

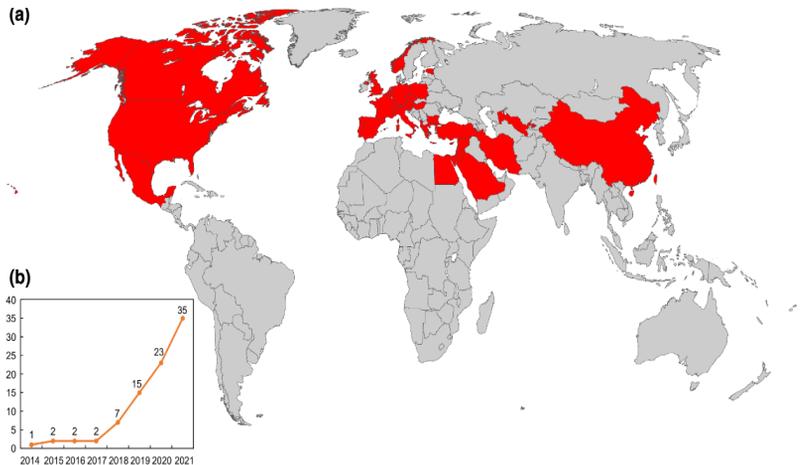
# La détection du virus du fruit brun rugueux de la tomate (ToBRFV)



Antoine Dionne  
Phytopathologiste  
Laboratoire de diagnostic en phytoprotection  
MAPAQ

## Historique de la détection de ToBRFV

- 2014-2017 : Israël et Jordanie
- 2018 : Europe et É-U
- 2019 : Ontario
- 2020 : Québec
- 2023 : de nombreuses entreprises touchées dans le monde (plusieurs au Qc)



Crédit : [Zhang et al., 2022](#)

# Aspects légaux

- Article 5 loi canadienne sur la protection des végétaux (ACIA)

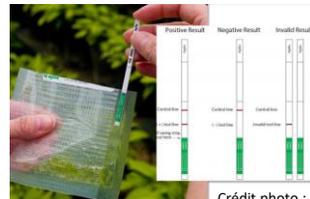
5 Quiconque constate la présence de ce qu'il croit être un parasite dans une zone où celle-ci n'était pas connue auparavant doit en faire sans délai la déclaration au ministre accompagnée d'un spécimen.

- Plus une nouveauté = plus de déclaration
- Les déclarations n'avaient pas d'impact important sur les producteurs
  - Aucune mesure de l'ACIA envers celles-ci
  - Seulement suivi de la progression du virus
  - Confirmation gratuite pour les producteurs de la présence/absence du virus



# Outils de détection

- **Immunostrip®/ELISA**
  - Moyennement sensibles
  - Moyennement précis
- **PCR/qPCR**
  - Précis et très sensible
  - Possibilité de cibler plusieurs régions du génome viral (↑ spécificité)
- **Séquençage à haut débit (SHD)**
  - Très sensible
  - Possibilité de séquencer l'ensemble du virome (tous les virus)



Crédit photo : Agdia



Crédit photo : Biorad

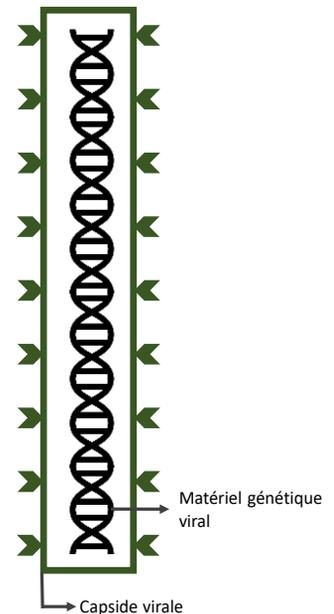


Crédit photo : Nanopore

## Outils de détection

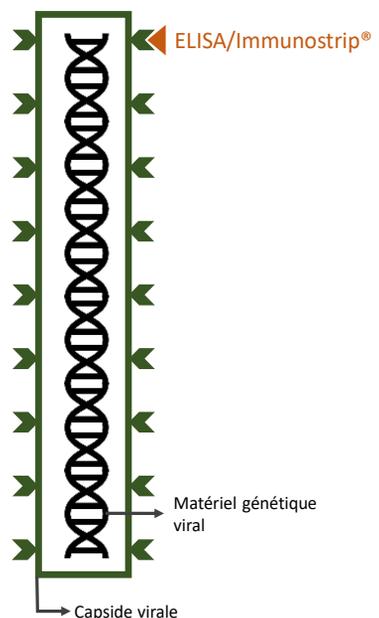
### Virus

- Matériel génétique entouré d'une capside
- A besoin d'un hôte vivant pour se multiplier
- Et d'un vecteur pour se propager



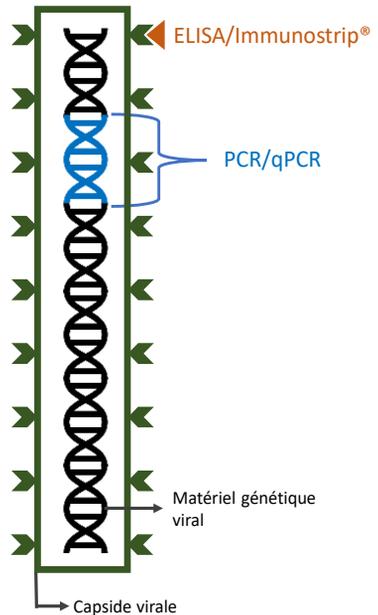
## Outils de détection

- **Immunostrip®/ELISA**
  - Moins sensibles
  - Moins précis
- PCR/qPCR
  - Précis et très sensible
  - Possibilité de cibler plusieurs régions du génome viral (↑ spécificité)
- Séquençage à haut débit (SHD)
  - Très sensible
  - Possibilité de séquencer l'ensemble du virome



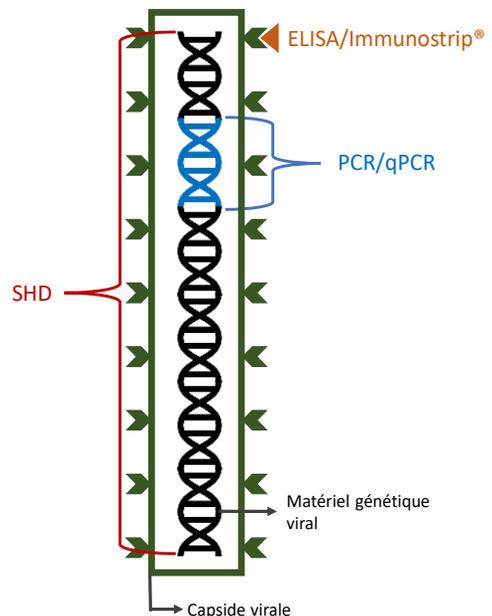
## Outils de détection

- Immunostrip®/ELISA
  - Moins sensibles
  - Moins précis
- PCR/qPCR
  - Précis et très sensible
  - Possibilité de cibler plusieurs régions du génome viral (↑ spécificité)
- Séquençage à haut débit (SHD)
  - Très sensible
  - Possibilité de séquencer l'ensemble du virome



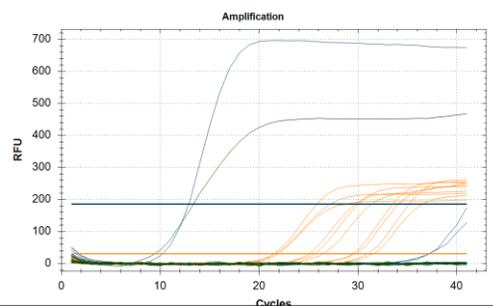
## Outils de détection

- Immunostrip®/ELISA
  - Moins sensibles
  - Moins précis
- PCR/qPCR
  - Précis et très sensible
  - Possibilité de cibler plusieurs régions du génome viral (↑ spécificité)
- **Séquençage à haut débit (SHD)**
  - Très sensible
  - Possibilité de séquencer l'ensemble du virome



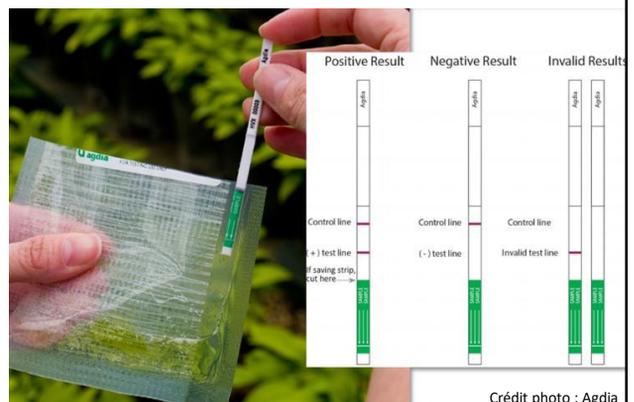
## Défis associés à la détection du virus

- Risque élevé de faux positifs
- Difficile de l'éliminer
  - **Produits habituels inefficaces** (éthanol 70% et flamme)
    - Eau de javel et stérilisateur à billes
  - Charge virale parfois extrêmement importante
    - Cas qui sortent positifs en qPCR après seulement 5 cycles (normalement c'est autour de 18 à 25 cycles pour des cas fortement positifs)
  - Adaptation de nos protocoles
    - parfois délais de réponse supérieure à 48 hres



## Défis associés à la détection du virus

- Risques de faux positifs et faux négatifs relativement élevés avec les Immunostrips®
- Réaction croisée avec d'autres tobamovirus (TMV, ToMV et ToMMV)
  - Fumeurs : attention!
- Valider vos résultats
- Surtout si vous avez des cas:
  - Positifs et asymptomatiques
  - Négatifs avec symptômes légers
- Prélever plus que nécessaire



## Bonnes pratiques pour le prélèvement d'un échantillon

- Un plant asymptomatique peut être porteur du virus.
- ToBRFV « contourne » les gènes de résistance aux TMV et ToMV
  - Gène codant pour une protéine de mouvement entre les cellules
  - ToBRFV moins efficace pour migrer d'une cellule à une autre que TMV et ToMV
  - Retarderait l'apparition des symptômes = première détection du virus plus tardive



Article

### Tomato Brown Rugose Fruit Virus: Survival and Disinfection Efficacy on Common Glasshouse Surfaces

Anna Skelton <sup>\*</sup>, Leanne Frew, Richard Ward, Rachel Hodgson, Stephen Forde, Sam McDonough, Gemma Webster , Kiera Chisnall , Mary Mynett, Adam Buxton-Kirk <sup>†</sup>, Aimee R. Fowkes , Rebecca Weekes and Adrian Fox 

*“As hand washing is unreliable, to achieve the thorough elimination of the virus, a wash of more than 30 s is required, which would be difficult to apply and enforce in practice. In practice, the worker’s hands would be highly contaminated and a 30 s or 1 min hand wash would be unlikely to eliminate the ‘green sap’ from hands.”*

## Bonnes pratiques pour le prélèvement d'un échantillon

- Mettre une paire de gants avant de manipuler le matériel propre.
- Porter une combinaison avec couvre chaussure et capuchon pour entrer dans la serre.
- Entrer dans la serre avec du matériel neuf ou désinfecté à l'eau de javel (1% NaClO) ou du Virocid (2%) (contact avec le produit pendant au moins 10 minutes).
- Ne pas utiliser le même matériel pour échantillonner plus d'une serre dans la même journée.
- Désinfecter à l'eau de javel (1% NaClO) ou du Virocid (2%) tout matériel qui a pu entrer en contact avec les plants (contact avec le produit pendant au moins 10 minutes).



Crédit photo : Dupont.ca

## Bonnes pratiques pour le prélèvement d'un échantillon

### Quoi prélever?

- Les virus se servent des cellules pour se multiplier
- Prélever les **jeunes feuilles pleinement déployées**
- Fonctionne aussi :
  - Fruits (sécales)
  - Racines : moins pratique à prélever (inhibiteurs de PCR dans le sol)
- Idéalement, séparer les prélèvements de chacun des plants (possibilité de tester individuellement au besoin)

