données disponibles spécifiques au ToBRFV. Néanmoins, quand cela est pertinent, elles seront discutées au regard des données déjà disponibles dans la littérature scientifique pour d'autres tobamovirus. Dans cette étude, aucune indication n'est donnée sur la concentration virale utilisée ou les conditions physico-chimiques expérimentales, notamment la température. Ces paramètres ne sont généralement pas pris en compte dans des études similaires en virologie.

Le tableau 1 présente les résultats relatifs à la détection ELISA du ToBRFV sur des plants inoculés par des cotons-tiges après prélèvements sur la peau et les gants à des temps croissants après contamination par de la sève infectée. L'expérimentation est illustrée dans la figure 1. Le ToBRFV reste infectieux pendant au moins deux heures sur la peau et les gants. Des résultats similaires ont été obtenus suite à la contamination des gants et de la peau par des feuilles infectées.

Tableau 1. Résultats ELISA sur des plantes-tests 3 semaines après inoculation avec des prélèvements effectués sur de la peau ou des gants contaminés par de la sève infectée par le ToBRFV

Surface/Temps	0	15 min	30 min	45 min	60 min	90 min	120 min
Peau	+	+	+	+	+	+	+
Gants	+	+	+	+	+	+	+

+ = résultats positifs par ELISA dans les trois répétitions
Source : adapté de FERA (2020) et Fox (2020)



Figure 1. Illustration des protocoles d'expérimentation mises en place dans le AHDB Research project

(Source : FERA, 2020)

La survie du ToBRFV sur différents supports est en cours d'évaluation dans le cadre de cette étude. La contamination des surfaces a été réalisée par de la sève infectée de ToBRFV, puis des prélèvements ont été réalisés à des périodes différentes suivie d'une inoculation de plants et d'une mesure de la viabilité du ToBRFV par test ELISA sur ces plants après 3 semaines. Les premiers résultats présentés dans le tableau 2 montrent que le ToBRFV survit au moins 3 mois sur la plupart des surfaces comme le plastique dur, le polyéthylène, le verre et l'inox. Sur l'aluminium, le ToBRFV survit au moins 1 mois. Sur le béton, le ToBRFV peut survivre jusqu'à 3 mois mais ce résultat est variable car dans certains cas il ne survit pas 2 semaines.

Tableau 2. Résultats ELISA sur des plantes-tests 3 semaines après inoculation avec des prélèvements effectués sur différentes surfaces contaminées par de la sève infectée par le ToBRFV

Surface	2 h	8 h	24 h	48 h	7 jours	2 semaines	3 semaines	4 semaines	3 mois	6 mois
Verre	+	+	+	+	+	N/A	N/A	+	(+)	En cours
Béton	+	+	+	+	+	-	-	-	(+)	En cours
Aluminium	+	+	+	+	+	N/A	N/A	(+) 1/3 3/3	-	En cours
Plastique dur	+	+	+	+	+	N/A	N/A	+	+	+*
Polyéthylène	+	+	+	+	+	N/A	N/A	+	+	+*
Inox	+	+	+	+	+	N/A	N/A	+	(+)	En cours

+ = résultats positifs par ELISA

(+) = résultats positifs par ELISA sur une des deux expérimentations réalisées (les trois répétitions dans l'expérimentation ont été positives)

- = résultats négatifs par ELISA

x/3 = nombre de plants positifs par ELISA sur trois plants

N/A = non testé

* = 1 répétition réalisée

Source : adapté de FERA (2020) et Fox (2020)

Ces données démontrent le maintien du pouvoir infectieux du ToBRFV pendant une très longue durée, pour au moins 6 mois dans les conditions expérimentales de l'étude, sur certains matériaux ce qui constitue un élément clé de la gestion de foyer et accentue l'importance d'une désinfection efficace en amont d'une nouvelle plantation.

2.2.2 Données sur la survie du ToBRFV en cas de désinfection

2.2.2.1 Sur les mains

L'efficacité du lavage des mains en fonction de différentes modalités et différentes durées a été testée et les résultats sont présentés dans le tableau 3. Lors du lavage des mains pendant 30 secondes, toutes les modalités se sont révélées inefficaces pour l'élimination du ToBRFV. Pendant un lavage plus long d'une minute, toutes les modalités à l'exception de l'eau avec du savon à usage médical se sont révélées efficaces pour l'élimination du ToBRFV.

Tableau 3. Résultats ELISA sur des plantes-tests 3 semaines après inoculation avec des prélèvements effectués sur des mains contaminées par des feuilles infectées par le ToBRFV et lavées par différents traitements

Durée du lavage	Lavage des mains							
	Eau seule		Eau + savon		Eau + savon à usage médical		Eau + savon à usage médical puis gel	
	Rep1	Rep2	Rep1	Rep2	Rep1	Rep2	Rep1	Rep2
30 secondes	3/3	3/3	1/3	2/3	1/3	3/3	3/3	2/3
1 minute	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	2/3	0/3	0/3

x/3 = nombre de plants positifs par ELISA sur trois plants

gel = non défini

Rep = Répétition

Source : adapté de FERA (2020) et Fox (2020)

Dans un second temps, de nouvelles modalités de traitement ont été ajoutées à savoir le lavage des mains avec le produit Enno Rapid dont la substance active est l'acide benzoïque et Nzym Rugo (Tableau 4). Le Nzym Rugo est un produit composé de lait et d'enzymes qui ralentissent la propagation du virus par fixation¹. Enno Rapid et Nzym Rugo sont inefficaces contre le ToBRFV à 30 secondes. Seul le Nzym Rugo a été efficace après 1 minute de lavage.

Tableau 4. Résultats ELISA sur des plantes-tests 3 semaines après inoculation avec des prélèvements effectués sur des mains contaminées par des feuilles infectées par le ToBRFV et lavées par différents produits

Durée du lavage	Eau seule		Enno Rapid		Nzym Rugo	
	Rep1	Rep2	Rep1	Rep2	Rep1	Rep2
30 secondes	2/3	2/3	3/3	3/3	1/3	2/3
1 minute	0/3	2/3	2/3	1/3	0/3	0/3

x/3 = nombre de plants positifs par ELISA sur trois plants

Rep = Répétition

Source : adapté de FERA (2020) et Fox (2020)

L'ensemble des résultats montre qu'un bref lavage des mains, tel qu'il est couramment effectué, n'est pas efficace pour éliminer le ToBRFV. Les auteurs rajoutent qu'à minima, une durée de

¹ <https://ahdb.org.uk/knowledge-library/best-practice-for-tomato-brown-rugose-fruit-virus-findings-from-europe-and-israel> ; <https://www.marktplaats.nl/a/diversen/overige-diversen/m1510696768-het-tomatenvirus-voorkomen-stop-het-virus-met-het-nzymrugo.html>

lavage de 1 minute est nécessaire pour éliminer le virus ce qui est contraignant pour le personnel travaillant quotidiennement en zone de production.

En plus de ces remarques, les rapporteurs soulignent que les résultats sont variables d'un essai à l'autre pour une même modalité de traitement ce qui complique l'exploitation des résultats et reflète dans tous les cas un manque de régularité dans l'efficacité de ces lavages.

Dans la littérature scientifique, quelques données existent sur le lavage des mains comme le phosphate trisodique (3%) ou de lait écrémé (20%) (Lecoq et Katis, 2014). L'utilisation de ces désinfectants pour la désinfection des mains est également mentionnée dans des revues à destination de professionnels².

2.2.2.2 Désinfection des surfaces et des outils par les solutions désinfectantes

Différents produits de désinfection des surfaces contaminées avec de la sève infectée ToBRFV ont été testés en respectant les dosages préconisés par les fabricants avec deux temps de contact pour certains produits (FERA, 2020). La viabilité du virus a ensuite été évaluée 3 semaines plus tard suite à une inoculation sur des plants (Tableau 5). Le ToBRFV est resté viable après 1 minute de traitement avec la gamme de désinfectants aux doses recommandées sur toutes les surfaces de serre testées. Les premiers résultats suggèrent que le Virkon S® (bis(peroxymonosulfate)bis(sulfate) de pentapotassium) est efficace contre le ToBRFV après une heure de contact sur toutes les surfaces, ce qui n'est pas le cas pour le Jet 5 (acide peracétique + peroxyde d'hydrogène) dont l'efficacité est variable selon les surfaces. Ces produits ainsi que le MENNO Florades® (acide benzoïque) et l'eau de javel (hypochlorite de sodium), ne sont pas efficaces après 1 minute de contact. Le MENNO Florades® et l'eau de javel n'ont pas encore été évalués 60 minutes après désinfection.

En revanche, il est mentionné que des résultats encourageants avec le MENNO Florades® ont été obtenus lors d'essais menés par l'Université de Wageningen. Ces essais ont par ailleurs montré que l'eau de javel à 1% ne serait pas efficace pour éliminer le ToBRFV après 8 heures de contact³.

²<https://gpnmag.com/article/truth-about-milk-and-tmv/>

³<https://ahdb.org.uk/knowledge-library/best-practice-for-tomato-brown-rugose-fruit-virus-findings-from-europe-and-israel>

Tableau 5. Résultats ELISA sur des plantes-tests 3 semaines après inoculation avec des prélèvements effectués sur différentes surfaces contaminées par de la sève infectée par le ToBRFV et traitées par différents désinfectants

Surface	Désinfectants							
	MENNO Florades® 4% mousse		Jet 5® 1/125		Eau de javel 400 ppm		Virkon S® 1%	
	1 min	60 min	1 min	60 min	1 min	60 min	1 min	60 min *
Verre	+		+	+	+		+	-
Béton	+		+	2/3	+		+	-
Aluminium	+		+	2/3	+		+	-
Plastique dur	+		+	-	+		+	-
Polyéthylène	+		+	2/3	+		+	-
Inox	+		+	+	+		+	-

+ = résultats positifs par ELISA (les trois répétitions pour les deux expérimentations sont positives)

- = résultats négatifs par ELISA (les trois répétitions pour les deux expérimentations sont négatives)

x/3 = nombre de plants positifs par ELISA sur trois plants

60* = seulement une expérimentation a été réalisée, le test doit être répété

Les tests pour 60 minutes de contact sont en cours

Source : adapté de FERA (2020) et Fox (2020)

Dans la littérature scientifique, des tests d'évaluation de la capacité d'autres tobamovirus et de viroïdes (présentant des caractéristiques de stabilité et d'infectiosité proches des tobamovirus) à résister aux différents produits ont été réalisés.

Le tableau 6 récapitule les résultats obtenus pour les principales molécules déjà testées dans le cadre du projet « ADHB Research Project : PE 033 » contre le ToBRFV vis-à-vis de ces autres organismes nuisibles. Il est important de noter que les protocoles expérimentaux diffèrent d'une étude à l'autre quant au mode de contact entre l'inoculum et les produits de désinfection et l'évaluation de la survie des virus (par indexage puis test par les méthodes ELISA ou PCR).

Bien que l'acide benzoïque (le MENNO Florades® et le MENNO Clean®) soit mentionné par l'OEPP (2011) et soit souvent le seul produit autorisé par les autorités compétentes dans différents pays comme désinfectant approprié pour les virus et les viroïdes, son efficacité n'a pas été démontrée dans la littérature scientifique contre ce type de virus sauf le PSTVd avec des concentrations de 2 et 3%. Il convient toutefois de souligner que le MENNO Clean® et le MENNO Florades® sont autorisés pour la désinfection des surfaces infestées par les virus et les viroïdes pour un temps de contact de 16 heures et de 3 minutes en trempage pour les outils (section 2.2.4).

Le bis(peroxymonosulfate)bis(sulfate) de pentapotassium (produit Virkon®) présente des résultats variables en fonction des publications probablement dus aux protocoles différents. Néanmoins, une majorité d'études montrent une efficacité dans l'élimination des virus selon des concentrations et des temps d'application différents (1% pour des durées de 60 secondes à 30 minutes ou 2% pour une durée de 10 sec).

L'hypochlorite de sodium (eau de javel) reste la substance active dont l'efficacité est prouvée dans toutes les expérimentations menées vis-à-vis de tous les virus souvent à une concentration de 10% et pour des temps de contact allant de 10 secondes à 15 minutes.

Il existe d'autres produits tels que le lait écrémé qui a également été testé avec succès contre des tobamovirus pour ses propriétés de neutralisation lors de la désinfection des outils de greffage et

de taille (Lecoq et Katis, 2014) mais le mode d'action n'est pas bien connu et les modalités d'utilisation ne sont pas standardisées.

Enfin, les auteurs de ces publications tels que Olivier *et al.* (2015) rappellent que, dans la pratique, l'application et la couverture correctes des zones infectées par le désinfectant sont cruciales pour l'efficacité de la désinfection. Une application rapide sur les surfaces infestées ainsi qu'un contact prolongé et même un frottement en cas de contamination par la sève séchée devraient être conseillées. Leurs résultats illustrent le fait qu'un contact approprié entre les particules du viroïde ou du virus et les composés actifs du désinfectant est crucial pour l'efficacité de la désinfection.

Tableau 6. Tableau récapitulatif des efficacités de différents désinfectants sur des virus d'intérêt dans la littérature scientifique

	Désinfectants					
	Acide benzoïque (MENNO Florades® ou MENNO Clean®)		Bis(peroxymonosulfate)bis(sulfate) de pentapotassium (Virkon®)		Hypochlorite de sodium (eau de javel)	
	Survie du virus	Modalités d'utilisation (%, temps de contact, référence)	Survie du virus	Modalités d'utilisation (%, temps de contact, référence)	Survie du virus	Modalités d'utilisation (%, temps de contact, référence)
Tomato mosaic virus (ToMV)	+	1%, 10 à 60 sec, A	+ - -	1%, 10 et 30 sec, A 1%, 60 sec, A 2%, 10 à 60 sec, A	-	10%, 10 à 60 sec, A
Tobacco mosaic virus (TMV)	+	1%, 10 à 60 sec, A	+ - (+)	1%, 10 à 60 sec, A 2%, 10 à 60 sec, A 1%, 60 sec, D	- -	10%, 10 à 60 sec, A 0,6%, 60 sec, D
Pepino mosaic virus (PepMV)	+	1%, 10 à 60 sec, A	+ +	1%, 10 à 60 sec, A 2%, 10 à 60 sec, A	+	10%, 10 à 60 sec, A
Potato spindle tuber viroid (PSTVd)	+ + - -	1%, 10 à 60 sec, A 1%, 3 min et 15 min, B 2%, 1 min, C 3%, 30 sec, C	+ - - -	1%, 10 à 60 sec, A 2%, 10 à 60 sec, A 1%, x, E 1%, 15 min et 30 min, B	- - - -	10%, 10 à 60 sec, A x, x, E 0,8%, 10 min et 15 min, B 1%, 10 min, F
Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV)					-	x, x, G
Tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd)					-	3%, 15 sec, H

+ = le virus survit ; - = le virus ne survit pas ; x = non précisé dans la publication. Les temps indiqués sont relatifs à la durée de contact entre le virus et le désinfectant selon des modalités différentes (inoculum viral et produit en suspension, sur un support inerte) ; sec=secondes ; min=minutes

Références : A = Li *et al.*, 2015 ; B = Olivier *et al.*, 2015 ; C = Timmermann *et al.*, 2001 ; D = Lewandowski *et al.*, 2010 ; E = Mackie *et al.*, 2002 ; F = Roenhorst *et al.*, 2005 ; G = Dombrovsky *et al.*, 2017 ; H = Matsuura *et al.* 2010

2.2.2.3 Désinfection par la chaleur

La désinfection des plateaux de transport (type cagettes en plastique) par la chaleur a été testée dans le cadre des expérimentations menées par le FERA (Tableau 7). Le ToBRFV a été éliminé des plateaux par trempage dans de l'eau chaude pendant 5 minutes à 90°C. Le trempage à l'eau chaude (70°C pendant 5 minutes) n'a pas suffi à lui seul à tuer le virus, mais il a été efficace lorsque les plateaux ont été vaporisés de Virkon® après le traitement thermique.

Tableau 7. Résultats ELISA sur des plants-tests 3 semaines après inoculation avec des prélèvements effectués sur des plateaux contaminés par de la sève infectée par le ToBRFV et soumis à un traitement thermique

Traitement	Trempage 5 minutes	Trempage suivi de traitement par Virkon®
70°C	+	-
90°C	-	-

+ = résultats positifs par ELISA

- = résultats négatifs par ELISA

Source : adapté de FERA (2020) et Fox (2020)

2.2.3 Recommandations formulées dans d'autres pays européens

Le Virkon® a été autorisé contre le ToBRFV aux Pays-Bas (Décret n°19246304) pour la désinfection des véhicules de transport, des conteneurs et des équipements utilisés pour le chargement et le déchargement des véhicules et des espaces et surfaces dans lesquels ce traitement a lieu à un dosage de 1% pour un temps de contact de 10 minutes minimum en veillant à garder les surfaces bien humides lors du contact (décret du Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, 2019).

En Allemagne, les serres contaminées par le ToBRFV ont été désinfectées à l'acide benzoïque (MENNO Florades®), ainsi que toutes les surfaces et objets en contact avec la production de tomates⁴. Ce produit est dorénavant spécifiquement recommandé contre le ToBRFV (MENNO CHEMIE-VERTRIEB GMBH, 2019).

En Italie, les produits utilisés pour la désinfection des serres sont le HALAMID ou Chloramine T (Sodium p-toluenesulfonchloramide) et le GSAX steric (à base de phosphine) (Turina, 2019) ainsi que le peroxyde d'hydrogène (4%) et le phosphate trisodique (10%) (Davino, 2019). En Grèce c'est l'eau de javel NaClO (0,5%) (Varvieri, 2019).

Enfin, en Espagne, le plan d'action recommande une stérilisation des serres à l'aide de biocides autorisés sur le marché espagnol et recommandés par les autorités mexicaines (SENASICA) pour la désinfection des outils, chaussures, blouses, personnes et véhicules tels que l'hypochlorite de sodium (5.25%), le complexe iodé du nonylphénoxy-polyéthoxyéthanol, l'éthanol (96%), le bis(peroxymonosulfate)-bis(sulfate) (dose de 1/100 à 1/200) ou le phosphate trisodique (1% ou 10%) (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2019).

⁴ <https://www.landwirtschaftskammer.de/landwirtschaft/pflanzenschutz/gemuesebau/tobrfv.htm>

2.2.4 Produits disponibles

2.2.4.1 Produits phytopharmaceutiques

Dans la base E-Phy, la recherche de produits phytosanitaires (recherche réalisée au 13/03/2020) montre qu'il existe pour le marché français un produit phytopharmaceutique (PPP) autorisé destiné aux traitements généraux - désinfection des locaux, structures et matériels pour les produits d'origine végétale (POV). Il s'agit du MENNO Florades® dont la substance active est l'acide benzoïque (90 g/L). Deux contextes d'utilisation sont décrits à une dose retenue de 4% (40 ml de produit/L) :

- Efficacité montrée sur virus et viroïdes nuisibles. Uniquement par pulvérisation, application mousse, arrosage et inondation. Volume minimum de bouillie : 0,8 L/m². Contact 16 heures sur organismes nuisibles difficiles à inactiver. Nombre maximum d'applications : 1 par désinfection.
- Efficacité montrée sur bactéries et champignons pathogènes et sur virus et viroïdes nuisibles. Uniquement par trempage des outils. Contact 3 minutes. Nombre maximum d'applications : 1 par désinfection.

2.2.4.2 Produits biocides

Parmi les produits biocides d'intérêt pour l'élimination des virus, figurent les produits dont la substance active est le bis(peroxymonosulfate)bis(sulfate) de pentapotassium. Cette substance active est celle du Virkon® déjà cité à plusieurs reprises dans la littérature scientifique et développée plus haut. La substance active est déjà présente sur le marché parmi plus de 500 produits (recherche réalisée sur Simmbad.fr le 17/03/2020).

Il en est de même pour plusieurs produits à base d'hypochlorite de sodium (eau de javel) également cités à plusieurs reprises dans la littérature et disponible sur le marché français.

2.2.5 Recommandations

2.2.5.1 Lavage des mains

Sur la base des résultats disponibles via l'étude du FERA, Enno Rapid (acide benzoïque) (largement utilisé dans les exploitations) n'est pas totalement efficace contre le ToBRFV dans les modalités testées ; l'utilisation du Nzym Rugo en tant que méthode de désinfection devrait être favorisée bien que cette préconisation soit basée sur un nombre limité d'expérimentations. La recommandation de l'un ou l'autre des produits se fait avec une incertitude élevée. L'utilisation du lait écrémé est fréquemment mentionnée tant dans des revues scientifiques que dans des documents à destination du grand public. Les rapporteurs estiment néanmoins que son usage (dosage, temps d'application, gestion post-traitement) reste imprécis et que son efficacité n'a pas été évaluée vis-à-vis du ToBRFV. En tout état de cause, quel que soit le produit employé, le lavage de main doit être réalisé pendant une durée d'au moins une minute.

2.2.5.2 Désinfection des surfaces

Au vu des essais spécifiques ToBRFV et des conclusions des articles en lien avec la désinfection des structures infectées soit par d'autres tobamovirus (TMV, ToMV), soit par le PSTVd, et en tenant compte des recommandations et utilisations dans les autres pays européens, les conclusions concernant les substances actives principales sont les suivantes :

L'acide benzoïque a été utilisé avec succès dans le cadre de la stratégie d'éradication appliquée en Allemagne pour la désinfection des structures sans plus de précision sur la durée du temps de contact. Cette utilisation a néanmoins été confirmée pour le ToBRFV par l'Université de Wageningen ainsi que précédemment pour le PSTVd.

Cette efficacité n'a pas été démontrée dans d'autres essais contre d'autres tobamovirus. Il convient quand même de noter que ces essais décrits n'ont, pour la plupart, pas respecté le temps minimum recommandé par les fournisseurs (aussi bien pour le trempage des outils que pour la désinfection des surfaces) ni les doses recommandées pour les organismes difficiles à désactiver.

Au regard de ces éléments, les rapporteurs insistent sur la nécessité de respecter les temps de contact si l'acide benzoïque était amené à être utilisé, soit 16 heures pour la désinfection des surfaces contre les organismes difficiles à inactiver tel que le ToBRFV.

L'hypochlorite de sodium (eau de javel) est sans aucun doute le désinfectant dont l'efficacité est la plus démontrée dans la littérature scientifique avec un atout notable qui est l'efficacité atteinte même après des temps de contact courts, de l'ordre d'une minute (sauf contre le ToBRFV selon l'étude du FERA). Néanmoins compte tenu de son fort caractère corrosif sur les supports et matériaux, son usage avec des temps de contact longs n'est pas envisageable dans les serres et sa recommandation pour la désinfection des surfaces ne peut être faite.

Enfin, concernant le bis(peroxymonosulfate)bis(sulfate) de pentapotassium, son efficacité après 60 minutes de contact sur différents matériaux contre le ToBRFV et contre d'autres virus dans la littérature scientifique amène les rapporteurs à recommander son utilisation pour la désinfection des structures en privilégiant, pour un produit à 1% de concentration, un temps de contact de 60 minutes si son caractère corrosif le permet.

2.2.5.3 Désinfection des outils et équipements

Dans la pratique, la désinfection des outils se fait essentiellement par trempage. Néanmoins, les résultats disponibles pour la désinfection avec un temps de contact court (1 minute) contre le ToBRFV ne sont pas encourageants pour tous les produits testés par le FERA.

Cependant, l'hypochlorite de sodium et le bis(peroxymonosulfate)bis(sulfate) de pentapotassium sont efficaces contre d'autres virus et viroïdes à des temps de contact courts. L'usage de ces substances actives en respectant les recommandations des fournisseurs mais à des temps de contact supérieurs à une minute est une piste envisageable mais avec une incertitude élevée sur leur efficacité contre le ToBRFV.

Concernant l'acide benzoïque, un trempage de 3 minutes, à la concentration recommandée par le fournisseur vis-à-vis d'organismes difficiles à inactiver, est à respecter en cas d'utilisation pour lutter contre le ToBRFV.

Pour certains équipements comme les plateaux, le traitement thermique par trempage à 90°C pendant 5 minutes a montré son efficacité contre le ToBRFV (section 2.2.2.3) et devrait être envisagé.

2.3 Mesures de prophylaxie

Sur la base i) des connaissances acquises concernant la survie du ToBRFV sur divers supports (FERA, 2020), et ii) des cahiers des charges et protocoles mis en place par les professionnels (APREL, Chambre d'agriculture 13 et DRAAF-SRAL PACA, 2019), les mesures décrites ci-

dessous sont de nature à minimiser le risque d'introduction du pathogène au sein de cultures sous abris, tout en étant réalistes en terme de mise en œuvre et en particulier pour des cultures peu ou pas cloisonnées (plein champ, tunnel) dont les accès sont plus libres que pour les cultures sous serres. Des adaptations de ces mesures sont également nécessaires pour les cultures en pleine terre. En effet, la très grande stabilité des tobamovirus conduit à mettre en place une prophylaxie particulière ciblant le sol et ses déchets végétaux sur lesquels la persistance de ces virus est démontrée.

Les mesures proposées dans ce rapport ciblent le ToBRFV et ne se substituent pas aux autres mesures déjà appliquées actuellement vis-à-vis d'autres agents pathogènes et ravageurs de la tomate dans les exploitations.

Dans ce document, l'exploitation de production de tomate (sous serre, tunnel, plein champ) est désignée par le terme « site de production » qui peut être lui-même divisé en plusieurs unités de production.

2.3.1 Mesures à destination des professionnels

La première mesure à prendre par les professionnels est de favoriser l'approvisionnement de matériel végétal en provenance de zones réputées saines tel qu'exigé par la Décision d'exécution (UE) 2019/1615 établissant des mesures d'urgence visant à prévenir l'introduction et la dissémination dans l'Union européenne du ToBRFV et recommandé lors de l'évaluation de risque simplifiée pour la France métropolitaine (Anses, 2020). Les recommandations suivantes porteront donc sur les autres sources potentielles de contamination.

2.3.1.1 Modalités de gestion de la culture : marche en avant, séparation dans l'espace

Les sites de production de tomate peuvent s'inspirer de l'organisation proposée par le cahier des charges GSPP (Good Seed and Plant Practices standard v3.2⁵). Initialement conçu par les professionnels pour lutter contre l'introduction et la diffusion d'une bactérie transmise également par simple contact et par les semences, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm), ce cahier des charges semble adapté à la lutte contre le ToBRFV⁶. Le cahier des charges prend en compte la maîtrise de l'eau, du personnel, de l'équipement et du matériel végétal de multiplication. Cette gestion est basée sur une analyse de risque, une surveillance régulière du matériel et la prise en compte du risque au quotidien avec la mise en place de protocoles de gestion, une traçabilité, etc. Les entreprises appliquant cette norme sont auditées de façon indépendante et labélisées.

La figure 2 représente une organisation d'un site de production dérivée du cahier des charges GSPP et de nature à limiter l'introduction et la diffusion du ToBRFV. Les rapporteurs considèrent que les eaux d'irrigation des cultures pouvant également véhiculer les tobamovirus, ne constituent pas à ce jour une source potentielle de contamination dans la mesure où le virus n'est pas présent dans l'environnement et ne sont donc pas traitées dans les deux sections suivantes. Une zone dite contrôlée est séparée physiquement de l'environnement. A l'entrée de cette zone des mesures spécifiques sont prises pour le matériel végétal, les personnes et l'équipement (section 2.3.1.2.1).

⁵ <https://www.gspp.eu/documents>

⁶ <https://www.gfactueel.nl/Glas/Nieuws/2019/11/GSPP-kijkt-naar-aanpak-van-ToBRFV-495302E/>

Le passage depuis la zone contrôlée vers une unité de production ou le passage entre unités de production font l'objet d'autres mesures listées à la section 2.3.1.2.2.

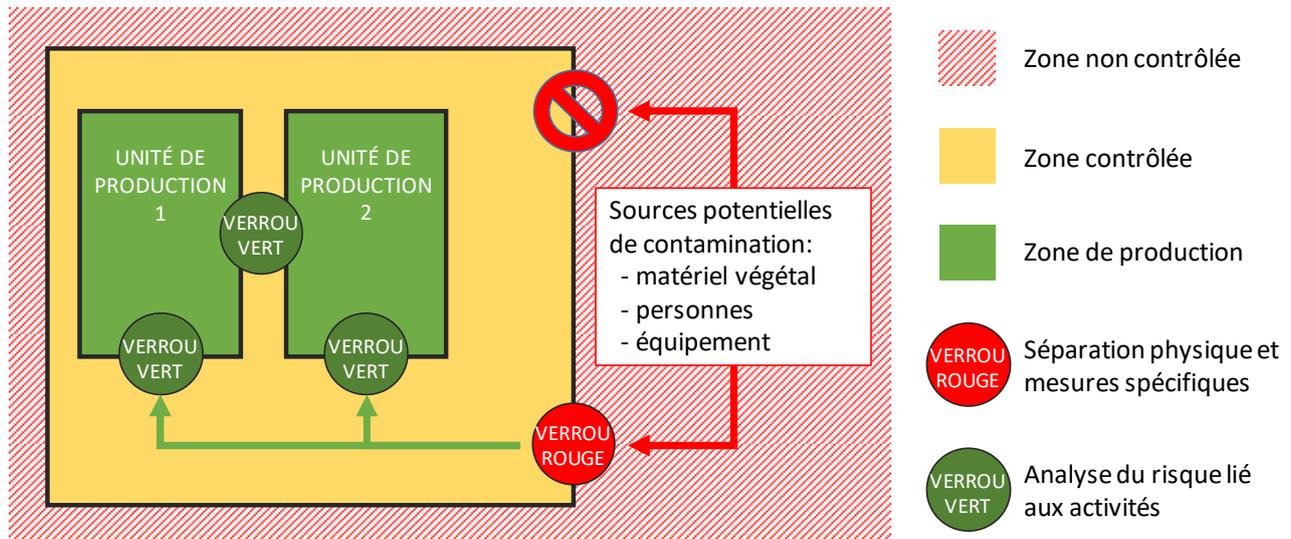


Figure 2. Séparation des espaces (adaptée de GSPP standard v3.2)

2.3.1.2 Désinfection de tout ce qui entre et sort de l'unité de production : mains, vêtements, chaussures, matériels réutilisables (outils, palettes, pots, godets, etc.), véhicules, etc

2.3.1.2.1 Mesures proposées à l'entrée du site de production (verrou rouge) :

- Il est fortement conseillé qu'une barrière physique soit mise en place entre la zone non contrôlée et la zone contrôlée de manière à rendre impossible à du personnel non autorisé d'entrer sur le site.
- Toute personne autorisée à entrer sur le site doit être informée des précautions à prendre.
- Le personnel doit revêtir des chaussures et des vêtements dédiés n'ayant pas été utilisés dans le cadre personnel (des vêtements réutilisés peuvent, par exemple, avoir été contaminés en consommant des tomates infectées). Ces vêtements doivent être régulièrement nettoyés sur place avec du détergent et stockés dans des conditions d'hygiène satisfaisantes.
- Tout visiteur doit nettoyer et désinfecter ses chaussures ou utiliser des chaussures mises à disposition sur place.
- Le personnel ainsi que les visiteurs doivent se laver les mains pendant au moins 1 minute avec un produit adapté (section 2.2.5.1).
- L'équipement nécessaire à la production (caisses, sécateurs, équipements mécaniques...), doit être neuf ou désinfecté (section 2.2.5.2 et section 2.2.5.3).
- Aucun matériel végétal extérieur à l'exploitation ne doit être introduit : plantes d'ornement, fruits et légumes frais (notamment tomate) pour les repas pris sur place.
- Les auxiliaires de culture introduits doivent provenir de sources garantissant une provenance en dehors de zones contaminées.

2.3.1.2.2 Mesures proposées à l'entrée d'une unité de production (verrou vert) :

- Le personnel doit revêtir des équipements de protection spécifiques de l'unité de production (stockés à l'entrée de celle-ci) et désinfecter ses chaussures à l'aide d'un pédiluve installé et entretenu à cet effet.
- Tout visiteur doit endosser des équipements de protection à usage unique : combinaison, manchettes, sur-chaussures ou sur-bottes, charlotte.
- Le personnel ainsi que les visiteurs doivent se laver les mains puis mettre des gants jetables.
- Tous les équipements de protection (y compris les gants) doivent rester à l'intérieur des unités de production après utilisation avant d'être emballés en vue de leur destruction (par incinération de préférence) ou selon les modalités standards prévues à ces effets.
- Tout équipement doit être lavé et désinfecté à l'entrée comme à la sortie.
- Les accessoires et effets personnels tels que les téléphones, montres, bloc-notes, stylos doivent rester à l'extérieur de la zone de production. En cas de nécessité, les téléphones peuvent être mis dans des sacs plastiques qui seront jetés à la sortie de l'unité de production. En aucun cas, le téléphone ne doit être manipulé avec des gants ayant touché des plantes.

2.3.1.2.3 Mesures proposées lors du travail au sein d'une unité de production :

- Les visiteurs doivent limiter le contact avec les cultures en restant dans les allées principales.
- Les gants doivent être jetés avant et après la manipulation des plantes.
- Les chariots de transport, de pulvérisation et tous les autres objets en mouvement qui entrent en contact avec la culture doivent être régulièrement désinfectés (section 2.2.5.3).
- Les outils de travail (sécauteur, ...) doivent idéalement être désinfectés après avoir travaillé chaque plante ou a minima en début et milieu de rang (section 2.2.5.3).
- Les outils de travail, chariots de transport et tout matériel doivent préférentiellement être dédiés à chaque unité de production et ne doivent pas circuler entre différentes unités.

2.3.2 Mesures à destination des préleveurs

Les agents en charge des prélèvements doivent se conformer aux mesures décrites ci-dessus (qu'elles soient ou non mises en œuvre par le producteur) ainsi qu'aux mesures spécifiques suivantes :

Pour le prélèvement, l'opérateur doit favoriser du matériel jetable (par exemple lames de rasoir, scalpels jetables...). Chaque échantillon doit être stocké dans un sac plastique zippé, fermé hermétiquement et dont l'air a été évacué. Les sacs employés doivent être identifiés avant l'entrée dans les unités de culture afin d'éviter la manipulation de marqueurs.

Au cours de la visite d'une unité de production, les différents échantillons doivent être regroupés dans un sac plastique à usage unique. Le contenant employé pour stocker et transporter l'ensemble des échantillons prélevés (glacière ou autre) ne doit pas entrer dans les unités de production.

Les gants ainsi que tout autre matériel employé pour le prélèvement et entrant en contact avec les plantes doivent être changés après chaque prélèvement.

L'ensemble des équipements de protection doivent être changés très régulièrement et a minima entre chaque unité de production.

L'ensemble des équipements de protection à usage unique doivent être jetés au fur et à mesure dans un sac plastique avant d'être emballés en vue de leur destruction (par incinération de préférence) ou selon les modalités standards prévues à ces effets.

Comme tout visiteur, les agents en charge des prélèvements doivent laisser leurs accessoires et effets personnels (téléphones, appareils photos, bloc-notes, stylos) à l'extérieur de la zone de production. Ceux-ci ne doivent pas être manipulés avec des gants présents dans les zones de production.

2.4 Gestion de l'unité de production en cas de foyer voire systématiquement en fin de culture

Le scénario de gestion de foyers ToBRFV décrit ci-dessous suit un ordre chronologique et envisage les actions à mettre en place au fil du temps (dans la mesure du possible).

2.4.1 En cas de suspicion

2.4.1.1 Délimitation des zones infectées

A ce jour, en cas de suspicion d'infection par le ToBRFV, les échantillons concernés sont envoyés pour analyse au Laboratoire National de Référence ou dans un laboratoire agréé dans le cas des semences. Dans l'attente du résultat, la zone concernée est délimitée ainsi que les plantes voisines dans le rang (surtout dans le sens du travail) et dans les deux rangées adjacentes : les plantes suspectes sont ainsi isolées.

Les mesures de prophylaxie déjà appliquées sont rappelées et renforcées dans tout le site de production concerné. Pour rappel, un site de production peut être composé de plusieurs unités (serres, compartiments, etc.).

En cas de détection ou de suspicion de l'organisme, les mesures de restriction s'appliquent à tous les espaces du site de production, sauf si ces espaces sont séparés les uns des autres de manière à exclure la propagation de l'organisme entre eux (différentes unités phytosanitaires sont alors concernées).

Dans l'attente du résultat, les opérations nécessaires à l'entretien de la culture peuvent continuer dans les rangs hors de la zone délimitée. Cependant, aucun matériel végétal (y compris les fruits) ne doit sortir de l'unité de production concernée.

2.4.1.2 Renforcement des mesures prophylactiques

Des mesures d'hygiène plus strictes s'appliquent:

- Restreindre l'accès aux serres aux seules personnes autorisées et ayant été informées des mesures à appliquer en cas de foyer.
- Commencer par travailler dans les unités de production saines et enfin dans celle(s) qui serai(en)t infectées. Ne jamais retourner pendant la journée dans des serres non infectées.
- Au sein d'une unité de production, la zone entourant les plantes suspectes doit être travaillée en dernier et seulement si nécessaire (traitement phytosanitaire).
- Commencer chaque journée avec des équipements de protection propres.
- Arrêter tout partage d'outils, des ruches, d'équipements de protection ou autres équipements entre des unités suspectes ; attribuer ces matériaux spécifiques à l'unité en question.
- Veiller à changer régulièrement la solution désinfectante des pédiluves.
- Ne jamais présumer que les plantes asymptomatiques ne sont pas infectées.

2.4.2 En cas de confirmation après analyse

Les matériaux (y compris les machines, les outils) ainsi que les déchets, les conteneurs et les moyens de transport pour la commercialisation des fruits de la tomate, doivent rester sur le site contaminé et ne doivent pas être partagés avec d'autres sites. Il en va de même pour le matériel recyclé pour la collecte des fruits (caisses plastiques, palox, ...) et le transport des plants destinés à la plantation (palettes, caisses en plastique avec rehausses) provenant de pépinières et circulant entre les sites de production via les moyens de transport communs (camions). Cette mesure doit être maintenue jusqu'à la mise en place de mesures efficaces d'élimination du ToBRFV.

2.4.2.1 Désinfection des outils et des équipements

Les outils de coupe (sécateurs), les autres petits outils de travail ainsi que les petits équipements incluant les plateaux doivent être soigneusement nettoyés en les plongeant dans une solution désinfectante en respectant des concentrations et un temps de contact long (supérieur à 1 minute) tels que décrits ou préconisés pour la lutte contre d'autres virus et viroïdes difficiles à inactiver (section 2.2.5.3). Les bains utilisés intensivement doivent être contrôlés plus fréquemment, si nécessaire, renouvelés chaque jour afin de garantir une efficacité suffisante.

En ce qui concerne les palettes, elles ne sont pas à usage unique mais souvent en location. Il serait important que les professionnels aient des garanties en limitant au maximum le nombre de clients par lots de palettes par exemple et en procédant à une désinfection du matériel. Même si des procédures ne sont pas décrites spécifiquement pour cet équipement vis-à-vis du ToBRFV, la mise au point d'une technique de désinfection par la chaleur des palettes telle que celle décrite pour les plateaux (section 2.2.2.3) ou par trempage avec des produits désinfectants qui n'attaquent pas ce matériau (conformément aux indications des fiches techniques ; section 2.2.5.3) doit être envisagée.

Par ailleurs, il est important de rappeler que, pour les exploitations qui disposent d'une zone d'emballage des fruits sur le site de production, des mesures d'hygiène y sont appliquées telles que celles prises au niveau de l'unité de production comprenant aussi la désinfection du matériel d'emballage.

2.4.2.2 Suppression des colonies de bourdons

Lors du remplacement des colonies et de la fin de la culture, les ruchettes sont mises en position 'reentrée seule' immédiatement après la dernière fructification. A la fin de la culture, les ruchettes sont emballées dans des sacs plastique afin que les bourdons ne puissent pas s'échapper pendant le transport vers un incinérateur. Les rapporteurs recommandent cette technique d'élimination des bourdons, vecteurs « mécaniques » avérés du ToBRFV.

Une autre technique consiste notamment en l'application de traitements insecticides visant à éliminer les pollinisateurs.

2.4.2.3 Enlèvement et destruction du matériel végétal

2.4.2.3.1 *Enlèvement*

Toutes les plantes de l'unité de production concernée (reconnue comme infectée par le ToBRFV après analyses) devront être détruites y compris les plantes asymptomatiques qui peuvent être infectées.

Après l'arrêt de l'irrigation, les plantes doivent être enlevées avant qu'elles ne soient complètement sèches : un délai d'une semaine devrait être suffisant pour permettre un dessèchement partiel des parties aériennes des plantes. Pendant ce laps de temps, les plantes sont laissées en place dans la serre infectée confinée.

Cette déshydratation partielle permet d'éviter que des particules sèches des cultures ne se dispersent. Les ouvertures de l'unité de production doivent rester fermées autant que possible pendant l'enlèvement des plants infectés. Les plantes à enlever doivent être placées directement dans des conteneurs couverts pendant le stockage de manière à empêcher la dispersion du matériel végétal et du substrat dans la zone environnante.

Lors du transfert vers l'extérieur, les conteneurs dans lesquels le matériel végétal est stocké doivent être scellés de manière à ce qu'il n'y ait aucune possibilité de propagation du virus pendant le transport. Le contractant éventuel et le transporteur/destinataire des déchets doivent être informés de la contamination. Ils doivent également prendre des mesures - nettoyage très complet et désinfection ultérieure (dans cet ordre) du matériel et des moyens de transport utilisés - pour empêcher toute nouvelle propagation du virus.

2.4.2.3.2 Destruction des plants

Les déchets végétaux (y compris les effeuillages) sont préférentiellement soumis à l'incinération dans un site de destruction agréé par les autorités. Cette mesure a été suivie dans de nombreux pays où le ToBRFV a été signalé comme en Grèce après séchage des plants (Vervieri, 2019), Palestine (Alabdallah, 2019), en Italie (Davino, 2019 ; Turina, 2019) et en Allemagne (EPPO Reporting Service, 2019). L'incinération suivant une période de séchage sur place a aussi été recommandée au Mexique (SADER-SENASICA, 2010). L'Espagne recommande l'incinération ou l'enfouissement profond sans plus de détail sur cette dernière mesure (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2019).

D'autres options de destruction sont décrites et proposées, notamment aux Pays-Bas (Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, 2019):

- mettre les déchets en décharge puis les recouvrir d'une couche d'un autre matériau d'au moins 1 m d'épaisseur ;
- le compostage à condition que la durée totale du compostage (y compris le temps de stockage du compost après maturation) soit d'au moins 60 jours⁷, que le compost ne soit pas utilisé dans l'horticulture sous serre (culture de tomates ou de piments). Le compostage en tunnel et en extérieur est autorisé. Dans le cas du compostage en plein air, l'exigence est également que le compost soit retourné au moins trois fois et qu'après chaque retournement, la température du tas de compost atteigne plus de 60°C pendant au moins 24 heures. Le compostage doit avoir lieu sur un site de destruction approuvé par les autorités hollandaises.

Selon la bibliographie, le compostage serait insuffisant pour l'inactivation du TMV d'après Noble et Roberts (2004) qui ont étudié l'impact du compostage sur la conservation des tobamovirus. Ils ont montré qu'un compostage de plus de 20 jours était nécessaire pour réduire le nombre de particules virales de TMV en dessous des limites de détection. Sachant que les températures

⁷ Cette durée était initialement de 6 mois selon les premières références disponibles aux Pays-Bas (Glastuinbouw Nederland, GroetenFruit Huis en Plantum, 2019)

maximales de compost dépassent les 68°C ils ont également montré que le TMV et le ToMV étaient inactivés au fil du temps dans le compost, même à des températures inférieures à 50°C. Cependant, l'hétérogénéité de la température au sein du compost peut permettre la survie d'agents phytopathogènes dans les zones les plus froides, en particulier dans les systèmes où le compost n'est pas retourné. Cela peut constituer un facteur de risque important dans le compostage des déchets végétaux.

Les rapporteurs recommandent l'incinération comme moyen de destruction des plants issus d'une unité de production contaminée. Les rapporteurs émettent des réserves sur le compostage compte tenu (i) des durées variables préconisées par les ONPV, (ii) des contraintes techniques liées au maintien de la température homogène dans le compost, (iii) d'une manière générale du manque de recul et de données scientifiques sur l'efficacité de cette mesure. Les rapporteurs émettent également des réserves sur la mise en décharge couverte par une couche de matériau en raison du manque de références bibliographiques sur l'efficacité de cette mesure.

2.4.2.3.3 Destruction des fruits

L'incinération devrait également être privilégiée concernant la destruction des fruits. Compte tenu de la composition très aqueuse de ce type de matériel, rendant une incinération difficile, ce dont les rapporteurs ont conscience, d'autres options sont discutées :

- mettre les fruits en décharge puis de les recouvrir d'une couche d'un autre matériau d'au moins 1 m d'épaisseur comme pour les autres déchets végétaux. Il faudra cependant veiller à ce que les eaux percolantes du site ne risquent pas de contaminer des eaux qui pourraient servir à l'irrigation de zones de production voisines (Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, 2019).
- enfouir les fruits dans un site approprié en zone non agricole sans ruissellement ni percolation et en les mélangeant à de la chaux vive. Les seules utilisations de la chaux vive pour la destruction de matériel végétal rapportées dans la littérature ont trait à la gestion du mildiou sur des tubercules de pomme de terre laissés aux abords d'une parcelle après récolte⁸. « Les spores de mildiou peuvent se disperser jusqu'à plus de 500 m autour des tas de déchets. La Protection des végétaux et Arvalis préconisent deux méthodes pour le traitement : la chaux vive ou le bâchage. La chaux vive, dont l'action est également bactéricide et desséchante, est utilisée s'il y a beaucoup de tubercules, donc un risque d'écoulement de jus. La chaux est mélangée aux pommes de terre à la dose de 10 % du tonnage à traiter, à augmenter en fonction de l'humidité des déchets. Il est aussi possible d'épandre des couches successives de chaux et de déchets (15-20 cm de déchets par couche). Les dépôts sont possibles si l'aire de stockage est bien conçue, loin des points d'eau, et si le traitement à la chaux vive est fait correctement. Il faut veiller à la qualité de la couche de chaux vive en surface ». Il convient de se protéger lors de l'application de la chaux notamment par le port d'un masque, de lunettes, de gants et d'éviter l'écoulement des jus par la réalisation d'une ceinture de rétention autour du silo⁹.

Les rapporteurs recommandent l'incinération comme moyen de destruction des fruits issus d'une unité de production contaminée. Ils émettent des réserves sur l'enfouissement en présence de

⁸ <http://www.lafranceagricole.fr/article/reduire-les-sources-d-infection-par-le-mildiou-1,0,56488835.html>

⁹ <http://www.oise-agricole.fr/actualites/pour-controler-le-mildiou-de-la-pomme-de-terre-il-convient-d-eviter-l-entree-de-cette-maladie-dans-strategie-de-lutte-contre-le-mildiou-de-la-pomme-de-terre:T77C21GY.html>

chaux vive car l'efficacité de cette mesure décrite contre un champignon n'est pas avérée contre le ToBRFV.

2.4.2.4 Nettoyage des abris

Préalablement à la désinfection proprement dite, un nettoyage complet des installations doit être mis en place qui donnera une efficacité accrue à la désinfection proprement dite.

Pour les serres, sur des cultures telles que la tomate, le nettoyage et la désinfection doivent être impeccables pour garantir la qualité de la désinfection des surfaces intérieures et des gouttières de culture. Il faut s'assurer que tous les restes de culture au sol ont bien été ramassés. Il faut également veiller à l'élimination des mauvaises herbes et des repousses, le cas échéant, qui pourraient servir de réservoir pour le ToBRFV.

Le nettoyage débute par les zones les plus éloignées des ouvertures pour se terminer vers l'entrée. L'accès aux zones déjà nettoyées doit être clairement interdit. L'ensemble de la structure doit être lavée à grande eau. Il convient d'utiliser de l'eau propre à forte pression additionnée suivant les cas de détergent en respectant les doses autorisées et en se protégeant avec les vêtements appropriés. Après 24 heures, un rinçage à l'eau claire permet d'éliminer les résidus de certains produits.

2.4.2.5 Désinfection

2.4.2.5.1 *Structure*

La stérilisation de la serre se fera à l'aide de biocides selon les recommandations dans la section 2.2.5.2. La désinfection se fait par vaporisation/pulvérisation des biocides recommandés autorisés, ce qui permet un temps de contact plus long, favorable à une bonne élimination du virus. Les équipements de protection utilisés lors des activités de désinfection doivent être incinérés ou éliminés selon les modalités standards prévues à cet effet.

2.4.2.5.2 *Circuit d'irrigation*

Aussi bien sous serre, tunnel ou en plein champ, le réseau d'irrigation doit être lavé/nettoyé et désinfecté. La désinfection peut être réalisée à l'aide d'eau de javel concentrée entre 1 à 3 %. Le réseau doit être rincé par le goutte à goutte 12 heures après. Certains goutteurs ne résistent pas à l'eau de javel ; dans ce cas, l'utilisation de peroxyde d'hydrogène est préconisée à la dose de 30 l/ha (GIS piclé, 2014).

2.4.2.5.3 *Sol et substrats de culture*

Pour les cultures hors sol, il est recommandé que les pains de substrats soient remplacés pour chaque nouvelle plantation. Ceux qui ont déjà servis et sont contaminés doivent être incinérés ou enfouis, le but étant d'éviter absolument de remettre les pains de substrats dans le circuit de récupération des fournisseurs.

La désinfection du sol est un point important pour les productions de pleine terre en plein champ ou sous tunnel étant donné que les tobamovirus peuvent rester infectieux pendant plusieurs années dans le sol. Plusieurs formules à base d'alcaloïde (phenanthroquinolizidine) ou d'autres molécules se sont avérées efficaces pour la désinfection du sol contre d'autres tobamovirus tels

que le TMV (Smith et Dombrovsky, 2019). La chlorine est également citée comme efficace en traitement de sol contre le ToBRFV¹⁰.

Un traitement thermique peut aussi être utilisé. Selon la littérature, le ToBRFV est inactivé à 90°C (FERA, 2020). De ce fait, les traitements à basse température (50-60°C) pour de courtes durées (quelques minutes) ne sont pas recommandés pour la désinfection des sols contaminés par des tobamovirus (Smith et Dombrovsky, 2019). Néanmoins, ces auteurs ajoutent que des combinaisons de traitements à moyenne température à des produits chimiques tel que l'hydroxyde de potassium sont efficaces vu qu'elles réduisent les ratios d'infection des sols au TMV de 3%.

Aux Pays-Bas, selon le Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (2020), il existe deux méthodes de désinfection du sol à la vapeur contre le ToBRFV : (i) en profondeur (une température de minimum 80°C à une profondeur d'au moins 50 cm pendant au moins 5 heures) ou (ii) pour la couche supérieure. Ils recommandent la culture d'une plante non hôte la première année suivie d'une plante tolérante la deuxième année. En Espagne, la température recommandée pour le traitement à la vapeur du sol est de 90°C selon le Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2019) suivie d'une culture non hôte pour l'année suivante.

Les rapporteurs recommandent l'installation de cultures non hôte la première année après la désinfection du sol. Pour la deuxième année, les rapporteurs n'encouragent pas l'utilisation d'espèces tolérantes comme le poivron ou de variétés de tomates peu symptomatiques car cela maintient l'inoculum dans la zone concernée. Une surveillance accrue de la plantation par des prélèvements réguliers couplés à des analyses est également recommandée.

2.4.2.6 Vide sanitaire

Il faut mettre en place et respecter un vide sanitaire (absence totale de toute plantation hôte ou non hôte) sur le site de production. Les indications sur la durée du vide sanitaire varient selon les autorités et les auteurs. Le protocole d'hygiène contre le ToBRFV du Glastuinbouw Nederland, GroetenFruit Huis et Plantum (2019) préconise qu'une serre doit rester vide pendant au moins 8 jours de tous les résidus de culture à une température de 15°C. En Belgique, le vide sanitaire conseillé devrait être d'une durée d'au moins 4 semaines (Proefstation voor de Groenteteelt et Proefcentrum en Scientia Terrae, 2019). Au Mexique, un vide sanitaire ou une rotation de cultures avec des espèces non sensibles est mis en place sans plus de précision. Le Royaume-Uni établit une période de quarantaine sans aucune plante en serre de 14 semaines¹¹. L'Allemagne a respecté un vide sanitaire de 15 jours (minimum), qui s'est avéré efficace avant de replanter des tomates.

Compte tenu de la capacité de survie des tobamovirus de plusieurs mois minimum sur les supports inertes (au moins 6 mois pour le ToBRFV comme démontré par le FERA), la durée du vide sanitaire à recommander est difficilement quantifiable. Le succès de cette mesure est hautement relié à l'application des mesures d'hygiène (nettoyage et désinfection) pour éliminer le ToBRFV des supports de culture. Au regard de ces éléments et de la durée du vide sanitaire

¹⁰ <https://www.youtube.com/watch?v=vNdzKEDgah4&feature=youtu.be>

¹¹ http://www.tomatonews.com/en/tobrfv-quarantine-status-in-effect-from-1-november_2_819.html

appliquée avec succès en Allemagne, les rapporteurs recommandent entre deux cultures, un vide sanitaire correspondant à un vide complet des serres ou des abris pendant une durée minimale de 2 semaines consécutives. La première culture d'une plante hôte du ToBRFV (tomate ou piment), installée directement après un vide sanitaire doit être surveillée et testée régulièrement pour s'assurer de l'absence du virus.

2.4.2.7 Rotation

Les pratiques et recommandations dans les pays où le ToBRFV a été signalé sont différentes. En Allemagne, des tomates ont été replantées dans les serres concernées sous surveillance étroite (tests des plantes avant plantation, surveillance après plantation). Les autorités hollandaises ne préconisent pas une rotation de culture. En Italie, sur certains sites de production, des tomates sont replantées dans les serres concernées alors que des concombres ont été plantés comme interculture avant de revenir avec des tomates sur d'autres sites (Davino, 2019 et Turina, 2019). En Espagne, en cas de nouvelle utilisation de la structure après une désinfection adéquate, une rotation avec une culture différente de *Solanum lycopersicum* et *Capsicum annuum* est préconisée. Un suivi de la prochaine culture implantée (entre autres, prise régulière d'échantillons dans toute la structure et analyses en laboratoire) doit être mis en place afin de vérifier l'efficacité des mesures appliquées (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2019).

Les rapporteurs soulignent qu'une rotation des cultures n'est pas primordiale au regard de l'expérience en Allemagne surtout en cas d'éradication réussie. Elle est envisageable si les conditions de culture le permettent en particulier pour les cultures de pleine terre. Les rapporteurs recommandent que la première culture d'une plante hôte du ToBRFV (tomate ou piment), installée directement après 1 ou plusieurs cycles de cultures de plantes non hôtes soit surveillée et testée régulièrement pour s'assurer de l'absence du virus.

2.5 Désinfection des semences

2.5.1 Distribution du virus dans la semence

Les tobamovirus peuvent être présents dans les tissus externes des semences infectées : tégument externe et plus rarement dans l'albumen. Dans le cas du ToBRFV, des études de localisation *in situ* utilisant des anticorps spécifiques dirigés contre ce virus ont permis de détecter le ToBRFV uniquement dans le tégument externe des semences de tomate (Aviv Dombrovsky, communication personnelle, mars 2020).

2.5.2 Désinfection du ToBRFV dans les semences

Les études sur l'efficacité de désinfection de semences contaminées spécifiquement par le ToBRFV sont en cours d'évaluation (Aviv Dombrovsky, communication personnelle) ou sont incomplètement validées. A ce jour, les protocoles permettant de garantir des semences exemptes de ToBRFV s'inspirent principalement de leur efficacité avérée vis-à-vis d'autres virus présents dans les tissus externes des semences de solanacées, en particulier le *Tobacco mosaic virus* (TMV, *Tobamovirus*), le *Pepper mild mottle virus* (PMMoV, *Tobamovirus*) ou le *Pepino mosaic virus* (PepMV, *Potexvirus*).

Les protocoles de désinfection pour la production de semences à grande échelle reposent principalement sur l'utilisation de divers traitements chimiques, principalement l'acide chlorhydrique, l'hypochlorite de calcium, l'hypochlorite de sodium, le disulfure de

tétraméthylthiurame et le phosphate trisodique, associés ou non à des traitements enzymatiques (pectinase) ou thermiques. Le plus couramment utilisé est un traitement chimique par immersion des semences dans une solution de phosphate trisodique 10% pendant 3 heures. Il permet de garantir des semences de tomate (Córdoba-Sellés *et al.*, 2007) et de piment/poivron (Demski, 1981 ; Rast et Stijger, 1987) exemptes de virus. Un traitement de 30 minutes avec de l'hypochlorite de sodium à 1% est également décrit pour désactiver le PepMV sur des semences de tomate (Ling, 2010). Enfin, des traitements thermiques à chaleur sèche à 74°C pendant 48 heures ou à 80°C pendant 24 heures réduisent drastiquement le pouvoir infectieux du PepMV avec peu d'impact sur la germination des semences (Cordobá-Sellés *et al.* 2007 ; Ling, 2010).

2.5.3 Recommandations

En l'absence de protocoles validés sur l'efficacité des traitements appliqués à des semences infectées par le ToBRFV, il est recommandé d'appliquer des traitements dont l'efficacité a été démontrée vis-à-vis d'autres virus présents à la surface des semences. Pour la désinfection des semences, les traitements chimiques utilisant le phosphate trisodique ou l'hypochlorite de sodium et des traitements thermiques à chaleur sèche sont préconisés tels qu'ils sont décrits dans la section 2.5.2.

3 Conclusions

Cet appui scientifique et technique vise à formuler des recommandations sur les mesures de prophylaxie et de gestion à mettre en place pour lutter contre le ToBRFV dans les sites de production en France. Les recommandations données par les rapporteurs se basent sur la littérature scientifique, les pratiques et recommandations recensées dans d'autres pays où le ToBRFV a été signalé. Les rapporteurs soulignent également que la gamme de produits de désinfection disponibles contre le ToBRFV ainsi que les études d'efficacité des mesures de prophylaxie et de gestion en cas de foyer sont encore peu documentées en raison de la diffusion récente du ToBRFV à l'échelle mondiale (2018). L'incertitude a été soulignée à chaque fois que les données pour appuyer les recommandations étaient manquantes ou peu fiables. L'acquisition de données sur le ToBRFV par les approches de recherche ou via les données de terrain est cruciale pour soutenir ou ajuster les protocoles à mettre en place.

Les conclusions du rapport sur les trois thématiques principales sont les suivantes :

- en ce qui concerne la désinfection,
 - pour le lavage des mains, les rapporteurs recommandent (mais avec une incertitude élevée) des substances telles que l'acide benzoïque ou les produits à base de lait écrémé ou d'enzymes pendant au moins une minute.
 - pour la désinfection des structures, les rapporteurs recommandent l'utilisation du bis(peroxymonosulfate)bis(sulfate) de pentapotassium en privilégiant, pour un produit à 1% de concentration, un temps de contact de 60 minutes si son caractère corrosif le permet.
 - pour la désinfection des outils, les différentes substances telles que l'hypochlorite de sodium, le bis(peroxymonosulfate)bis(sulfate) de pentapotassium ou l'acide benzoïque sont des pistes envisageables à des concentrations et des temps de contact décrits contre d'autres virus et viroïdes difficiles à inactiver.
 - pour la désinfection des semences, les traitements chimiques utilisant le phosphate trisodique ou l'hypochlorite de sodium et des traitements thermiques à chaleur sèche sont préconisés.
- Pour le vide sanitaire, les rapporteurs recommandent entre deux cultures, un vide sanitaire correspondant à un vide complet des serres ou des abris pendant une durée minimale de 2 semaines consécutives. Les rapporteurs soulignent qu'une rotation des cultures n'est pas primordiale surtout en cas d'éradication réussie. Le succès de cette mesure est hautement relié à l'application des mesures d'hygiène (nettoyage et désinfection) pour éliminer le ToBRFV des supports de culture. La rotation avec une culture non hôte du ToBRFV pour la première année est envisageable si les conditions de culture le permettent en particulier pour les cultures de pleine terre. Dans tous les cas, les rapporteurs recommandent que la première culture d'une plante hôte du ToBRFV (tomate ou piment), installée directement après un vide sanitaire ou après 1 ou plusieurs cycles de cultures de plantes non hôtes soit surveillée et testée régulièrement pour s'assurer de l'absence du virus.

- Pour la gestion des plants, les rapporteurs recommandent l'incinération comme moyen de destruction des plants issus d'une unité de production contaminée après séchage sur place. Les rapporteurs émettent des réserves sur le compostage ou la mise en décharge couverte par une couche de matériau en raison du manque de références bibliographiques sur l'efficacité de cette mesure. L'incinération est aussi recommandée pour la gestion des fruits infectés. Les rapporteurs émettent des réserves sur l'enfouissement en présence de chaux vive car l'efficacité de cette mesure décrite contre un champignon n'est pas avérée contre le ToBRFV.

Date de validation du rapport : 25 mars 2020

4 Bibliographie

4.1 Publications et autres documents

ALABDALLAH O. (2019). Réponses au questionnaire portant sur l'épidémiologie, la prévention et le contrôle du Tomato brown rugose fruit virus en Palestine (saisine 2019-SA-0080).

Anses. (2020). Avis et rapport sur l'évaluation du risque simplifiée du tomato brown rugose fruit virus pour la France métropolitaine. 75 pp.

APREL, Chambre d'agriculture 13 et DRAAF-SRAL PACA (2019). Protocole sanitaire à appliquer dans le cadre de la prévention et de la lutte contre les maladies de la tomate transmises par contact. 7 pp. https://aprel.fr/pdfPhytos2/0protocole_virus_contact_tomate_2019_v3.pdf

CÓRDOBA-SELLÉS M.-C., GARCÍA-RÁNDEZ A., ALFARO-FERNÁNDEZ A. et JORDÁ-GUTIÉRREZ C. (2007). Seed transmission of Pepino mosaic virus and efficacy of tomato seed disinfection treatments. *Plant Disease*, 91(10), 1250-1254.

DAVINO W. (2019). Réponses au questionnaire portant sur l'épidémiologie, la prévention et le contrôle du Tomato brown rugose fruit virus en Italie (saisine 2019-SA-0080).

DEMSKI J. (1981). Tobacco mosaic virus in seedborne in pimiento peppers. *Plant Disease*, 65(0), 723-724.

DOMBROVSKY A., TRAN-NGUYEN L.-T. et JONES R.-A. (2017). Cucumber green mottle mosaic virus: rapidly increasing global distribution, etiology, epidemiology, and management. *Annual review of phytopathology*, 55, 231-256.

E-Phy. En ligne, <https://ephy.anses.fr/> (accession le 13/03/2010)

EPPO Reporting Service. (2019). EPPO Reporting Service n°7-2019, article 2019/145.

FERA Science Ltd. (2020). AHDB Research Project: PE 033. Interim results February 2020. Tomato brown rugose fruit virus: survival and disinfection. 7pp.

FOX A. (2020). Tomato brown rugose fruit virus: Survival and hygiene measures. 20 pp.

Glastuinbouw Nederland, GroetenFruit Huis en Plantum. (2019). Hygiënprotocol tomaat versie 2.0: Voor de mechanisch overdraagbare pathogenen ToBRFV en Clavibacter.

ISHI-Veg. (2019). Detection of infectious Tobamoviruses in Tomato seed. Published by ISF (International Seed Federation). 8pp.

GIS piclég. (2014). Guide pratique pour la conception de systemes de culture légumes économes en produits phytopharmaceutiques – Fiches Techniques. Ministère chargé de l'agriculture, Onema, GIS PIClég. 54 pp. <https://agriculture.gouv.fr/guide-pratique-pour-la-conception-de-systemes-de-culture-legumiers-economes-en-produits>

LECOQ H. et KATIS N. (2014). Control of cucurbit viruses. In : *Advances in virus research* (Vol. 90, pp. 255-296). Academic Press.

LEWANDOWSKI D.-J., HAYES A.-J. et ADKINS S. (2010). Surprising results from a search for effective disinfectants for tobacco mosaic virus-contaminated tools. *Plant disease*, 94(5), 542-550.

LI R., BAYSAL-GUREL F., ABDO Z., MILLER S.-A. et LING K.-S. (2015). Evaluation of disinfectants to prevent mechanical transmission of viruses and a viroid in greenhouse tomato production. *Virology journal*, 12(1), 5.

- LING K.-S. (2010). Effectiveness of chemo-and thermo-therapeutic treatments on Pepino mosaic virus in tomato seed. *Plant disease*, 94(3), 325-328.
- MACKIE A.-E., MCKIRDY S.-J., RODONI B. et KUMAR S. (2002). *Potato spindle tuber viroid* eradicated in Western Australia. *Australasian Plant Pathology* 31, 311-312.
- MATSUURA S., MATSUSHITA Y., USUGI, T. et TSUDA S. (2010). Disinfection of Tomato chlorotic dwarf viroid by chemical and biological agents. *Crop protection*, 29(10), 1157-1161.
- MENNO CHEMIE-VERTRIEB GMBH. (2019). Fiche technique sur le produit MENNO Florades. 2 pp.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (2019). PLAN DE ACCIÓN DE *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* (ToBRFV). 20 pp.
- Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit. (2019). Eliminatiescenario voor *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) in de bedekte vruchtenteelt van tomaat (*Solanum lycopersicum*), paprika en Spaanse pepper (*Capsicum* spp.) op substraat, version 2.0. 5 pp.
- Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit. (2020). Eliminatiescenario voor *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV) in de bedekte biologische vruchtenteelt van tomaat (*Solanum lycopersicum*), paprika en Spaanse pepper (*Capsicum* spp.). 6pp.
- NOBLE R. et ROBERTS S.-J. (2004). Eradication of plant pathogens and nematodes during composting: a review. *Plant Pathology*, 53, 548-568.
- OEPP. (2011). Potato spindle tuber viroid on potato. PM 9/13 (1). Systèmes de lutte nationaux réglementaires. *Bulletin OEPP/EPPO*, 41, 394-399.
- OLIVIER T., SVEIKAUSKAS V., GRAUSGRUBER-GRÖGER S., MARN M.-V., FAGGIOLI F., LUIGI M., PITCHUGINA E. et PLANCHON, V. (2015). Efficacy of five disinfectants against Potato spindle tuber viroid. *Crop Protection*, 67, 257-260.
- Proefstation voor de Groenteteelt et Proefcentrum en Scientia Terrae. (2019). Infolyer: Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV). 7 pp.
- RAST A.-T.-B. et STIJGER C.-C.-M.-M. (1987). Disinfection of pepper seed infected with different strains of capsicum mosaic virus by trisodium phosphate and dry heat treatment. *Plant pathology*, 36(4), 583-588.
- ROENHORST J.-W., JANSEN C.-C.-C., KOX L.-F.-F., DE HAAN E.-G., VAN DEN BOVENKAMP G.-W., BOONHAM N., FISHER T. et MUMFORD R.A. (2005). Application of real-time RT-PCR for large-scale testing of potato for Potato spindle tuber poospiviroid. *EPPO Bulletin*, 35(1), 133-140.
- SADER-SENASICA. (2019). MEDIDAS FITOSANITARIAS PARA EL MANEJO DEL VIRUS RUGOSO DEL TOMATE. 16 pp.
- Simmbad. En ligne, <https://simmbad.fr/> (accession le 17/03/2010)
- SMITH E. et DOMBROVSKY A. (2019). Aspects in Tobamovirus Management in Intensive Agriculture. In: *Plant Pathology and Management of Plant Diseases*. IntechOpen, 2019.
- TIMMERMANN C., MÜHLBACH, H.-P., BANDTE, M. et BÜTTNER C. (2001). Control of mechanical viroid transmission by the disinfection of tables and tools. *Mededelingen (Rijksuniversiteit te Gent. Fakulteit van de Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen)*, 66(2a), 151-156.
- TURINA M. (2019). Réponses au questionnaire portant sur l'épidémiologie, la prévention et le contrôle du Tomato brown rugose fruit virus en Italie (saisine 2019-SA-0080).
- VARVERI C. (2019). Réponses au questionnaire portant sur l'épidémiologie, la prévention et le contrôle du Tomato brown rugose fruit virus en Grèce (saisine 2019-SA-0080).

4.2 Normes

NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

4.3 Législation et réglementation

COMMISSION EUROPEENNE. Décision d'exécution (UE) 2019/1615 de la Commission du 26 septembre 2019 établissant des mesures d'urgence destinées à éviter l'introduction et la propagation du virus du fruit rugueux de la tomate brune (ToBRFV) dans l'Union [notifié sous le numéro C(2019) 6826].

MINISTERIE VAN LANDBOUW, NATUUR EN VOEDSELKwaliteit. Décret du ministre de l'agriculture, de la nature et de la qualité des aliments du 21 octobre 2019, n°19246304, accordant temporairement une dérogation en vertu de l'article 38 de la loi sur les produits phytopharmaceutiques et les biocides pour protéger la culture des tomates contre le virus de la tomate rugueuse brune (ToBRFV) (Exemption temporaire pour protéger la culture de la tomate contre le virus de la tomate brune du fruit rugueux, 2019)

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de la demande

De : FERREIRA Bruno - DGAL/DIR <bruno.ferreira@agriculture.gouv.fr>

Envoyé : mercredi 26 février 2020 21:37

À : GENET Roger <roger.genet@anses.fr>; REIGNAULT Philippe <philippe.reignault@anses.fr>

Cc : SALVAT Gilles <Gilles.SALVAT@anses.fr>; CANIVET Nicolas <nicolas.canivet@anses.fr>;

ALAVOINE Virginie - DGAL/SASPP <virginie.alavoine@agriculture.gouv.fr>

Objet : signalé - ToBRFV

Bonsoir Roger,

Sur le sujet du ToBRFV, mes équipes sont en liens étroits avec le LSV et tes équipes et je t'en remercie (...). Il reste cependant quelques points sur lesquels j'aurais besoin de ta mobilisation et validation, notamment concernant (...) :

- notre demande d'éléments techniques concernant le protocole de désinfection des serres : nos questions (très pratico-pratiques) en PJ qui sont autant de questions pour lesquelles nous avons besoin de précisions de la part de la DERR ou des experts qui peuvent être mobilisés. C'est tout à fait prioritaire pour nous, et très urgent : nous avons en effet besoin de ces éléments pour déterminer la volumétrie de l'indemnisation aux producteurs en cas de destruction et défendre ce montant auprès de la DB. La question du vide sanitaire (sa durée ? rotation de cultures de plantes hôtes ou non?) est centrale pour nous. Comme vous l'aviez suggéré, nous avons également interrogé les autres Etats membres concernant leurs pratiques, je te propose de vous faire suivre les réponses qui nous sont transmises. (...).

Je te remercie par avance des éléments que tu pourras nous apporter sur ces différents points.
Bien à toi,

--

Bruno FERREIRA
Directeur général de l'alimentation
Ministère de l'agriculture et de l'alimentation
251 rue de Vaugirard - Paris 15
tel : 01 49 55 58 11

Besoin : protocole opérationnel à destination des préleveurs (SRAL, SOC, etc.) et des professionnels en amont et à l'aval d'une contamination par le ToBRFV : quel protocole, quel produit, quelle concentration, quelle durée, quelle température, etc.

- Mesures de prophylaxie
 - Désinfection de tout ce qui entre et sort de l'unité de production : mains, vêtements, chaussures, matériels réutilisables (outils, palettes, pots, godets, etc.), véhicules, etc.
 - Autres modalités de gestion de la culture : marche en avant, séparation dans l'espace ?
- Gestion de l'unité de production en cas de foyer voire systématiquement en fin de culture
 - Désinfection du contenant et du contenu permanent de l'unité de production : panneaux de la serre, sol, circuit d'irrigation, supports, paillasse, etc.
 - Durée d'un vide sanitaire ? Ou d'une rotation dans la serre ?
 - Gestion des plants infectés : séchage avant évacuation ? Quel produit ? Quelle élimination ? Transport ou sur place ? Dans quelles conditions ?

Notes
