#### Ordre de méthode



Direction générale de l'alimentation Service des actions sanitaires en production primaire Sous-Direction de la qualité, de la santé et de la protection des végétaux Bureau de la santé des végétaux 251 rue de Vaugirard 75 732 PARIS CEDEX 15 0149554955

Instruction technique

DGAL/SDQSPV/2020-237

10/04/2020

Date de mise en application : Immédiate

**Diffusion**: Tout public

Cette instruction n'abroge aucune instruction. Cette instruction ne modifie aucune instruction.

**Nombre d'annexes:** 5

**Objet :** Instruction technique sur les critères à prendre en compte dans l'analyse de risques vis-à-vis de ToBRFV dans le cadre de l'élaboration d'un plan de surveillance par un opérateur professionnel

# Destinataires d'exécution

opérateurs professionnels détenant des plantations de tomate et poivrons/piments

**Résumé :** En vertu de l'article 5 de l'arrêté ministériel du 11 mars 2020 relatif à la lutte contre le Tomato brown rugose fruit virus « ToBRFV », les professionnels doivent élaborer un plan de surveillance relatif au ToBRFV sur la base d'une analyse de risques.

Ce plan de surveillance doit permettre la mise en œuvre d'autocontrôles suivant une analyse de risque établie à l'échelle du site ou de l'unité de production et ce, à des périodes propices à l'observation de symptômes.

Le présent document précise donc les critères à prendre en compte afin de réaliser cette analyse de risques et cibler au mieux la surveillance.

**Textes de référence :**RÈGLEMENT (UE) 2016/2031 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 26 octobre 2016 relatif aux mesures de protection contre les organismes nuisibles aux végétaux;

Arrêté du 11 mars 2020 relatif à la lutte contre le Tomato brown rugose fruit virus «ToBRFV».

# Instruction technique sur les critères à prendre en compte pour l'analyse de risques vis-à-vis de Tobrev dans le cadre de l'élaboration d'un plan de surveillance par un opérateur professionnel

#### I. GÉNÉRALITÉS ET ÉLÉMENTS DE CONTEXTE

Le ToBRFV (*Tomato brown rugose fruit virus*, ou virus du fruit rugueux brun de la tomate) est un virus appartenant à la famille des *Tobamovirus*.

Les plantes hôtes principales du ToBRFV sont la tomate (*Solanum lycopersicum*), le piment et poivron (*Capsicum annuum*). Le statut de l'aubergine en tant qu'hôte est contesté : si le virus a été officiellement décrit une fois sur l'aubergine au Mexique, des éléments complémentaires émettent un doute sérieux sur son statut d'hôte.

Le virus de la tomate a fait l'objet de la 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 de ce virus.

Au niveau national, la lutte contre le ToBRFV est encadrée par **l'arrêté ministériel du 11 mars 2020** relatif à la lutte contre le *Tomato brown rugose fruit virus* « ToBRFV ».

En vertu de l'article 5 de cet arrêté, les professionnels élaborent un plan de surveillance relatif au ToBRFV sur la base d'une analyse de risques. Ce plan de surveillance doit permettre la mise en œuvre d'autocontrôles suivant une analyse de risque établie à l'échelle du site ou de l'unité de production et ce, à des périodes propices à l'observation de symptômes.

Le présent document précise donc les critères à prendre en compte afin de réaliser cette analyse de risques et cibler au mieux la surveillance.

#### 1. MODES DE TRANSMISSION ET DE DISSÉMINATION

Les *Tobamovirus* se multiplient exclusivement dans leurs plantes hôtes. Le climat ne constitue pas un facteur limitant pour l'établissement du virus dans la mesure où la plante hôte trouve des conditions climatiques favorables à son établissement

Le mode de dissémination des virus appartenant au genre *Tobamovirus* est particulièrement efficace. Deux modes de transmission permettent leur dissémination : la voie mécanique et les semences infectées.

La voie mécanique consiste en un simple contact direct entre les plantes ou les mains, les outils de travail, les vêtements des manipulateurs, les insectes pollinisateurs, les oiseaux et l'eau d'irrigation. En effet, les *Tobamovirus* peuvent pénétrer dans la plante par des microblessures provoquées par un contact physique avec tout support porteur de virus : support biologique (main de l'homme, débris végétaux, insectes pollinisateurs...), support inerte (sol, cartons/palettes, outils, vêtements, véhicules...) ou eau d'irrigation. Une fois dans la plante, les *Tobamovirus* se multiplient dans les cellules infectées au niveau du site de contact, se propagent de cellule à cellule et gagnent les tissus vasculaires

avant d'envahir la plante entière. Tous les organes de la plante hôte sont donc infectieux.

Les *Tobamovirus* peuvent être présents dans les tissus externes des semences infectées : tégument externe et plus rarement dans l'albumen. Ces virus pourront pénétrer par des microblessures lorsque la plantule, issue de l'embryon, traversera les tissus externes durant la germination. Ils se développeront ensuite dans tous les organes de la plante en croissance. Le pourcentage de plantules infectées provenant d'un lot contaminé de semences est variable en fonction des espèces virales appartenant au genre *Tobamovirus*, des plantes hôtes et des différentes études relatives à leur transmission.

Enfin, ces virus sont très stables : ils peuvent en effet survivre plusieurs mois sur des supports inertes sans perte de pouvoir infectieux.

Ces caractéristiques épidémiologiques rendent les *Tobamovirus* redoutables dans les cultures à haute densité de plantation comme les cultures conduites sous serre.

Veiller à respecter toutes les mesures de prophylaxie et de biosécurité pour éviter la dissémination du virus en cas d'infection.

Des mesures de prophylaxie et de biosécurité sont précisées en annexe 1. Des guides de bonnes pratiques sont mis à disposition sur le site du Ministère chargé de l'agriculture<sup>1</sup>.

#### 2. DISTRIBUTION DU TOBREV DANS LE MONDE

Hors de l'Union européenne, les premiers signalements datent de 2014 en Israël et en 2015 en Jordanie, dans les deux cas sur des tomates produites sous serre. Il a également été signalé en 2018 au Mexique et aux États-Unis et en 2019 en Turquie et en Chine.

Au sein de l'Union Européenne, il a été signalé en 2018 en Allemagne et en 2019 en Italie, au Royaume-Uni, aux Pays-Bas, en Espagne et en Grèce.

En France, un premier foyer a été détecté en Bretagne en février 2020.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> <u>https://agriculture.gouv.fr/virus-de-la-tomate-tobrfv-recommandations-pour-les-jardiniers-amateurs-les-jardineries-et-les</u>

Veiller à vérifier que les semences et plants utilisés sont bien accompagnés d'un certificat phytosanitaire (échanges avec les pays-tiers) ou d'un passeport phytosanitaire (échanges intracommunautaires à destination des opérateurs professionnels). Vérifier que les plants ne présentent pas de symptômes.

Pour les végétaux originaires d'un pays contaminé, veiller à conduire des contrôles visuels réguliers pour prévenir toute apparition de symptômes évocateurs de la virose.

La base de données de l'Organisation européenne de protection des plantes<sup>2</sup> (OEPP) donne des indications en ce qui concerne la distribution mondiale du virus ainsi que les photos de ses symptômes sur différentes espèces végétales.

# 3. SYMPTÔMES

Les symptômes peuvent varier selon la variété et l'espèce considérées. D'autre part, des plantes infectées peuvent ne présenter aucun symptôme. Le virus se comporte comme les autres *Tobamovirus* tels que TMV ou ToMV mais ses symptômes, en particulier sur fruits, sont plus sévères. À noter toutefois que sur les jeunes plantations ou en début d'infection, les symptômes sur feuilles ou sur fruits peuvent être plus discrets, voire inexistants.

Pour en savoir plus sur les symptômes en fonction de l'espèce hôte, se référer à l'annexe 2.

Tout symptôme suspect doit faire l'objet d'un prélèvement pour analyse. Le prélèvement est réalisé par l'opérateur professionnel dans le cadre de l'auto-contrôle. En cas de résultat d'analyse positif, la Direction régionale de l'alimentation, l'agriculture et la forêt (DRAAF) de votre région doit immédiatement être alertée. Pour aider à un pré-diagnostic à distance par la DRAAF, transmettez des photos des parties symptomatiques.

La base de données de l'Organisation européenne de protection des plantes (OEPP) met à disposition des photos des symptômes de ToBRFV sur différentes espèces végétales.

# 4. PRODUCTION ET ZONES À ENJEUX EN FRANCE

Les zones d'établissement potentiel du virus sont toutes les zones de production commerciales et les jardins de particuliers où les plantes hôtes sont cultivées.

Tout professionnel de la production ou de la revente ainsi que tout jardinier doit être acteur de la surveillance vis-à-vis du ToBRFV afin d'éviter son introduction sur le territoire ainsi que sa diffusion.

Pour en savoir plus sur la culture en France des différentes espèces hôtes, se référer à l'annexe 3.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> OEPP – global database | page dédiée à ToBRFV : <u>https://gd.eppo.int/taxon/TOBRFV</u>

#### 5. FACTEURS DE RISQUES DE DISSÉMINATION DU TOBRFV

Les filières d'entrée et de dissémination du ToBRFV sur le territoire sont les suivants :

- Les végétaux destinés à la plantation, dont les semences ;
- Les fruits;
- Les autres filières possibles : tout support inerte en contact avec la culture et les ruches (utilisées de façon courante pour la pollinisation) ;
- Les passagers transportant du matériel végétal ou via les chaussures/habits.

Veiller à bien distinguer les facteurs de risque de dissémination à courte et à longue distance : les conséquences pour les filières ne sont pas identiques. Tandis que les facteurs à courte distance constituent un risque pour le site de culture et son environnement, les facteurs à longue distance peuvent contribuer à la dissémination du virus à des échelles plus importantes.

	DISSÉMINATION À COURTE DISTANCE	DISSÉMINATION À LONGUE DISTANCE
Par contact, en	х	
touchant des plantes		
infectées		
Mécanique, par les	x	
outils de culture :		
tuteurs,		
sécateurs, greffoirs,		
ruches pollinisatrices,		
pollinisateurs, eau		
d'irrigation, substrats		
Fruits	x	x
Végétaux destinés à la	х	х
plantation, dont les		
semences		
Outils de	X	x
commercialisation		
(palettes, cartons,		
emballages)		
Déchets végétaux liés	X	
à la production		
(feuilles,)		

# II. CRITÈRES DE L'ANALYSE DE RISQUE POUR L'ÉTABLISSEMENT D'UN PLAN DE SURVEILLANCE

Conformément à l'article 5 de l'arrêté ministériel du 11 mars 2020 relatif à la lutte contre le *Tomato brown rugose fruit virus* « ToBRFV », il revient aux opérateurs professionnels d'élaborer un plan de surveillance basé sur une analyse de risques dont les critères sont présentés ci-après.

Le plan de surveillance se traduira par une surveillance régulière des lieux de culture, et une traçabilité écrite détaillant les observations, diagnostics et résultats d'analyses d'autocontrôle réalisés au sein des exploitations.

En fonction des différents critères d'analyse de risques, la fréquence des examens visuels et des prélèvements devra être adaptée par l'opérateur professionnel.

Les analyses d'autocontrôles ont vocation à être réalisées sur du matériel à risque ou représentatif d'un lot. Il appartient au professionnel de transmettre les prélèvements effectués dans un laboratoire de son choix, considérant que les laboratoires qui utilisent la méthode ISHI (RT-PCR) sont recommandés. Pour la réalisation de ces échantillons, il est nécessaire de mettre en œuvre des mesures de prophylaxie au moment du prélèvement afin d'éviter toute contamination croisée par les outils.

Un protocole de prélèvement est présenté en annexe 5.

#### LISTE DES CRITÈRES D'ANALYSE DE RISQUES

- Présence de symptômes évocateurs de la virose. Il convient donc de surveiller de manière très régulière les symptômes décrits en annexe 2 sur toutes les périodes où ces symptômes sont observables, en gardant à l'esprit que les tout premiers symptômes peuvent parfois passer inaperçus. Un calendrier de surveillance doit être mis en place au sein du site de production ainsi qu'un registre des observations. En présence de symptômes suspects, il convient de prélever un échantillon de cette plante, de préférence à la tête de la plante. Il faut également prendre un échantillon de plantes d'une autre partie de la serre, où aucun symptôme suspect n'est visible ;
- Présence de matériels végétaux originaires de sites de production français où la présence de ToBRFV est avérée (foyer) ou originaires de pays où ToBRFV est déclaré présent (pays « à risques »). La liste des pays concernés est disponible sur le site de l'OEPP³;
- Circuit de fourniture de végétaux identique à celui de végétaux ayant déjà été trouvés contaminés par ailleurs. Cette information relative au circuit pourra notamment avoir été communiquée par les services régionaux de l'alimentation dans le cadre d'une enquête de traçabilité ou par le fournisseur;
- Proximité géographique avec un foyer de ToBRFV;
- Présence sur le site de production de matériels exogènes : pollinisateurs, substrats, outils de commercialisation, etc. (voir partie 5.) ;
- Haute densité de plantation de la production, comme les cultures conduites sous serre (risques de diffusion de la virose plus élevés);
- o Forte rotation de travailleurs non formés à la reconnaissance des symptômes du ToBRFV;
- o Forte fréquentation de visiteurs susceptibles de disséminer la virose ;
- o Présence sur un même site de production de matériels d'origines multiples ;
- Incertitudes sur la qualité des produits introduits dans le site de production dues notamment à un changement de fournisseur;
- o Risques de confusion des symptômes avec ceux d'autres viroses de la mosaïque.

Le Directeur Général de l'Alimentation

**Bruno Ferreira** 

6

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> https://gd.eppo.int/taxon/TOBRFV/distribution

## Annexe 1: Mesures de prophylaxie et de biosécurité

- Avant l'entrée dans une serre ou une unité de culture, endosser des équipements dédiés à cette unité de culture ou non susceptibles d'être contaminés (désinfection, lavage, etc.) ou à usage unique : combinaison, manchettes, sur-chaussures ou sur-bottes, charlotte, gants ;
- Désinfecter :
  - les mains avant et après la manipulation des plantes ou utiliser des gants à usage unique;
  - les chaussures de travail ou les bottes avant l'entrée et la sortie de l'unité de production. Veillez à changer régulièrement la solution désinfectante des pédiluves;
  - les chariots de transport, de pulvérisation et tous les autres objets en mouvement qui entrent en contact avec la culture ;
  - les outils de travail, après avoir travaillé sur chaque plante. Idéalement, dédier un sécateur par unité de production ;
  - les serres en fin de culture.

Pour plus d'information, consulter les fiches élaborées par l'Association d'Organisations de Producteurs nationale « Tomates et Concombres de France (AOPn)¹.

# En ce qui concerne la désinfection, l'Anses² recommande :

- pour le lavage des mains, mais avec une incertitude élévée, 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, 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. À utiliser à des concentrations et temps de contact long (supérieur à 1 min), comme décrits contre d'autres virus et viroïdes difficiles à inactiver. Néanmoins, incertitude élevée sur leur efficacité contre le Tobre.
- pour la désinfection des semences, les traitements chimiques utilisant le phosphate

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Fiches ToBRFV de l'AOPn: <a href="https://www.tomates-de-france.com/espace-pros/">https://www.tomates-de-france.com/espace-pros/</a>

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Rapport de saisine de l'Anses n° **2020-SA-0038** : « 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 » :

trisodique ou l'hypochlorite de sodium et des traitements thermiques à chaleur sèche.

#### Pour la désinfection des outils, l'Anses précise :

« 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<sup>3</sup>.

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. »

-

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> The Food and Environment Research Agency (UK). Il s'agit de l'agence de sécurité sanitaire des aliments et de l'environnement britannique.

# **ANNEXE 2: SYMPTÔMES DE TOBRFV**

Il convient en premier lieu de relever que, sur les jeunes plantations ou en début d'infection, les symptômes sur feuilles ou sur fruits peuvent être discrets, voire inexistants.

#### **Tomate**

Chloroses, mosaïques et marbrures foliaires plus ou moins fortes en fonction des variétés, avec parfois un rétrécissement des feuilles. Brunissement puis dessèchement du calice durant le stade précoce de développement du fruit. Décoloration jaune ou brune des fruits avec présence possible de zones rugueuses en surface rendant les fruits non commercialisables. Une diminution du nombre et du calibre des fruits peut également se produire (Luria et al., 2017 ; Cambrón-Crisantos et al., 2018 ; Menzel et al., 2019, Salem et al., 2016 ; Fidan et al., 2019).

Néanmoins, ces symptômes ne sont pas spécifiques au ToBRFV. Ils peuvent être confondus avec des symptômes rencontrés sur des tomates infectées par d'autres virus et en particulier le Pepino mosaic virus (Potexvirus), le Potato virus Y (Potyvirus), le Tomato spotted wilt virus (Tospovirus) ou le Physostegia chlorotic mottle virus (Nucleorhabdovirus) (Hanssen et Lapidot 2010 ; Gaafar et al. 2017).



Symptômes sur Solanum lycopersicum – source : EPPO

# Piment et poivron

Jaunisses, mosaïques et boursouflures foliaires. Les feuilles peuvent présenter un port tombant. La maturation des fruits est irrégulière et une nécrose du pédoncule peut se produire. Des taches et rayures jaunes ou brunes et des nécroses, parfois rugueuses, peuvent apparaître sur les fruits (Cambrón-Crisantos et al., 2018). Expérimentalement chez certaines variétés de piments (cvs Maor, Fiona, Romans et Lyri), le ToBRFV provoque une réaction locale d'hypersensibilité (HR), se multiplie dans la plante entière, mais n'est associé à aucun symptôme systémique (Luria et al., 2017).



 ${\it Symptômes sur Capsicum\ annuum-source: EPPO}$ 

# Aubergine

Le Mexique est le seul pays à avoir signalé le ToBRFV sur aubergine et aucun symptôme n'est décrit.

# **ANNEXE 3: ZONES DE PRODUCTIONS EN FRANCE**

#### **Tomate**

Les régions Bretagne et Pays de la Loire sont les premières zones de production en France suivies par la région Provence-Alpes-Côte-D'azur, la Nouvelle Aquitaine (serre verre hors sol). Deux autres régions plus modeste sont à signaler : l'Occitanie (départements du Gard et des Pyrénées-Orientales) et le sud d'Auvergne Rhône-Alpes (département de la Drôme) (Agreste, 2017).

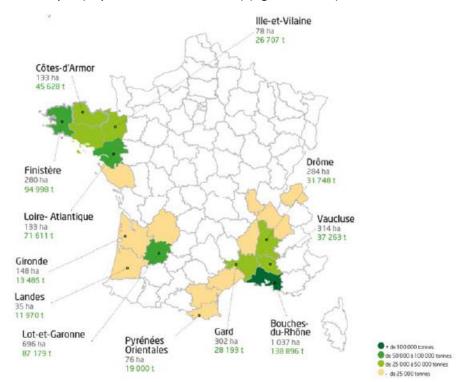


Figure 2. Répartition de la production française de tomates en 2017 Source : Agreste, élaboration FranceAgrimer chiffres clés 2017 (2018)

#### La tomate se cultive :

- sous abri : serres en verre (hors sol à 98%), tunnels plastique/multi-chapelles chauffés ou non ;
- en plein champ pour les tomates d'industrie (en surface : 75% dans le sud-est et 25 % dans le sud-ouest, FranceAgriMer, 2018) ;
- en petites parcelles pour la production amateur et la vente directe.

Dans les régions Bretagne et Pays de la Loire, la production de tomates est réalisée presque exclusivement sous abri. En région PACA, 40% de la production de tomates se fait sous abri, le reste se fait en plein champ.

#### Piment et poivron

Le piment et le poivron sont cultivés dans les régions du sud de la France et en particulier en région PACA (27%) suivie par la Nouvelle Aquitaine (18%) et la région Centre (14%) (Disar, 2018) sur une superficie totale de 807 ha.

# **ANNEXE 4: SIGNALEMENT**

Toute suspicion de la présence éventuelle de ToBRFV (descente de traçabilité de plants ou semences contaminés ou suspects, résultats d'autocontrôles positifs, symptômes évocateurs persistants) doit faire l'objet d'un signalement à la direction régionale de l'agriculture, de l'alimentation et de la forêt (DRAAF) de la région afin que soient réalisées in situ des inspections officielles visant à confirmer ou non la présence du ToBRFV<sup>4</sup>.

Les plants ou semences prélevés ainsi que les plants ou semences du même lot doivent être consignés et isolés avec les meilleurs moyens disponibles afin d'éviter toute dissémination. Les fruits ne doivent pas être commercialisés dans l'attente des résultats des analyses officielles.

\_

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Au titre de l'article L201-7 du Code rural et de la pêche maritime, le devoir d'information à l'autorité administrative de la présence suspectée ou avérée d'un organisme réglementé s'applique à toute personne.

# **ANNEXE 5: PROTOCOLE DE PRÉLÈVEMENT**

# Objets à prélever

Plants asymptomatiques de tomate, poivron ou piment pour recherche du Tomate brown rugose fruit virus (ToBRFV).

#### Matériels nécessaires

- Protection à usage unique : combinaison, manchettes, sur-chaussures ou sur-bottes, charlotte, gants, masque
- Prélèvements : matériel tranchant jetable (lames de rasoir, scalpels...), sacs plastiques transparents neufs, scellés, ruban adhésif, glacière ou équipement permettant de préserver l'échantillon de la chaleur
- Désinfection : produit virucide (substance active : Bis(peroxymonosulfate)bis(sulfate) de pentapotassium), eau de javel, savon, gel hydroalcoolique, essuie-tout, sacs pour déchets
- Petits matériels : couteau, ciseaux, bloc-notes, marqueur indélébile, stylos

#### Nature de l'échantillon

Un échantillon correspond au prélèvement de 1 à 2 folioles par plant (ou 1 à 2 feuilles par plant pour les poivrons et piments), sur 20 plants se jouxtant dans la serre ou la parcelle (soit 20 à 40 folioles ou feuilles au total). Les folioles (ou feuilles) sont prélevées sur le haut du plant, près de l'apex (cf. figure 1).

Chaque échantillon fait l'objet d'une analyse (1 échantillon = 1 analyse).

# Quantité d'échantillons :

- Pour les serres et parcelles avec une seule variété en production, réaliser au minimum 3 échantillons par serre ou parcelle, en veillant à bien les répartir dans l'espace (extrémités et milieu de serre ou parcelle par exemple). Veiller également à ce qu'une partie des échantillons soit prélevée près des entrées.
- Pour les serres et parcelles avec plusieurs variétés, réaliser un échantillon par variété dans les mêmes conditions que ci-dessus.

# Méthodologie de prélèvement

Rappel: 1 échantillon = 1 prélèvement = 1 analyse laboratoire

Repérer et/ou marquer les plantes à échantillonner afin de pouvoir les re-prélever en cas de résultats laboratoire indéterminés ou pour surveiller l'apparition d'éventuels symptômes.

En cas de résultat laboratoire indéterminé, laisser une période de 15 jours entre le prélèvement initial et le re-prélevement.

Pour le prélèvement se munir de gants et de matériel tranchant jetable (lames de rasoir, scalpels, etc.). Les gants, lames et tout autre matériel ayant servi au prélèvement seront changés entre chaque échantillon.

Pour chaque échantillon, prélever dans la zone apicale d'un plant, les 2 folioles terminales de la dernière feuille étalée (cf. figure 1) ou, pour les poivrons et piments, les 2 dernières feuilles étalées du plant. Répéter l'opération sur 20 plants contigus.

Emballer les folioles (ou feuilles) prélevées sur les 20 plants dans un sac plastique (type sac zippé) préalablement renseigné du numéro de scellé et en prenant soin de positionner les feuilles de façon à ce qu'elles ne s'abîment pas.

Fermer le sac hermétiquement et en chasser l'air. Ne pas ré-ouvrir un sachet fermé.

Envoyer les échantillons au laboratoire sous 48 heures (par Colissimo, Chronopost ou transporteur) en évitant les fins de semaine.

En cas d'envoi différé (à éviter le plus possible), conserver l'échantillon au frais (environ +6°C).

#### Protocole de biosécurité lors des contrôles :

Les prélèvements doivent être réalisés dans des conditions de biosécurité irréprochables.

- Porter les équipements de protection individuels (EPI) nécessaires et adaptés à l'entrée dans un environnement traité et potentiellement infecté par ToBRFV.
  - Les équipements de protection (combinaison, manchettes, sur-chaussures ou sur-bottes, charlotte, gants, masque) devront être à usage unique et changés à minima entre chaque serre, parcelle ou unité de culture. Après chaque utilisation, les équipements et sacs de réception des déchets (lames, gants, etc.) seront jetés dans un sac plastique afin d'être détruits. Fermer ce sac hermétiquement et le jeter aux ordures dès le retour d'inspection.
- Limiter autant que possible les contacts de matériels avec la végétation ou un environnement potentiellement infecté ; les supports de transport (glacière...), accessoires (téléphone, dossiers, etc.) doivent rester en dehors des serres et parcelles. Ne garder que le nécessaire pour la prise de note. Etiqueter les sacs d'échantillonnage avant l'entrée dans les unités à inspecter. Changer les gants autant que nécessaire.
- Lors des déplacements, garer les véhicules en dehors de l'exploitation. Dès le retour au véhicule, retirer la combinaison, la jeter dans le sac plastique contenant l'ensemble des déchets, le fermer hermétiquement. Ramener le sac pour le jeter aux ordures dès le retour d'inspection. Désinfecter les semelles de chaussures avec un produit virucide (substance active : Bis(peroxymonosulfate)bis(sulfate) de pentapotassium).

Figure 1 : plant de tomate

Dernière feuille étalée

