



**HAL**  
open science

## **Avis de l'Anses relatif à la mise à jour des connaissances sur les méthodes et procédés d'inactivation du virus de la peste porcine africaine (PPA)**

Gilles G. Meyer, Catherine C. Belloc, Stéphane Bertagnoli, Alain Boissy, Henri-Jean Boulouis, Eric Collin, Jean-Claude Desfontis, Maria-Eleni Filippitzi, David Fretin, Emmanuelle Gilot-Fromont, et al.

### ► To cite this version:

Gilles G. Meyer, Catherine C. Belloc, Stéphane Bertagnoli, Alain Boissy, Henri-Jean Boulouis, et al.. Avis de l'Anses relatif à la mise à jour des connaissances sur les méthodes et procédés d'inactivation du virus de la peste porcine africaine (PPA). [0] Saisine n°2018-SA-0237, Anses. 2019, 39 p. anses-02154220

**HAL Id: anses-02154220**

**<https://anses.hal.science/anses-02154220v1>**

Submitted on 12 Jun 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 4 avril 2019

## **AVIS** **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

**relatif à « la mise à jour des connaissances sur les méthodes et procédés  
d'inactivation du virus de la peste porcine africaine (PPA) »**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont publiés sur son site internet.*

---

L'Anses s'est autosaisie le 26 octobre 2018 pour la réalisation de l'expertise suivante :  
« mise à jour des connaissances sur les méthodes et procédés d'inactivation du virus de la peste porcine africaine (PPA) » (saisine 2018-SA-0237).

### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

Suite à la confirmation de plusieurs cas de PPA sur des sangliers en Belgique, à proximité de la frontière française, la DGAL a saisi plusieurs fois l'Anses en urgence pour répondre à des questions sur : les risques d'introduction du virus responsable de cette maladie en France, les mesures de gestion à la frontière Franco-Belge, tant dans la faune sauvage que dans les élevages de suidés.

Lors des travaux du GECU PPA, les experts se sont également interrogés sur les méthodes et produits disponibles pour inactiver le virus de la PPA, que ce soit au niveau des laboratoires qui reçoivent des prélèvements ou des cadavres d'animaux, au niveau des camions qui sont/seront utilisés pour le transport des cadavres ou des animaux vivants potentiellement contaminés, au niveau des locaux et matériaux d'élevage ou des matériaux utilisés au clos d'équarrissage, etc.

De plus, les laboratoires d'analyse vétérinaires et le Laboratoire National de Référence (LNR) pour la PPA, reçoivent des questions des parties prenantes sur les produits biocides pouvant être utilisés pour décontaminer des matériaux entrés en contact avec des matières potentiellement contaminées par le virus de la PPA. Des interrogations émanent également des entreprises spécialisées dans le développement et la commercialisation de produits biocides (confrontés entre-autres à la réglementation française concernant la manipulation du virus de la PPA).

Les réponses à ces interrogations n'étant pas immédiatement et facilement disponibles, dans ce contexte, il apparaît opportun d'agir par anticipation et de se saisir de la question de l'inactivation du virus de la PPA, des méthodes de décontamination pouvant être mises en œuvre ainsi que des produits utilisables et efficaces dans l'éventualité de foyers de PPA en France dans la faune sauvage ou dans la faune domestique.

Les questions de l'autosaisine sont les suivantes :

« Effectuer une mise à jour des connaissances sur les méthodes et procédés d'inactivation du virus de la PPA et sur la résistance de ce virus dans les différentes matrices potentiellement contaminées.

Cette mise à jour portera également sur les produits biocides utilisables pour la décontamination, tant au laboratoire que dans le cas de dépeuplement en élevage de suidés, ou au clos d'équarrissage (tant pour les porcs d'élevage que pour des cadavres de sangliers potentiellement contaminés si ceux-ci devaient y être amenés). »

## **2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE**

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) ».

L'expertise collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisé (CES) « Santé et bien-être des animaux » (CES SABA) sur la base d'un rapport initial rédigé par cinq rapporteurs entre octobre 2018 et janvier 2019. Les rapporteurs ont échangé à plusieurs reprises par téléphone. Les travaux ont été présentés au CES SABA tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques les 15 janvier et 19 février 2019.

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'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

Les éléments suivants ont été pris en compte pour la réalisation de cette expertise :

- les textes réglementaires cités tout au long du rapport sous forme de notes de bas de page,
- les publications scientifiques figurant dans la partie bibliographie en fin d'avis.

### **Périmètre de la saisine**

Dans un premier temps et pour des raisons de délais de rendu, les experts n'ont pas traité de l'inactivation du virus de la PPA dans les produits d'origine animale (plasma, viandes, salaisons, etc.). Ce sujet sera abordé dans une autre saisine.

Les publications et les données concernant la persistance du virus de la PPA dans les tiques du genre *Ornithodoros* n'ont pas été évaluées en détail car ces tiques ne sont pas présentes en France chez les mammifères. De plus, le rôle potentiel des vecteurs (par exemple les mouches du genre *Stomoxys*) dans la transmission du virus sera étudié en détail dans une saisine dédiée.

### **Démarche appliquée pour la recherche bibliographique**

Les recherches bibliographiques ont été menées sur les bases de données Scopus ([www.scopus.com](http://www.scopus.com)) et Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>). Le profil de recherche bibliographique a été élaboré avec les experts selon le modèle Anses (ANSES/PR1/9//06-01) afin de définir les mots-clés permettant de répondre à la question de la saisine (Annexe 3). Le nombre d'études triées et examinées en vue de leur éligibilité ainsi que le nombre d'articles exclus est présenté sous forme d'un diagramme de flux PRISMA<sup>1</sup> (Annexe 4). L'analyse de la bibliographie a été effectuée à l'aide d'une grille de lecture sous Excel®. Les experts ont complété cette grille en indiquant la pertinence des articles et leurs domaines d'intérêts pour le traitement de la saisine. Tous les PDF des articles d'intérêt ont été mis à disposition des experts. En complément de la recherche bibliographique effectuée avec les mots-clés définis initialement, d'autres publications dont des rapports (EFSA, OIE, etc.) et des articles scientifiques ont été ajoutés au *corpus* bibliographique par les experts

## **3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES SABA**

### **3.1. Ecologie virale de la peste porcine africaine**

#### **3.1.1. Le virus de la PPA**

Le virus de la PPA est le seul membre de la famille des *Asfarviridae*, et du genre *Asfivirus*. C'est un virus enveloppé, à symétrie icosaédrique, de grande taille (diamètre moyen de 200 nm). Sa structure moléculaire complexe est constituée de quatre domaines concentriques : un core (structure dense contenant le génome logé au sein d'un nucléoïde), recouvert d'une fine couche protéique (la matrice), surmontée d'une enveloppe lipidique (l'enveloppe interne), elle-même entourée de la capsidie qui est la structure la plus externe des virions intracellulaires. Les virions extracellulaires possèdent une enveloppe externe supplémentaire obtenue par bourgeonnement à la surface de la membrane plasmique. Les deux types de virions sont infectieux. Le génome est une molécule d'ADN bicaténaire linéaire, fermée de façon covalente à ses extrémités, dont la taille varie selon les isolats entre 170 et 193 kilo paires de base (kpb), avec une région centrale conservée de 125 kpb, et deux parties variables aux extrémités. Il contient 151 à 167 cadres de

---

<sup>1</sup> [Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses](#)

lecture ouverts, codant pour 54 protéines structurales et environ 100 protéines supplémentaires au cours du cycle viral (Dixon *et al.* 2013).

Les composants majeurs de la capsid virale sont les protéines p72, p30 et p54 et la polyprotéine pp62. La variabilité antigénique et génétique des isolats viraux a été caractérisée d'une part par le test d'inhibition de l'hémadsorption (HAI : « *hemadsorption inhibition assay* ») en présence d'antisérums de référence (définissant 8 sérogroupe différents) (Malogolovkin *et al.* 2015), et d'autre part par le séquençage de la partie 3' du gène B646L codant pour la protéine p72 (région C-terminale) distinguant 23 génotypes. Différents sous-types peuvent en outre être identifiés par des analyses génétiques complémentaires. Tous les génotypes sont présents en Afrique subsaharienne, et seuls les génotypes I et II ont diffusé hors du continent africain (Gallardo *et al.* 2015). Les souches qui sévissent au sein de l'Union Européenne depuis 2014, après avoir été introduites en Géorgie en 2007, appartiennent toutes au génotype II (Garigliany *et al.* 2019).

Indépendamment de la transmission vectorielle qui ne concerne *a priori* pas les zones dernièrement infectées, le virus de la PPA pénètre dans l'organisme cible par voie oro-nasale. Expérimentalement, les doses infectieuses 50 ont été estimées pour des isolats viraux de virulence variable. Elles varient de 2 à 10 TCID<sub>50</sub><sup>2</sup> pour des souches fortement virulentes et modérément virulentes (souches Tengani, L'60, DR-I, et Haiti-1 non hémadsorbante) et de 56 à 10<sup>4</sup> TCID<sub>50</sub> pour certaines souches modérément à faiblement virulentes (Brazil'78, Malta'78, Netherlands'86, Madrid '75, Haiti-1, DR-II, et BR-I) (Pan et Hess 1984, de Carvalho Ferreira *et al.* 2012).

### 3.1.2. Méthodes de détection du virus

Trois types de tests sont possiblement mis en œuvre lors d'études portant sur la transmission et la persistance virale : infection expérimentale de porcs par voie intramusculaire, isolement viral en culture cellulaire (et diverses méthodes de révélation/titrage) et amplification du génome viral par PCR quantitative en temps réel (qPCR). Les deux premières techniques permettent de mettre en évidence le caractère infectieux du virus étudié, tandis que les méthodes de type PCR révèlent la présence de génome, ou portions de génome viral indépendamment du degré d'infectiosité. Les tests *in vivo* ne sont plus employés en première intention (pour des questions de coût, de temps, de biosécurité et d'éthique). Les techniques d'isolement viral et d'amplification génomique sont souvent associées dans la littérature : les premières afin de s'assurer de l'état du virus détecté (infectieux ou non), les secondes permettant quant à elles un gain de temps et de sensibilité analytique. Les méthodes moléculaires sont mises en œuvre le plus souvent pour vérifier et suivre le statut des animaux étudiés, les niveaux de contamination des excréments et sécrétions, et l'environnement des animaux. La difficulté rencontrée réside dans l'interprétation de ces résultats de qPCR : des résultats positifs sans tentative d'isolement viral ne donnent pas d'information sur le pouvoir infectieux du virus détecté.

- **Infection expérimentale de porcs :**

Cette approche expérimentale est actuellement employée lors d'études du pouvoir pathogène de souches virales et d'interactions hôte-virus, le virus de la PPA étant inoculé aux animaux par voie

---

<sup>2</sup> Median tissue culture infective dose - Dose infectant 50% des cellules en culture

intramusculaire (Davies *et al.* 2017, Guinat *et al.* 2014), intranasale (de Carvalho Ferreira *et al.* 2012), ou orale (Blome, Gabriel, et Beer 2013). Elle n'est plus recommandée par l'OIE comme méthode de diagnostic (OIE 2013). Néanmoins, lorsqu'elle est mise en œuvre simultanément avec des méthodes *in vitro*, elle se révèle la plus sensible pour mettre en évidence un pouvoir infectieux résiduel. Ainsi, Bourry *et al.* ont révélé une activité infectieuse résiduelle dans un stock viral préalablement traité par la chaleur après inoculation de porcelets tandis qu'aucune multiplication virale n'avait pu être mise en évidence dans des macrophages alvéolaires (Bourry *et al.* 2018). De même, Petrini *et al.* ont observé que des extraits de produits carnés préalablement trouvés négatifs par isolement en culture cellulaire (sur monocytes de sang périphérique, révélation par activité hémadsorbante, trois passages successifs), se sont révélés infectieux chez des porcelets de deux mois inoculés par voie orale (Petrini *et al.* 2019).

- **Méthodes d'isolement viral et révélation/quantification :**

Les systèmes cellulaires les plus communs pour isoler et titrer les divers isolats de virus de la PPA sont les cultures primaires de monocytes du sang périphérique et les macrophages alvéolaires (éventuellement les cellules de la moelle osseuse). Dans certains cas, les lignées cellulaires VERO, MARC-145 et COS-1 (cellules de rein de singe vert), plus rarement les lignées issues de macrophages alvéolaires de porcs comme les *Immortalized Porcine Alveolar Macrophage* (IPAM) et les *Wild Boar Lung* (WSL), sont utilisées. Le succès de l'isolement viral, après un éventuel second passage en aveugle (cinq jours après le premier passage), est attesté par l'observation de l'effet cytopathogène. L'identification fait généralement appel à des techniques d'immunomarquage/coloration ou à la mise en évidence de l'activité hémadsorbante du virus (*haemadsorption* test ou HAT ; rosettes d'érythrocytes). Le titrage viral s'effectue *via* les techniques des dilutions limites et le titre est exprimé en TCID<sub>50</sub> ou HAD<sub>50</sub><sup>3</sup>. Un titrage par « *plaque assay* » est aussi possible sur macrophages primaires ou lignées VERO ou COS-1 (Carrascosa, Bustos, et de Leon 2011). Le seuil de détection en culture cellulaire se situe selon les auteurs entre 10<sup>0,8</sup> HAD<sub>50</sub>/mL (équivalent à 10<sup>0,9</sup> TCID<sub>50</sub>/mL) (Greig et Plowright 1970) et 10<sup>1,8</sup> TCID<sub>50</sub>/mL (Davies *et al.* 2017, Gallardo *et al.* 2015, Greig et Plowright 1970).

- **PCR quantitative :**

Les méthodes de « *real time* » PCR (PCR en temps réel) ou *quantitative PCR* (qPCR) s'appuient généralement sur les tests recommandés par l'OIE pour lesquels les amorces et la sonde Taqman ciblent une région conservée du gène codant pour la p72 (de Carvalho Ferreira *et al.* 2012, King *et al.* 2003, OIE 2013). Diverses variantes ciblant le même gène sont publiées ou disponibles sous forme de kits commerciaux (Oura, Edwards, et Batten 2013, Tignon *et al.* 2011). Les limites de détection sont généralement comprises entre 5 et 60 copies génome.

- **Comparaisons isolement/qPCR :**

Lors de la mise en œuvre concomitante des techniques d'isolement viral et de qPCR, il est possible de comparer les charges en virus infectieux et les charges en ADN viral dans des prélèvements issus d'animaux infectés ou de l'environnement, voire au sein d'une matrice soumise à un traitement particulier (chaleur, durée d'incubation ou de stockage par exemple). De façon

---

<sup>3</sup> 50% *haemadsorbing dose* – dose hémadsorbante 50

générale, pour une même condition de traitement et un même échantillon, les ADN viraux sont détectés par qPCR pendant un temps largement supérieur à l'infectiosité virale (Sindryakova *et al.* 2016). La détection de faibles quantités d'ADN [*Cycle Threshold*<sup>4</sup> (Ct) élevés, généralement compris entre 35 et 40] lors d'écouvillonnage oro-nasal peut être le reflet d'une contamination par l'environnement immédiat des animaux (environnement lui-même positif) en l'absence de processus infectieux et/ou d'excrétion (isolement viral négatif dans ce cas) (A S. Olesen, L. Lohse, *et al.* 2018). Enfin, la demi-vie du virus<sup>5</sup> infectieux dans les urines et les fèces d'animaux infectés expérimentalement a été estimée après exposition à des températures variables (entre 4 et 37°C) : elle varie de 0,65 à 0,29 jour dans les fèces, et de 2,99 à 0,41 jours dans les urines. Dans les mêmes conditions, la demi-vie de l'ADN viral est comprise entre 9,90 et 8,25 jours pour les fèces, et 32 à 19 jours pour les urines (Davies *et al.* 2017).

En résumé, la détection de l'ADN viral par qPCR n'est pas forcément prédictive de la présence de virus infectieux, mais elle confirme le statut d'une population (circulation virale). En revanche, l'absence de signal en qPCR est systématiquement associée à une absence de particules virales.

### 3.1.3. Persistance (stabilité) du virus chez les suidés et dans l'environnement

- **Éléments de pathogénie**

Le virus de la PPA peut être transmis 1) par contact direct avec des suidés infectés et leurs excréments (salive, sécrétions et productions respiratoires dont des aérosols, urine, fèces), 2) par contact indirect avec des matériels ou déchets alimentaires contaminés, et 3) par le biais de vecteurs comme des tiques molles du genre *Ornithodoros*, voire des insectes du genre *Stomoxys* (mouches piqueuses) (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2012, Penrith et Vosloo 2009).

Des tiques de l'espèce *O. erraticus* ont été jugées responsables de la persistance à long terme du virus de la PPA en Espagne et au Portugal, mais une étude publiée en 2016 rapporte qu'aucune tique molle de cette espèce n'a été retrouvée ni en Europe centrale, ni en Europe du Nord (Pietschmann *et al.* 2016). En Allemagne, des contacts potentiels entre sangliers sauvages et *O. erraticus* ont été recherchés *via* la détection d'anticorps spécifiques, mais sans succès (Pietschmann *et al.* 2016). Des tiques molles sont présentes en Ukraine<sup>6</sup>, notamment de l'espèce *O. verrucosus*, mais leur rôle dans la transmission du virus de la PPA n'est pas démontré (Filatov 2016).

En outre, la tique molle *O. maritimus*, est fréquemment retrouvée en France chez de nombreux oiseaux marins, comme la Mouette tridactyle (*Rissa tridactyla*) (Chastel *et al.* 1987) et le Goeland leucophée (*Larus michahellis*) (Dupraz *et al.* 2017), mais elle est inféodée aux oiseaux et ne peut donc pas jouer de rôle épidémiologique dans la transmission de la PPA.

<sup>4</sup> Le Ct correspond au nombre de cycles d'amplification nécessaires pour que la fluorescence liée l'hybridation des amorces et sonde dépasse le seuil de détection de fluorescence.

<sup>5</sup> La demi-vie correspond au temps nécessaire à la diminution de 50 % du titre viral ou du nombre de copies génomiques, estimée à partir de la décroissance au cours du temps d'un échantillon standardisé.

<sup>6</sup> <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/ornithodoros-current-known-distribution-january-2019>

Les tiques molles du genre *Ornithodoros* n'étant donc pas, a priori, une source potentielle de virus de la PPA en France, la persistance du virus dans cet hôte n'a pas été étudiée dans le cadre de cette saisine.

De même, les connaissances quant à la persistance du virus dans les stomoxes ne sont pas reprises ici, la contamination potentielle de suidés *via* ces vecteurs étant encore peu documentée et/ou pouvant à ce stade toujours être considérée comme marginale (A S. Olesen, M F. Hansen, *et al.* 2018, A. S; Olesen *et al.* 2018, Mellor, Kitching, et Wilkinson 1987).

Des suidés sauvages comme les phacochères, potamochères et hylochères éventuellement hébergés dans des parcs zoologiques ou des réserves fauniques pourraient potentiellement être infectés et multiplier le virus, mais ces animaux ont été associés à des titres viraux faibles lors de leur infection par le virus de la PPA (DeTray 1957, Kleiboeker et Scoles 2001, Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2012). Aussi leur rôle épidémiologique en particulier, en l'absence de vecteurs connus chez les mammifères en France, a été considéré comme négligeable.

Ainsi, ce sont les sangliers et les porcs infectés qui pourraient constituer la principale source de virus de la PPA en France. L'excrétion du virus par les porcs et les sangliers infectés et la stabilité du virus dans l'environnement détermineraient donc l'étendue de la contamination.

Chez les suidés infectés, les premières cellules cibles du virus sont les monocytes et les macrophages des amygdales et des nœuds lymphatiques mandibulaires, depuis lesquels le virus diffuse dans l'organisme *via* les ganglions drainants et le sang. Les nœuds lymphatiques, la moelle osseuse, la rate, les poumons, le foie, les reins sont des organes cibles, sites de la réplication secondaire du virus (EFSA *Panel on Animal Health Welfare* 2014, Gale 2004, Gallardo *et al.* 2015, Penrith et Vosloo 2009, Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2012).

Ainsi, la virémie est précoce, importante et durable (Blome, Gabriel, et Beer 2013). Tous les tissus contiennent du virus, de même que l'ensemble des matières sécrétées et excrétées par les animaux infectés, *i.e.*, les matières fécales, l'urine, les sécrétions nasales et génitales et la salive (Gallardo *et al.* 2015, Penrith et Vosloo 2009, USDA 2013, Greig et Plowright 1970, Davies *et al.* 2017, Montgomery 1921, Gabriel *et al.* 2011).

Les porcs infectés sont contagieux dès la phase d'incubation de la maladie, puisqu'ils peuvent disséminer des quantités importantes de virus infectieux 48 heures avant l'apparition des signes cliniques (Gallardo *et al.* 2015), mais surtout pendant la phase clinique où le génome viral est retrouvé simultanément dans le sang, les sécrétions et les excréments (Penrith et Vosloo 2009). Cependant, c'est dans le sang que sont mesurées par qPCR les charges virales les plus importantes (Blome, Gabriel, et Beer 2013, de Carvalho Ferreira *et al.* 2012, Guinat *et al.* 2014). Blome et Gabriel indiquent, par exemple, avoir quantifié, chez des porcs infectés expérimentalement et prélevés pendant la phase clinique,  $3 \times 10^6$  copies de génome dans  $1 \mu\text{L}$  d'ADN issu de  $200 \mu\text{L}$  de sang et  $4-8 \times 10^3$  copies/ $\mu\text{L}$  d'ADN extrait d'écouvillons rectaux et  $2-6 \times 10^2$  copies/ $\mu\text{L}$  d'ADN issu d'écouvillons oropharyngés (Blome, Gabriel, et Beer 2013). De même, Guinat *et al.* ont mesuré, chez des porcs infectés par la souche Georgia 2007/1 (inoculés par  $10^2$  HAD<sub>50</sub> par voie intramusculaire ou contaminés suite à contact direct ou indirect) pendant la phase clinique (0 à 20 jours post-infection), des titres viraux allant jusqu'à  $10^6$  à  $10^8$  HAD<sub>50</sub>/mL dans les échantillons de sang des animaux mais seulement jusqu'à  $10^2$  à  $10^4$  HAD<sub>50</sub>/mL dans les surnageants d'écouvillons nasaux et rectaux (Guinat *et al.* 2014). Dans une autre étude, également pendant la phase aiguë de l'infection (0–21 jours post-infection), le virus (quelle que soit la souche Brazil'78, Malta'78 ou Netherlands'86, ou la dose inoculée) a été détecté dans les fèces dans 50 à 80 % des cas trouvés positifs *via* le sang (de Carvalho Ferreira *et al.* 2012).



Globalement, la présence de virus infectieux dans les fèces est observée entre 10 et 35 jours après inoculation expérimentale, avec des variations notables au niveau individuel et selon les souches (de Carvalho Ferreira *et al.* 2012). Ce pourcentage tombe à 10 % pendant les phases sub-cliniques ou chroniques de la maladie (de Carvalho Ferreira *et al.* 2012). Bien que du génome viral soit facilement détecté dans la salive, les isollements viraux sont parfois négatifs à partir de ce fluide, probablement en raison de la présence d'inhibiteurs (Davies *et al.* 2017, Guinat *et al.* 2014). Toutefois, des isollements ont parfois été possibles mais les titres obtenus étaient généralement très faibles, au seuil de sensibilité des méthodes d'isollements (Blome *et al.* 2012, de Carvalho Ferreira *et al.* 2012, Greig et Plowright 1970, Gabriel *et al.* 2011).

Ainsi, les études s'accordent pour conclure que la principale source infectieuse est le sang et toute sécrétion (orale par exemple) contaminée par celui-ci (Gabriel *et al.* 2011, Guinat *et al.* 2014), sans exclure le rôle joué par les fèces et les urines (Davies *et al.* 2017). De plus, une autre étude reprenant des travaux de Mc-Vicar (McVicar 1984) rapporte que la moelle osseuse des carcasses de porc contaminés contient  $10^{9.5}$  HAD/g, ce qui suggère un rôle possible de ce tissu dans la transmission du virus *via* les carcasses d'animaux en état avancé de dégradation (Gale 2004).

A noter qu'il n'a pas été trouvé de corrélation entre la charge virale dans le sang et la charge virale dans les excréments/sécrétions (Davies *et al.* 2017, Guinat *et al.* 2014). Cependant, les fèces issues de porcs infectés seraient plus ou moins chargées en particules virales infectieuses en fonction de la souche virale impliquée, comme décrit lors d'études comparatives de souches moyennement (Malta'78 et Netherlands'86) et hautement (Brazil'78) virulentes (de Carvalho Ferreira *et al.* 2014).

Les porcs qui survivent à l'infection peuvent encore disséminer du virus un mois après la disparition des signes cliniques (Penrith et Vosloo 2009, Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2012), voire même trois mois après le début de l'infection (Gallardo *et al.* 2015). Des formes chroniques de la maladie, ou des infections persistantes, ont été décrites dans certaines populations de suidés sauvages en Afrique, dans des régions où la maladie est devenue enzootique (Gallardo *et al.* 2015, Penrith et Vosloo 2009). Des infections expérimentales ont d'ailleurs décrit la possibilité de survenue d'infections persistantes. Dans une étude comportant 19 porcs ayant survécu à une infection par la souche espagnole E75-L7 ou par la souche atténuée E75-CV1, du génome viral a été détecté dans les monocytes-macrophages du sang périphérique de 100 % des animaux jusqu'à 500 jours post-infection (Carrillo *et al.* 1994). Même s'il n'a pas été possible d'isoler du virus infectieux à partir de ces cellules, les auteurs ont émis l'hypothèse d'infections persistantes. Plus récemment, il a été rapporté que l'ADN viral peut persister jusqu'à 70 jours post-infection dans le sang d'animaux infectés par des souches moyennement virulentes comme la souche Malta'78 (de Carvalho Ferreira *et al.* 2012), faisant le lien avec d'autres études plus anciennes qui rapportaient que des animaux infectés de manière persistante pouvaient excréter du virus en l'absence de virémie détectable par isolement viral et en l'absence de signes cliniques (Wilkinson 1984, Wilkinson, Wardley, et Williams 1981, Ordas, Sanchez Botija, et Diaz 1983). Ainsi, ces travaux conforteraient l'hypothèse émise par Wilkinson en 1984, selon laquelle des infections persistantes par des souches moyennement virulentes pourraient conduire à une maladie chronique, avec excrétion possible de virus infectieux à bas bruit (Wilkinson 1984).

En 2015, Vlasova *et al.* ont décrit des infections considérées comme subaiguës chez des porcs inoculés expérimentalement par les souches russes Karamzino 06/13 et Kashino 04/13 (isolées de sangliers) pour lesquels, la maladie s'est développée plus lentement et a duré plus longtemps qu'à l'accoutumée après inoculation de virus PPA (Vlasova *et al.* 2015).

- **Résistance intrinsèque du virus**

- ✓ Résistance dans l'air

Le virus de la PPA peut être transmis *via* des aérosols, mais *a priori* seulement sur de très courtes distances, et seulement au sein d'un même élevage (de Carvalho Ferreira *et al.* 2013, Penrith et Vosloo 2009, Wilkinson *et al.* 1977). Il a été montré que la souche POL/2015/Podlaskie/Lindholm isolée à partir d'un sanglier peut infecter le porc et se transmettre de porc en porc par contact direct mais également *via* l'air (Olesen *et al.* 2017).

En conditions expérimentales habituelles, la demi-vie du virus dans l'air a été estimée à 19 min en moyenne quand analysée par PCR et 14 min en moyenne quand analysée par titrage viral (de Carvalho Ferreira *et al.* 2013). Dans cette étude, du génome viral a pu être détecté par qPCR (jusqu'à  $10^{3.2}$  TCID<sub>50</sub> eq.<sup>7</sup>/m<sup>3</sup>) dans l'air des salles hébergeant des porcs infectés, à partir de 4 jours post-infection et jusqu'à la fin de l'expérience, soit 70 jours post-infection.

Très peu d'études existent sur la survie du virus de la PPA dans le milieu extérieur. Selon l'EFSA le virus de la PPA survivrait plus longtemps en milieu sec qu'en milieu humide (EFSA *Panel on Animal Health Welfare* 2010, 2014). Ainsi, la demi-vie du virus ne serait que de 5 minutes dans des aérosols en conditions d'humidité relative supérieure à 30 % et il serait inactivé lorsque l'humidité relative dépasse les 50 % (Donaldson et Ferris 1976). Toutefois l'étude est ancienne et l'interprétation des résultats, tels que présentés, peut-être équivoque.

Sous les tropiques, où l'humidité relative est importante, des porcheries contaminées ne demeureraient pas infectieuses pour des porcs domestiques pendant très longtemps (moins de cinq jours) (Montgomery 1921). Selon une étude conduite en Afrique, du virus non protégé par des matières organiques a été rapidement inactivé, en deux jours, par les rayonnements du soleil (Montgomery 1921). Cette étude, bien qu'ancienne, a été réalisée en inoculant des porcs.

- ✓ Résistance dans l'eau

Du virus a survécu pendant 50 jours en été et 176 jours en hiver dans un échantillon d'eau douce (provenant d'un lac) contaminée artificiellement par du sang de porc infecté (dilution 1:1000) et enfoui dans le sol dans un contenant en verre, à une profondeur de 12 cm (EFSA *Panel on Animal Health Welfare* 2014, Chenais *et al.* 2019, communication personnelle K. Depner d'après Kovalenko, Sidorov, et Burba 1964)<sup>8</sup>. Dans une autre étude, de l'eau contaminée avec un titre viral de  $10^{5.5}$  HAU<sub>50</sub>/cm<sup>3</sup> s'est révélée positive en PCR temps réel après 60 jours de stockage entre 22 et 25°C, mais aucune particule infectieuse n'a pu être isolée en culture cellulaire (Sindryakova *et al.* 2016).

- **Persistance du virus dans le sang, les sécrétions/excrétions et les cadavres**

- ✓ Résistance dans les tissus, les cadavres

Le virus a montré une remarquable capacité à persister pendant de longues périodes dans des environnements protéiques et par conséquent, suite à la virémie, dans de nombreux tissus, dont

<sup>7</sup> Median tissue culture infective dose equivalents

<sup>8</sup> La publication originale de Kovalenko *et al.* 1964 étant en Russe, un document de synthèse en anglais préparé par K. Depner, en mai 2018 a été gracieusement fourni par l'EFSA.

<sup>9</sup> 50% haemadsorbing unit – unité hémadsorbante 50

les tissus musculaires (la viande) de porcs abattus en phase clinique ou morts naturellement de la maladie (Mebus *et al.* 1997, McKercher *et al.* 1987). Dans des échantillons de tissus stockés à 20°C, les demi-vies des souches virales étudiées varient entre 1,7 et 7,4 jours (de Carvalho Ferreira *et al.* 2014), l'organe où le virus infectieux se maintient le plus longtemps étant la rate. Malgré la putréfaction, le virus peut persister pendant de longues périodes dans certains tissus comme la moelle osseuse (McKercher *et al.* 1987, Mebus *et al.* 1997, Penrith et Vosloo 2009, Gale 2004).

✓ Résistance dans le sang et le sérum

Le virus de la PPA peut être isolé à partir de sérums ou de sangs conservés à température ambiante pendant 18 mois (EFSA *Panel on Animal Health Welfare* 2010), et resterait viable dans du sang putréfié pendant 15 semaines à température ambiante (Sánchez-Vizcaíno, Mur, et Martínez-López 2013, Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2012, OIE 2013, USDA 2013). Le virus (souche Lisboa) survivrait pendant 2 165 jours dans du sang lyophilisé et pendant au moins 1 526 jours dans du sang et du sérum stockés en ampoules scellées (EFSA *Panel on Animal Health Welfare* 2014, Chenais *et al.* 2019, communication personnelle K. Depner d'après Kovalenko, Sidorov, et Burba 1964), ainsi que 2 230 jours dans du sang défibriné maintenu à 4-6°C sans conservateur (EFSA *Panel on Animal Health Welfare* 2014, Chenais *et al.* 2019, communication personnelle K. Depner d'après Kovalenko, Sidorov, et Burba 1964).

✓ Résistance dans les fèces et les urines

Dans une étude visant à évaluer l'intérêt des fèces comme échantillons de dépistage de la PPA, il a été considéré que l'ADN viral est très stable dans cette matrice, puisque sa demi-vie a été estimée à plus de deux ans lorsque les fèces issues de porcs infectés par différentes souches (Brazil'78, Malta'78 et Netherlands'86) sont stockées à des températures ne dépassant pas 12°C (de Carvalho Ferreira *et al.* 2014). Cette demi-vie est encore de 15 jours en cas de stockage à 30°C (de Carvalho Ferreira *et al.* 2014). Cependant, dans une autre étude, la demi-vie de l'ADN viral a été estimée à 8-9 jours seulement dans des fèces de porcs infectés par la souche Georgia 2007/1, ceci indépendamment de la température de stockage en laboratoire (Davies *et al.* 2017). Les différences importantes entre les deux études mentionnées ci-dessus, attribuées pour partie à un effet souche par les auteurs, sont intrigantes et contradictoires. Quoi qu'il en soit, il est à rappeler que la présence d'ADN viral ne révèle pas le potentiel infectieux de ces excréments.

D'autres études et revues, plus en phase avec celle de Davies *et al.*, rapportent que le virus de la PPA résiste dans des matières fécales pendant 11 jours après stockage à température ambiante et à l'obscurité (Sánchez-Vizcaíno, Mur, et Martínez-López 2013, Montgomery 1921).

Après avoir calculé les demi-vies du virus dans les fèces à différentes températures de stockage, et tenant compte de la dose minimale infectante, Davies *et al.* ont estimé que les fèces demeureraient infectieuses pendant 8,5 jours lorsque stockées à 4°C, et pendant seulement 3,7 jours en cas de stockage à 37°C (Davies *et al.* 2017).

En situation naturelle les fèces vont se dégrader en quelques mois avec cependant des variations selon la période de l'année concernée (Hone et Martin 1998). Le virus de la PPA résiste apparemment mieux à la dégradation dans l'urine que dans les fèces. Ainsi, il a été estimé que les urines demeureraient infectieuses pendant 15,3 jours si stockées à 4°C (2,9 jours en cas de stockage à 37°C) (Davies *et al.* 2017). Dans un autre rapport, il est indiqué que le virus de la PPA

survivrait pendant 45 jours dans de l'urine contaminée stockée dans un contenant en verre enterré à une profondeur de 12 cm (EFSA *Panel on Animal Health Welfare* 2014, Chenais *et al.* 2019, Communication personnelle K. Depner d'après Kovalenko, Sidorov, et Burba 1964). Dans cette étude le caractère infectieux des virus est vérifié en fin de protocole par inoculation à des porcs naïfs.

✓ Résistance dans la salive

Comme indiqué plus haut, même si de l'ADN viral est détecté dans les fluides oraux, il est rare de pouvoir isoler des particules virales infectieuses à partir de la salive.

✓ Résistance dans les cadavres

Enfin, l'EFSA rapporte d'après Kovalenko *et al.* que le virus resterait viable dans des cadavres de sangliers contaminés expérimentalement, par du sang infecté, pendant 81 jours (en été-automne) après enfouissement dans le sol à une profondeur de 12 cm, et pendant 192 jours lorsque laissés à la surface du sol (EFSA *Panel on Animal Health Welfare* 2014, Kovalenko, Sidorov, et Burba 1964).

Ainsi, les temps de survie du virus infectieux dans les différents milieux dépendraient des enzymes (protéases, lipases et DNase), lesquelles peuvent varier en fonction des bactéries présentes. Dans tous les cas, la demi-vie de l'ADN viral est beaucoup plus longue que celle du virus infectieux.

• **Persistence du virus sur des supports inertes**

Les supports inertes décrits comme pouvant être contaminés par le virus de la PPA *via* des matières infectieuses issues de porcs malades comme le sang, les sécrétions oro-nasales et génitales ou encore les excréments (fèces, urine) des animaux infectés sont : la litière, les aliments des animaux, les équipements de l'élevage, les vêtements du personnel, les véhicules de transport (Penrith et Vosloo 2009) mais également le sol et l'eau de lavage (Chenais *et al.* 2017).

Le virus persisterait dans du sang déposé sur une surface en bois pendant 70 jours (Montgomery 1921) repris dans (OIE 2013, USDA 2013)). Il persisterait pendant 112 jours dans du sang déposé sur des briques enfouies dans le sol à une profondeur de 12 cm, et pendant 81 jours dans des boîtes enterrées dans le sol du jardin ou dans le sol d'une forêt (Chenais *et al.* 2019, EFSA *Panel on Animal Health Welfare* 2014, Communication personnelle K. Depner d'après Kovalenko, Sidorov, et Burba 1964).

En résumé, d'après les études rapportées dans la littérature, le virus de la PPA est un virus résistant lorsqu'il est associé à de la matière organique. Ainsi, il peut persister sous une forme viable plusieurs mois dans le sang et dans les cadavres (même putréfiés) d'animaux infectés, ceci dans des gammes de températures dites « ambiantes » (variables selon les saisons et/ou les régions et/ou le niveau d'enfouissement dans le sol le cas échéant). Le virus demeure infectieux beaucoup moins longtemps, de l'ordre de quelques jours, dans les excréments (fèces, urine). Enfin, sa survie serait très limitée dans la salive ainsi que dans l'air, notamment dans les régions humides et/ou ensoleillées (sensibilité à l'humidité et à la lumière). Les informations quant à la survie du virus dans l'eau sont très limitées et difficiles à interpréter.

Il apparaît que beaucoup d'études relatives à la persistance (survie) du virus de la PPA dans ses hôtes suidés, dans les produits biologiques issus de ces hôtes ou dans l'environnement, sont anciennes et parfois difficilement exploitables du fait de la langue originale de l'article. Par ailleurs, de nombreux rapports et revues de la littérature se réfèrent successivement à ces études anciennes, sans pour autant questionner leur validité. A noter que des contradictions entre études apparaissent à l'analyse des résultats présentés. Il serait donc opportun d'encourager de nouvelles recherches relatives à la résistance du virus de la PPA dans les différentes conditions (matrices et conditions environnementales) pouvant être rencontrées sur le terrain, afin de conforter et d'actualiser les connaissances à ce sujet.

### 3.2. Inactivation du virus de la PPA

#### 3.2.1. Utilisation de procédés physico-chimiques

##### 3.2.1.1. La température

Les différentes agences sanitaires mentionnent toutes une inactivation par la chaleur, 60°C pendant 30 minutes (EFSA *Panel on Animal Health Welfare* 2010), 56°C pendant 70 minutes ou 60°C pendant 20 minutes (USDA 2013, OIE 2013) sans toutefois être précis sur la nature de la souche et la matrice considérées.

Le premier à avoir démontré l'effet de la chaleur sur la viabilité du virus de la PPA est R. Montgomery (Montgomery 1921) qui, par des séries d'inoculation de porcs avec du virus ayant subi différents traitements thermiques, montre que l'inactivation du virus, démontrée en par le fait que les porcs inoculés ne développent pas la maladie, se produit à :

- 40°C pendant au moins 25 jours ;
- ou 50°C pendant au moins 4 heures ;
- ou 55°C pendant au moins 20 à 30 minutes ;
- ou 60°C pendant au moins 10 minutes.

Le couple temps/température souvent repris de 30 minutes à 60°C (EFSA *Panel on Animal Health Welfare* 2010) et la température seuil de 56°C (OIE 2013, USDA 2013) proviennent au moins en partie d'une étude d'inactivation expérimentale par la chaleur de différents stocks viraux (Plowright et Parker 1967). Dans cette étude, plusieurs surnageants de cultures de cellules infectées par des souches de virus de la PPA provenant du Malawi (souche Tengani), de France (souche F86) et d'Espagne (souches Salamanca et Lisbon/60) ont été traitées. L'étude a démontré que plusieurs facteurs semblent influencer sur le temps nécessaire à l'inactivation des virus : le titre viral de départ, la souche du virus, le nombre de passages en cultures cellulaires et l'adjonction de sérum de porcs.

Ceci pourrait expliquer les résultats d'une l'étude récente dans laquelle l'inactivation d'un stock viral de la souche Georgia 2007/01 (amplifiée sur macrophages alvéolaires et titrant à  $10^{7.8}$  HAD/mL de surnageant) par chauffage au bain-marie à 60°C pendant 30 minutes s'est révélée inefficace, puisque des particules virales résiduelles ont pu se multiplier sur macrophages alvéolaires (Bourry *et al.* 2018). Après prolongation du traitement à 60°C pendant 90 min supplémentaires (soit 120 min au total), il n'a pas été mis en évidence de multiplication virale *in*

*vitro*, mais l'inactivation n'a pas été complète puisqu'une souche atténuée a pu se multiplier chez un des deux porcs exempts d'organismes pathogènes spécifiés (EOPS) inoculés expérimentalement (injection intramusculaire de 2,5 mL du stock viral traité) dans le cadre d'un bio-essai de vérification de l'inactivation. Après traitement supplémentaire à 85°C pendant 10 min (soit au total 120 min à 60°C + 10 min à 85°C), le virus a été complètement inactivé puisqu'aucune trace de multiplication n'a été révélée ni *in vitro*, ni *in vivo* après inoculation de deux autres porcs EOPS.

D'autres données de la littérature mentionnent des durées et températures d'inactivation variables en fonction des matrices biologiques considérées (Tableau 1).

**Tableau 1 : Données de la littérature sur l'inactivation du virus de la PPA par la chaleur**

| Matrice           | Titre viral initial (mesuré ou estimé)           | Conditions d'inactivation (durées et températures)   | Références bibliographiques et précisions sur les données  |
|-------------------|--|--|--|
| Lisier de porc    | 10 <sup>5,3</sup> HAD <sub>50</sub> /mL          | Dès 40°C en 4 heures<br>50°C 1 heure<br>60°C 15 min  | Publications expérimentales (Turner <i>et al.</i> 1998, Turner et Williams 1999)   |
| Liquide du fumier | ND   | Entre 65°C et 100°C pendant 30 minutes   | Revue et à partir de données non publiées (Haas <i>et al.</i> 1995)  |
| Carcasses         | 1,8 10 <sup>13</sup> HAD <sub>50</sub> /carcasse | Compostage au moins 2 jours pour que la température atteigne 56°C à cœur (le compost étant à 60°C), la réduction du titre virale est estimée à 6 log | Revue de Franke-Whittle et Insam 2013, extrapolations à partir de trois publications :<br>- Plowright et Parker 1967 : inactivation de 5 log d'une suspension virale de virus de la PPA 90 minutes à 56°C ;<br>- Haug 1993 : une sphère de 40 cm de diamètre (comparable à un gros jambon ou une carcasse) atteint les 56°C à cœur en 40 heures au sein d'un compost à 60°C ;<br>- McVicar 1984, repris par Gale 2004 : estimation du titre initial (carcasse) et de l'abattement par la chaleur |

ND : non disponible ; HAD<sub>50</sub>/mL : 50% *hemadsorbing doses per mL*

La congélation ne permet pas une inactivation du virus qui survit pendant plusieurs mois ou années (Dixon *et al.* 2013, EFSA Panel on Animal Health Welfare 2010, Mebus *et al.* 1997, Plowright et Parker 1967). Le virus survit pendant 1 000 jours dans de la viande congelée (Sánchez-Vizcaíno, Mur, et Martínez-López 2013). Le froid (4°C) peut cependant présenter un effet bénéfique car il renforce l'effet de la chaleur lorsqu'il est appliqué avant le choc thermique à la chaleur. L'inactivation du virus à 56°C ou 60°C est plus courte si un stockage préalable à 4°C (de 2 à 37 jours) est réalisé (Plowright et Parker 1967).

### 3.2.1.2. Le pH

Les différentes agences sanitaires mentionnent une large gamme de pH tolérés par le virus de la PPA mais sans faire référence à des travaux expérimentaux précis. Pour l'EFSA cette gamme de pH varie de 4 à 13 (EFSA Panel on Animal Health Welfare 2010). L'USDA et l'OIE mentionnent

une résistance accrue en présence de sérum. Par exemple, l'inactivation se produit à pH 13,4 en 21 heures en l'absence de sérum mais nécessite 7 jours en présence de sérum (OIE 2013, USDA 2013).

Ces chiffres semblent provenir d'une étude initiale (Plowright et Parker 1967) qui expérimente l'effet des bas et haut pH sur la souche Tengani du Malawi et la souche française F86. Les surnageants de culture virale des deux souches présentent le même comportement à pH élevé ou très bas, la seule différence étant une inactivation plus rapide de la souche française. La détection du caractère infectieux se fait sur culture cellulaire de moelle osseuse de porcs (Tableau 2).

**Tableau 2 : Données de la littérature sur l'inactivation du virus de la PPA par le pH**

|   | <b>pH basique</b>   | <b>pH acide</b>   |
|---|---|---|
| <b>Souche française F86 résultats</b>     | Titre de départ de 8,5 log <sub>10</sub> HAD <sub>50</sub> /mL<br>Diminution importante du titre pour un pH >9,1<br>Fraction résistante avec un titre autour de 2,5 log <sub>10</sub> HAD <sub>50</sub> /mL après 8 j pour les pH entre 9,5 et 12,6 | Titre de départ de 7,5 log <sub>10</sub> HAD <sub>50</sub> /mL<br>Diminution importante du titre pour un pH <3,9<br>Fraction résistante avec un titre entre 2 et 3 log <sub>10</sub> HAD <sub>50</sub> /mL après 21h pour les pH entre 3,1 et 3,4 |
| <b>Souche Tengani du Malawi résultats</b> | Titre de départ de 8,5 log <sub>10</sub> HAD <sub>50</sub> /mL<br>Diminution importante du titre pour un pH >10,8<br>Fraction résistante avec un titre autour de 2 log <sub>10</sub> HAD <sub>50</sub> /mL après 8 j pour les pH entre 10,8 et 12,6 | Titre de départ de 8,2 log <sub>10</sub> HAD <sub>50</sub> /mL<br>Diminution importante du titre pour un pH <3,4<br>Fraction résistante avec un titre entre 2 et 3 log <sub>10</sub> HAD <sub>50</sub> /mL après 21h pour les pH entre 3,1 et 3,4 |
| <b>Conclusions de l'étude</b>             | Seule la souche française est testée avec des pH supérieurs à 12,6. Après 50 h à pH 13,4, le virus n'est plus détecté. L'adjonction de sérum de porc ralentit cette inactivation  | Seule la souche française est testée avec des pH inférieurs à 3,4.<br>Le virus n'est plus détecté à des pH inférieurs à 2,7 après plus de 4 h.  |

En comparant les temps nécessaires pour inactiver la souche française, le virus semble plus résistant aux pH basiques qu'aux pH acides.

Le pH à atteindre pour inactiver le virus est fonction de la matrice incluant le virus comme le suggère l'étude de Plowright et Parker avec des résultats sur l'adjonction de sérum (Plowright et Parker 1967). Du fait du temps nécessaire pour inactiver le virus à pH basique, le traitement de carcasses contaminées par hydrolyse alcaline n'est pas recommandé (Franke-Whittle et Insam 2013). L'inactivation par le pH dépend en fait plus d'une combinaison température/pH (Kalmar, Cay, et Tignon 2018). Les résultats d'inactivation d'une souche virale titrant à 10<sup>5,8</sup> HAD<sub>50</sub>/mL de lisier de porc, par adjonction d'hydroxyde de sodium ou d'hydroxyde de calcium (chaux éteinte) sont présentés dans le Tableau 3.

**Tableau 3 : Résultats d'inactivation virale par adjonction de NaOH ou de Ca(OH)<sub>2</sub> (Turner et al. 1998) à du lisier de porc contaminé à du lisier de porc contaminé**

|                                | Températures et durées d'application |       |         |        |       |         |
|--------------------------------|--------------------------------------|-------|---------|--------|-------|---------|
|                                | 22°C                                 |       |         | 4°C    |       |         |
|                                | 30 min                               | 5 min | 2,5 min | 30 min | 5 min | 2,5 min |
| <b>NaOH 1%</b>                 | VI                                   |       |         | VI     | VI    | VI      |
| <b>NaOH 0,5%</b>               | VI                                   | NE    | NE      | VI     |       |         |
| <b>NaOH 0,2%</b>               |                                      |       |         | NE     |       |         |
| <b>Ca(OH)<sub>2</sub> 1%</b>   | VI                                   |       |         | VI     | VI    | VI      |
| <b>Ca(OH)<sub>2</sub> 0,5%</b> | VI                                   | NE    | NE      | VI     |       |         |

VI = inactivation virale (vérifié sur cultures cellulaires), NE = non efficace

Ces temps d'inactivation sont modifiés, dans le sens d'une augmentation ou d'une diminution, lorsque le lisier est enrichi en matières solides comme dans du fumier (Turner, Williams, et Wilkinson 1999).

### 3.2.1.3. Le temps

La diminution, même lente, des titres viraux au cours du temps (cf. paragraphe 3.1.3) a suscité une étude allemande sur la possibilité d'inactiver des parties liquides du fumier de porcs par simple stockage dans des tanks placés à l'extérieur pendant une longue période (Haas *et al.* 1995). Les données sur lesquelles les auteurs s'appuient (C. Eizenberger *et al.*, données non publiées) sont données ici à titre indicatif : persistance virale pendant 126 jours minimum à 4°C et 17°C dans le lisier. Compte tenu de cette persistance minimale, leur conclusion est que ce mode d'inactivation est problématique du fait de la durée très importante qui serait nécessaire, et des conditions de ce stockage (sans rajout supplémentaire de fumier liquide et hors présence d'espèces animales sensibles).

### 3.2.1.4. Les micro-ondes

Des travaux ont été initiés en Allemagne sur la possibilité d'inactivation du virus par les micro-ondes (Haas *et al.* 1995). Mais la littérature plus récente ne l'évoquant plus, cette piste ne doit plus être explorée sachant qu'elle demande une puissance énergétique très importante.

### 3.2.1.5. Irradiations

Des auteurs ont étudié la possibilité d'inactiver le virus de la PPA par des irradiations gamma (McVicar *et al.* 1982). Après irradiation de tissus, dont le titre infectieux était compris entre 10<sup>4,6</sup> et 10<sup>7,8</sup> HAD<sub>50</sub>/g, à des doses supérieures à 20 kiloGray (kGy), leur inoculation à des porcs sains n'a provoqué aucun signe clinique mais quelques réactions faiblement positives en anticorps. Compte tenu de ces résultats, les auteurs recommandent d'irradier autour de 50 kGy les tissus qui sont



destinés à devenir des témoins positifs de marquage par des anticorps fluorescents et à être transmis à des laboratoires, ceci afin de garantir l'absence de risque de dissémination du virus. Ces résultats sont concordants avec ceux d'une étude canadienne qui suggère d'utiliser l'irradiation gamma pour traiter les effluents de laboratoire (Thomas *et al.* 1981).

Aucune étude ne cible la décontamination de différentes matrices par une irradiation aux ultraviolets (UV). Cependant, la plus grande persistance du virus à l'obscurité (cf paragraphe 3.1.3) peut suggérer une sensibilité aux UV. Certaines publications utilisent des suspensions ou cultures virales inactivées par les UV pour étudier d'autres paramètres tels que l'immunogénicité des protéines virales. Les résultats figurent dans le Tableau 4 ci-dessous.

**Tableau 4 : Résultats de l'utilisation des UV en vue de l'inactivation du virus de la PPA**

| Virus   | Irradiations UV utilisées   | Références bibliographiques et précisions sur la méthode de vérification de l'inactivation |
|---|---|--|
| Suspension virale obtenue à partir de culture virale de BA71 sur cellule Vero                     | Lampe UV Sylvania 15 W (ondes élevées avec un pic à 368 nm) placée à 30 cm pendant 40 minutes | Alcamí, Carrascosa, et Viñuela 1989, pas d'information                                     |
| Culture de la souche E70 espagnole adaptée aux MSC ( <i>monkey stable cells</i> ) par 15 passages | Lampe UV G15T8 (ondes courtes avec un pic à 253,7 nm) placée à 10 cm pendant 20 minutes       | González <i>et al.</i> 1990, culture et immunofluorescence à 10 jours                      |
| Culture de la souche E75 espagnole atténuée par 4 passages sur cellules CV-1                      | Lampe UV G15T8 (ondes courtes avec un pic à 253,7 nm) placée à 15 cm pendant 10 minutes       | Canals <i>et al.</i> 1992, par culture et effet cytopathique à 10 jours                    |
| Culture de la souche BA71 sur cellules Vero   | Lampe UV placée à 10 cm pendant 30 minutes à température ambiante                             | Carrascosa <i>et al.</i> 2002 par titrage avant / après irradiation UV                     |

En résumé, l'utilisation de procédés physico-chimiques pour l'inactivation du virus de la PPA n'est pas très documentée par des publications expérimentales. Il en ressort que la chaleur semble être le seul moyen efficace lorsque la température à cœur atteint le seuil nécessaire, variable en fonction de la matrice et de la durée de chauffage. La chaleur a été mentionnée comme utilisable pour décontaminer les lisiers mais ceci n'a été vérifié expérimentalement que dans une seule étude. L'inactivation du virus dans les lisiers doit donc être forcément suivie d'une vérification de son efficacité compte-tenu des variations liées au titre viral, à la souche virale, à la nature de la matière organique présente, etc. L'inactivation du virus par pH basique ne paraît pas être très efficace et il n'existe pas d'études expérimentales permettant de valider la décontamination de différentes matrices par pH acide bien que le virus semble y être sensible. Enfin, l'efficacité des irradiations UV, dans les milieux perméables aux UV, serait à confirmer et à explorer sur d'autres supports et en fonction des paramètres d'ambiance (poussières, humidité, courant d'air, température, etc.) et de la lampe (usure, empoussièrement, etc.).

### 3.2.2. Utilisation de produits biocides

#### 3.2.2.1. Contexte réglementaire

Selon l'arrêté du 29 juillet 2013<sup>10</sup>, le virus de la PPA est listé parmi les dangers sanitaires de 1<sup>ère</sup> catégorie.

Dans le cadre du Règlement (UE) n°528/2012<sup>11</sup> (dit règlement biocide), les produits biocides destinés à être utilisés pour la désinfection des sites d'élevage reconnus infectés d'un des dangers sanitaires listés dans l'arrêté du 29 juillet 2013, appartiennent soit :

- au type de produit 3 (TP3) relatif à l'hygiène vétérinaire (produits utilisés pour l'hygiène vétérinaire et pour désinfecter les matériaux et surfaces associés à l'hébergement ou au transport des animaux) ;
- au type de produit 4 (TP4) relatif aux surfaces en contact avec les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (produits utilisés pour désinfecter les matériels, les conteneurs, les ustensiles de consommation, les surfaces ou conduits utilisés pour la production, le transport, le stockage ou la consommation de denrées alimentaires ou d'aliments pour animaux (y compris l'eau potable destinée aux hommes et aux animaux) ;
- au type de produit 5 (TP5) relatif à l'eau potable (produits utilisés pour désinfecter l'eau potable destinés aux hommes et aux animaux).

Le règlement biocide prévoit deux grandes phases d'évaluation :

- L'évaluation des substances actives : les produits biocides doivent contenir des substances actives inscrites sur la liste de l'Union Européenne des substances actives approuvées. Le processus d'évaluation de ces substances actives pour aboutir à leur approbation (ou non approbation) est réalisé pour toutes les substances actives notifiées au programme d'examen biocide figurant dans le règlement délégué (UE) n°1062/2014<sup>12</sup>.
- L'évaluation des produits biocides : une fois les substances actives approuvées, les produits biocides sont évalués conformément aux conditions requises à l'article 19 du Règlement (UE) n°528/2012.

A ce jour, beaucoup de substances actives relevant des TP3, 4 et 5 sont encore en cours d'examen au niveau communautaire. La plupart des produits ne sont donc pas encore soumis à autorisation de mise sur le marché (AMM) selon le règlement biocide (UE) 528/2012.

Dans l'attente de l'approbation des substances actives notifiées au programme d'examen biocide et de l'encadrement des produits par des AMM selon le règlement biocide, des procédures nationales d'autorisation de produits biocides peuvent s'appliquer dans les Etats membres (mesures transitoires selon l'article 89). En France, jusqu'en 2015, la mise sur le marché et

<sup>10</sup> Arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales

<sup>11</sup> Règlement (UE) n°528/2012 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation de produits biocides

<sup>12</sup> RÈGLEMENT DÉLÉGUÉ (UE) No 1062/2014 DE LA COMMISSION du 4 août 2014 relatif au programme de travail pour l'examen systématique de toutes les substances actives existantes contenues dans des produits biocides visé dans le règlement (UE) n° 528/2012 du Parlement européen et du Conseil

l'utilisation de certains produits biocides nécessitent l'obtention d'une autorisation de mise sur le marché national en période transitoire (AMM « transitoire »). Il s'agissait notamment de produits désinfectants utilisés en hygiène vétérinaire (TP3). La loi n°2015-1567<sup>13</sup> du 2/12/2015 a supprimé cette obligation pour les produits qui étaient soumis à cette exigence et les produits biocides sont désormais libres de mise sur le marché. Néanmoins, des dispositions particulières restent en vigueur pour certains produits biocides, notamment ceux utilisés contre « les maladies contagieuses du bétail soumises à déclaration obligatoire ou celles qui font l'objet d'une prophylaxie collective organisée par l'Etat ».

Ainsi, l'arrêté du 28 février 1957<sup>14</sup>, relatif à la désinfection dans le cas de maladies contagieuses des animaux liste les substances actives qui peuvent être « utilisées contre les maladies contagieuses du bétail soumises à déclaration obligatoire ou contre celles qui font l'objet d'une prophylaxie collective organisée par l'Etat » et précise que tout autre produit doit être soumis à un agrément délivré par le Ministère en charge de l'Agriculture.

En réponse à une saisine de la DGAL, l'Anses a rendu le 2 décembre 2016 une note d'appui scientifique et technique relatif à l'évaluation de l'efficacité des produits biocides destinés à être utilisés pour la désinfection lors de dangers sanitaires (Anses 2016). Dans cette note, l'Anses recommande :

- d'une part de mettre à jour l'arrêté du 28 février 1957 en prenant en compte les dispositions du Règlement biocide 528/2012. En effet cet arrêté est obsolète sur de nombreux points, notamment parce qu'il liste à son article 1 des substances actives non notifiées dans le programme d'examen biocide (Règlement (UE) n°1062/2014). Ainsi les solutions d'hypochlorite de potassium, soude caustique (hydroxyde de sodium), phénol et crésylol sodique sont dorénavant des substances actives interdites en tant que biocides TP3/4/5 ;
- d'autre part de revoir les dispositions de la délivrance de l'agrément des produits en conformité avec les exigences du guide Efficacité de l'Agence Européenne des Produits chimiques (ECHA) (Vol II – part B/C)<sup>15</sup>.

Enfin la Directive européenne 2002/60/CE<sup>16</sup> relative aux dispositions spécifiques pour la lutte contre la peste porcine africaine mentionne explicitement à son article 12, que les Etats membres veillent à ce que les désinfectants à utiliser ainsi que leur concentration soient officiellement approuvées par l'autorité compétente<sup>17</sup> qui, en France, apparaît à la lecture des textes comme le ministère chargé de l'agriculture.

<sup>13</sup> Loi n°2012-1567 du 2 décembre 2015 portant diverses dispositions d'adaptation au droit de l'Union européenne dans le domaine de la prévention des risques

<sup>14</sup> Arrêté du 28 février 1957 relatif à la désinfection dans le cas de maladies contagieuses

<sup>15</sup> Guidance on the Biocidal Products Regulation - Volume II Efficacy - Assessment and Evaluation (Parts B+C)

<sup>16</sup> Directive Européenne n°2002-60 du 27 juin 2002 2002/60/CE DU CONSEIL du 27 juin 2002 établissant des dispositions spécifiques pour la lutte contre la peste porcine africaine et modifiant la directive 92/119/CEE, en ce qui concerne la maladie de Teschen et la peste porcine africaine

<sup>17</sup> La directive 2002/60/CE renvoie sur ce sujet à l'article 2, paragraphe 6 de la directive 90/425/CEE qui définit l'autorité compétente comme « l'autorité centrale d'un État membre, compétente pour effectuer les contrôles vétérinaires ou zootechniques ou toute autorité à qui elle aura délégué cette compétence »

### 3.2.2.2. Démonstration de l'activité virucide dans le domaine de l'élevage

L'activité virucide des désinfectants appliqués dans le domaine vétérinaire est évaluée actuellement au moyen de deux normes :

- la norme européenne NF EN 14675<sup>18</sup> qui est un test de suspension ;
- la norme française NF T 72281<sup>19</sup> applicable aux procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne (nébulisation et fumigation).

Concernant les deux normes publiées, une seule souche virale a été retenue comme organisme d'essai : l'entérovirus bovin de type 1 (ATCC VR-248) communément appelé virus ECBO pour « *Enteric Cytopathogenic Bovine Orphan* ».

Dans sa note d'appui scientifique et technique (Anses 2016) en date du 2 décembre 2016, l'Anses indique que :

- dans le domaine normatif au niveau vétérinaire, il n'existe pas de virus d'essai pour les virus enveloppés. L'analyse menée n'a pas permis de rechercher un virus modèle représentatif des virus enveloppés. Cependant, même si le virus ECBO, seul virus d'essai de la norme, n'est pas intrinsèquement un modèle de virus enveloppé, ce virus couvrirait les dangers sanitaires représentés par les virus enveloppés. Ce point est conforté par le fait que les virus enveloppés montrent en général une plus grande sensibilité envers les biocides que les virus non enveloppés. Les essais réalisés avec le virus ECBO permettent donc a priori de valider l'efficacité d'un désinfectant sur le virus de la PPA.

- les conditions opératoires dans ces deux normes apportent une garantie pour la détermination d'une activité potentielle d'un désinfectant dans le domaine de l'élevage. Cependant, en complément de ces normes, il est rappelé qu'un test de surface s'avère absolument indispensable afin d'intégrer des supports représentatifs des substrats de terrain (ex : le bois, bétons poreux, etc.) plus difficiles à désinfecter.

### 3.2.2.3. Efficacité des substances actives biocides sur le virus de la PPA dans la littérature

D'après la littérature, assez peu de données scientifiques existent sur l'efficacité de substances actives vis-à-vis du virus de la PPA et elles sont toutes issues du laboratoire. La plupart des publications ont en commun de mettre en œuvre la souche Lisbon du virus avec le modèle cellulaire Vero (lignée continue de cellules épithéliales de rein de singe) testée à température ambiante.

Certaines études évaluent l'efficacité de substances interdites en Europe aujourd'hui car non soutenues dans le programme d'examen biocide (Stone et Hess 1973).

<sup>18</sup> Antiseptiques et désinfectants chimiques – Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine vétérinaire – Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape1)

<sup>19</sup> Procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne - Détermination de l'activité bactéricide, fongicide, levuricide, mycobactéricide, tuberculocide sporicide et virucide incluant les bactériophages

Heckert *et al.* mettent en avant l'efficacité du peroxyde d'hydrogène généré sous forme « vapeur » à partir d'une solution liquide (30 %), avec un temps de contact de 30 minutes, dans un dispositif qui permet la désinfection de petits matériels de laboratoire (Heckert *et al.* 1997).

D'après Shirai *et al.* en essai de suspension, hypochlorite de sodium (0,03 % à 0,0075 %), iode (0,015 % à 0,0075) et ammoniums quaternaires (0,003 %) présentent une efficacité satisfaisante à des concentrations relativement faibles, avec un temps de contact de 30 minutes (Shirai *et al.* 2000).

La désinfection sur surfaces poreuses (bois) et non poreuses (plastique ou acier) a d'abord été investiguée par Krug *et al.*. Le virus de la PPA (souche BA71/v) déposé sur surfaces poreuses est inactivé par l'acide citrique (1 %) et l'hypochlorite de sodium (500 ppm), avec un temps de contact de 10 minutes (Krug *et al.* 2011). Puis Krug *et al.* ont validé l'efficacité de l'acide citrique (2 %) et l'hypochlorite de sodium (2000 ppm) sur des surfaces poreuses (bois), avec un temps de contact de 30 minutes (Krug *et al.* 2012). Enfin la même équipe s'est intéressée à la désinfection de différentes surfaces (acier, plastique et béton) en l'absence de charge organique et en présence d'une forte charge organique issue de porc (sang, fèces, jus de viande) où virus et désinfectants sont mis en contact pendant 10 minutes. En l'absence de charge organique, les désinfectants testés (ammonium quaternaire (800 ppm) et hypochlorite de sodium (600 ppm)) montrent une efficacité satisfaisante avec en moyenne une réduction logarithmique de 4 (Krug *et al.* 2018).

En revanche, en présence de charge organique sévère (sang, jus de viande) sur une surface de type acier, l'activité des désinfectants testés, c'est-à-dire l'acide citrique (2 %) et l'hypochlorite de sodium (1 500 ppm), est fortement inhibée ; en présence de fèces, seul l'acide citrique (2 %) reste efficace. Cette étude souligne l'importance de la phase de nettoyage avant désinfection.

Un bio-essai a été mis en œuvre à l'Anses de Ploufragan pour vérifier l'efficacité de la décontamination de locaux ayant hébergé des porcelets inoculés expérimentalement par voie intramusculaire par la souche Georgia 2007/01 ou la souche OURT88/1 à raison de  $10^4$  HAD/porc (Bourry *et al.* 2018). Des chiffonnettes ont été réalisées à différents endroits dans les locaux afin de vérifier l'efficacité de deux applications successives d'un traitement biocide associant peroxyde d'hydrogène et acide péracétique, appliqué par nébulisation après lavage à haute pression à l'eau. Les résultats montrent des analyses PCR positives systématiquement avant lavage sur toutes les chiffonnettes. La détection de génome viral par PCR est non systématique après lavage, mais encore possible après les deux traitements biocides successifs. Cependant, l'inoculation à deux porcs de surnageants (concentrés et filtrés) de chiffonnettes réalisées après lavage et double traitement biocide n'a pas révélé la présence de particules infectieuses.

L'efficacité du traitement biocide « peroxyde d'hydrogène + acide péracétique » a également été vérifiée sur des papiers filtres imbibés préalablement par du sang infecté par le virus de la PPA (souche Georgia 2007/1 à  $10^{5,8}$  and  $10^{4,8}$  HAD/mL), montrant des résultats PCR positifs mais l'absence de virus viable en culture de macrophages alvéolaires (Bourry *et al.* 2018).

#### 3.2.2.4. Les recommandations en termes de produits biocides

L'USDA a proposé en 2013, une liste de produits approuvés par l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA) contre le virus de la PPA (Tableau 5) et recommande notamment l'utilisation de produits à base de peroxymonosulfate de potassium (substance active

par ailleurs en cours d'évaluation dans le cadre du Règlement 528/2012). Néanmoins les conditions de tests de ces produits ne sont pas indiquées dans ce document.

**Tableau 5 : Liste des produits autorisés par l'EPA contre le virus de la PPA**

| Numéro d'enregistrement EPA | Nom du produit                        | Détenteur de l'AMM                          | Substance active   | Sites d'utilisation  |
|-----------------------------|---------------------------------------|---|--|--|
| 211-25                      | <i>Pheno Cen Germicidal Detergent</i> | <i>Central Solutions, Inc</i>               | o-Phénylphenol, sel de potassium<br>p-tert-Amyphénol, sel de potassium<br>Potassium 2-benzyl-4-chlorophénate | Enclos à bétails, fumier, matériels d'élevage, porcheries, cages de gestation, abris d'animaux et pédiluves  |
| 211-62                      | <i>Low pH Phenolic 256</i>            | <i>Central Solutions Inc</i>                | o-Phénylphenol<br>2-Benzyl-4-cholophénol   | Bâtiments d'élevage, matériels d'élevage, matériels de transport, cages et matériels de gestation, porcherie, enclos, et pédiluves                   |
| 71654-6                     | Virkon S®                             | <i>E.I du Pont de Nemours &amp; Company</i> | Chlorure de sodium<br>Peroxymonosulfate de Potassium   | Matériel d'élevage, étables, enclos, bâtiments de gestation, bâtiments d'élevage, matériels de transport, matériel et locaux agricoles, combinaisons |
| 71847-2                     | Klor-Kleen®                           | <i>Medentech Ltd</i>                        | Sodium dichloro-s-triazinetrione   | Bâtiments d'élevage  |

Par ailleurs, en Belgique et dans le cadre de la période transitoire de mise en œuvre du règlement 582/2012, les autorités compétentes belges ont publié une liste de produits<sup>20</sup> qui ont fait l'objet d'une évaluation nationale avant mise sur le marché, et dont l'efficacité a été prouvée sur le virus ECBO selon la norme EN 14675. Il est recommandé d'utiliser ces produits sur surfaces non poreuses, après un nettoyage préalable des surfaces, à une température minimale de 20°C et un temps de contact qui varie entre 5 et 60 minutes. En parallèle de cette liste, un expert du CES SABA a confirmé une efficacité satisfaisante (contrôle par PCR) avec un produit à base de peroxymonosulfate de potassium sur le virus de la PPA en désinfection de surface en salle d'autopsie (C. Saegerman, communication personnelle).

<sup>20</sup> [http://www.afsca.be/ppa/mesures/biocides/documents/ListedesPBPT3\\_ECBO\\_AFSCA24Sept.2018\\_FR.pdf](http://www.afsca.be/ppa/mesures/biocides/documents/ListedesPBPT3_ECBO_AFSCA24Sept.2018_FR.pdf)

Selon la note d'appui scientifique et technique de l'Anses en date du 02 décembre 2016, ces produits peuvent être effectivement recommandés pour la désinfection vis-à-vis de la PPA puisque le virus ECBO couvrirait les dangers sanitaires liés aux virus enveloppés (Anses 2016). A noter que certains tests d'efficacité ont été réalisés à la température obligatoire de la norme EN 14675 de 10°C mais les autorités belges préconisent un seuil de température minimal à 20°C pour conforter l'efficacité du produit utilisé. Néanmoins cette restriction de condition d'application semble difficilement tenable en élevage, notamment en période hivernale, là où il n'est pas possible de chauffer.

L'instruction technique DGAL/SDPAL/2018-573<sup>21</sup> en date du 26/07/2018 relative aux dispositions applicables au réseau de laboratoires agréés pour la réalisation des analyses officielles pour le dépistage de la PPA fait référence au cahier des charges de biosécurité à respecter par un tel laboratoire agréé (voir annexe de cette instruction). Ce cahier des charges liste des substances actives utilisables pour désinfecter les surfaces (Tableau 6), sur la base de documents publiés par l'OIE (OIE 2013). Cependant, certaines sont interdites d'utilisation en Europe (notamment l'éther, le chloroforme et l'hydroxyde de sodium) car ne figurant pas au programme d'examen en tant que biocides TP3/4/5 (voir avis (Anses 2016) et par conséquent ne peuvent pas être utilisées, sauf dérogation.

**Tableau 6 : Extrait de l'instruction DGAL/SDPAL/2018-573 pour l'inactivation du virus de la PPA**

|               |  |
|---------------|--|
| Désinfectants | <p>Sensible à l'éther et au chloroforme. Il est inactivé par contact pendant 30 minutes avec une solution de :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hydroxyde de sodium au 8/1 000</li> <li>- 2,3 % Chlore</li> <li>- 3/1 000 Formol</li> <li>- 3 % ortho-phénylphenol</li> <li>- Composés iodés (pas de concentrations recommandées)</li> </ul> |
|---------------|--|

Il est à noter que les sources initiales de ces recommandations, apparemment issues de l'OIE (OIE 2013), ne sont pas clairement exposées.

En résumé, la littérature scientifique et d'autres documents techniques pertinents (instructions ministérielles sur la base de recommandations de l'OIE, ou encore recommandations EPA ou des autorités compétentes belges) font ressortir l'efficacité de plusieurs substances actives d'intérêt seules ou en association, notifiées au programme d'examen biocides, comme le Chlore, les aldéhydes, l'Ortho-phénylphénol, le Péroxymonosulfate de potassium, l'Iode, le Peroxyde d'Hydrogène et/ou Acide peracétique et les Ammoniums quaternaires mais dans des conditions d'utilisation très variées et pas toujours représentatives des conditions de terrain.

<sup>21</sup> <https://info.agriculture.gouv.fr/gedei/site/bo-agri/instruction-2018-573>

Certains documents techniques et textes réglementaires (arrêté du 28/02/1957) qui recommandent ou autorisent l'utilisation de substances actives désormais interdites en Europe nécessiteraient d'être révisés (Anses 2016).

Les produits biocides dont l'efficacité a été démontrée selon la norme EN 14675 peuvent être recommandés pour la désinfection de la PPA puisque le virus ECBO couvrirait les dangers sanitaires liés aux virus enveloppés (Anses 2016). En l'absence d'autorisation de mise sur le marché en France durant la période transitoire et dans l'attente d'une révision de l'arrêté du 28/02/1957, une liste de produits agréés par les autorités compétentes belges existe sur la base d'une efficacité virucide selon la norme EN 14675 et ces produits peuvent donc être recommandés. Il est cependant rappelé qu'un test de surface s'avèrerait absolument indispensable afin d'intégrer des supports représentatifs des substrats de terrain (ex : le bois) plus difficiles à désinfecter et confirmer ainsi l'efficacité de ces produits dans des conditions plus représentatives du terrain (Anses 2016).

### 3.3. Incertitudes

Les incertitudes liées à la résistance du virus de la PPA dans les conditions naturelles ou vis-à-vis des différentes procédures de décontaminations applicables suite à un foyer dans la faune sauvage ou dans la faune domestique sont principalement associées aux limites des connaissances scientifiques sur le virus, et aux conditions dans lesquelles ont été conduites les études citées (*i.e.* les travaux de Kovalenko *et al.*, 1964, repris dans divers rapports, la dose infectieuse 50 par voie oro-nasale variant beaucoup d'une étude à l'autre y compris pour des souches de virulence équivalente, etc. ).

Pour certaines matrices (eau, lisier, carcasses enfouies dans le sol, etc.) les informations disponibles sont très limitées.

Les experts ont tenu à lister quelques incertitudes importantes dans le Tableau 7 ci-dessous en suivant le plan de l'avis.

**Tableau 7 : Sources et types d'incertitudes**

|   | <b>Incertitudes importantes identifiées par les experts</b>  |
|---|--|
| Méthodes de détection du virus                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Selon les études, détection et quantification du génome viral, ou des particules infectieuses (idéalement les deux), et méthodes d'isolements et de titrages non standardisées, ce qui peut donner l'impression de résultats divergents</li> <li>• Pas de corrélation entre charge génomique et infectiosité des particules virales détectées</li> <li>• Isolement en culture cellulaire pas toujours suffisant pour s'assurer de l'absence de toute particule virale viable</li> </ul> |
| Persistence du virus dans ses hôtes et dans l'environnement | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Les souches virales étudiées étant de pouvoir pathogène très variable (souches peu, moyennement, ou très virulentes), il faut en tenir compte pour interpréter les résultats</li> </ul>   |



|                                 | Incertitudes importantes identifiées par les experts  |
|---------------------------------|---|
| Inactivation du virus de la PPA | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Publications produisant des données expérimentales en faible nombre et/ou dans des conditions d'utilisation très diverses</li> <li>• Recommandations USDA/OIE données sans indication des protocoles appliqués pour la vérification de l'efficacité</li> </ul>   |
| Activités des biocides          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dispositif réglementaire (arrêté du 28/02/1957) obsolète</li> <li>• Pas d'essai d'efficacité avec des normes de surfaces et/ou des surfaces poreuses</li> <li>• Démonstration de l'efficacité virucide selon la norme EN 14675 sur un virus modèle nu (ECBO), qui couvrirait <i>a priori</i> les virus enveloppés</li> </ul> |

### 3.4. Conclusion et recommandations du CES SABA

L'objectif de cette autosaisine était d'effectuer une mise à jour des connaissances sur les méthodes et procédés d'inactivation du virus de la PPA et sur la résistance de ce virus dans les différentes matrices potentiellement contaminées et traitées dans le cadre de cette saisine.

D'après les études rapportées dans la littérature, le virus de la PPA est un virus résistant lorsqu'il est associé à de la matière organique. Ainsi, il peut persister sous une forme viable plusieurs mois dans le sang et dans les cadavres (même putréfiés) d'animaux infectés, ceci dans des gammes de températures dites « ambiantes » (variables selon les saisons et/ou les régions et/ou le niveau d'enfouissement dans le sol le cas échéant). Le virus demeure infectieux beaucoup moins longtemps, de l'ordre de quelques jours, dans les excréments (fèces, urine). Enfin, sa survie serait très limitée dans la salive ainsi que dans l'air, notamment dans les régions humides et/ou ensoleillées (sensibilité à l'humidité et à la lumière). Les informations quant à la survie du virus dans l'eau sont très limitées, et difficiles à interpréter.

Il apparaît que beaucoup d'études relatives à la persistance (survie) du virus de la PPA dans ses hôtes suidés, dans les produits biologiques issus de ces hôtes ou dans l'environnement, sont anciennes et parfois difficilement exploitables du fait de la langue originale de l'article. Par ailleurs, de nombreux rapports et revues de la littérature se réfèrent successivement à ces études anciennes et peu accessibles, sans pour autant questionner leur validité. A noter que des contradictions entre études apparaissent à l'analyse des résultats présentés, notamment lorsqu'ils sont basés sur des estimations. Il serait donc opportun d'encourager de nouvelles recherches relatives à la résistance du virus de la PPA dans les différentes conditions (matrices et conditions environnementales) pouvant être rencontrées sur le terrain, afin de conforter et d'actualiser les connaissances à ce sujet.

L'utilisation de procédés physico-chimiques pour l'inactivation du virus de la PPA n'est pas très documentée par des publications expérimentales. La chaleur semble être le seul moyen efficace lorsque la température à cœur atteint le seuil nécessaire, variable en fonction de la matrice et de la durée de chauffage. La chaleur a été mentionnée comme utilisable pour décontaminer les lisiers mais cela n'a été vérifié expérimentalement que dans une seule étude. L'inactivation du virus dans des lisiers doit donc être forcément suivie d'une vérification de son efficacité compte-tenu des variations liées au titre viral, à la souche virale, à la nature de la matière organique présente, etc.

L'inactivation du virus par pH basique ne paraît pas être très efficace et il n'existe pas d'études expérimentales permettant de valider la décontamination de différentes matrices par pH acide bien que le virus semble y être sensible. Les experts recommandent d'autres investigations sur l'effet du pH acide pour l'inactivation du virus de la PPA.

Enfin, l'efficacité des irradiations UV serait à confirmer et à explorer sur d'autres supports et en fonction des paramètres d'ambiance (poussières, humidité, courant d'air, température...) et de la lampe (usure, empoussièrement...).

La littérature scientifique et d'autres documents techniques pertinents (instructions ministérielles sur la base de recommandations de l'OIE, ou encore recommandations EPA ou des autorités compétentes belges) font ressortir l'efficacité de plusieurs substances actives d'intérêt, utilisées seules ou en association, notifiées au programme d'examen biocides, comme le Chlore, les aldéhydes, l'Ortho-phénylphénol, le Péroxymonosulfate de potassium, l'Iode, le Péroxyde d'Hydrogène et ou l'Acide peracétique et les Ammonium quaternaires, mais dans des conditions d'utilisation très variées et pas toujours représentatives des conditions de terrain.

Les produits biocides dont l'efficacité a été démontrée selon la norme EN 14675 peuvent être recommandés pour la désinfection suite à un foyer de PPA. En l'absence d'autorisation de mise sur le marché en France durant la période transitoire et dans l'attente d'une révision de l'arrêté du 28/02/1957, une liste de produits agréés par les autorités compétentes belges existe sur la base d'une efficacité virucide selon la norme EN 14675 et ces produits peuvent donc être recommandés.

Il est cependant rappelé que, dans sa note d'appui scientifique et technique relatif à l'évaluation de l'efficacité des produits biocides destinés à être utilisés pour la désinfection lors de dangers sanitaires (Anses 2016) en date du 2 décembre 2016, l'Anses recommande :

- d'une part de mettre à jour l'arrêté du 28/02/1957 en prenant en compte les dispositions du Règlement biocide 528/2012. En effet cet arrêté est obsolète sur de nombreux points, notamment parce qu'il liste à son article 1 des substances actives non notifiées dans le programme d'examen biocide (Règlement (UE) n°1062/2014). Ainsi les solutions d'hypochlorite de potassium, soude caustique (hydroxyde de sodium), phénol et crésylole sodique sont dorénavant des substances actives interdites en tant que biocides TP3/4/5 ;
- d'autre part de revoir les dispositions de la délivrance de l'agrément des produits en conformité avec les exigences du guide Efficacité de l'Agence Européenne des Produits chimiques (ECHA) (Vol II – part B/C).

De plus la démonstration de l'activité virucide dans le cas de dangers sanitaires devrait s'appuyer à la fois sur un test de suspension et un test de surface afin d'intégrer des supports représentatifs des substrats de terrain (ex : le bois) plus difficiles à désinfecter et confirmer ainsi l'efficacité de ces produits dans des conditions plus représentatives du terrain.

#### **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du CES SABA relatives aux méthodes et procédés d'inactivation du virus de la PPA.

S'agissant plus particulièrement des procédés et méthodes d'inactivation du virus faisant appel à des produits biocides, l'Anses souligne le besoin à très court terme, compte tenu du contexte réglementaire spécifique à la lutte contre la PPA<sup>22</sup>, qu'une position soit prise par l'autorité compétente au titre de la directive 2002/60/CE. Cette mesure est incontournable pour donner un cadre juridique à l'usage des moyens de lutte recommandé par le CES afin d'être prêt à faire face, dès que nécessaire à une situation de gestion en urgence.

Cette mesure apparaît d'autant plus indispensable que la mise à jour, recommandée par l'Agence en 2016, de l'arrêté du 28 février 1957 ne semble pas encore engagée.

Dr Roger Genet

---

<sup>22</sup> Article 12 de la directive européenne 2002/60/CE qui requière une approbation officielle des désinfectants à utiliser

**MOTS-CLES**

Peste porcine africaine, résistance, persistance, décontamination, inactivation, désinfection, biocide

African swine fever, resistance, persistence, decontamination, inactivation, disinfection, biocide

**BIBLIOGRAPHIE**

- Alcamí, A., A.L. Carrascosa, et E. Viñuela. 1989. "Saturable binding sites mediate the entry of African swine fever virus into Vero cells." *Virology* 168 (2):393-398.
- Anses. 2016. "Note d'appui scientifique et technique relatif à l'évaluation de l'efficacité des produits biocides destinés à être utilisés pour la désinfection lors de dangers sanitaires (part1) (saisine 2015-SA-0178)." Maisons-Alfort, France: Anses.
- Blome, S., C. Gabriel, et M. Beer. 2013. "Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar." *Virus Research* 173 (1):122-130.
- Blome, S., C. Gabriel, K. Dietze, A. Breithaupt, et M. Beer. 2012. "High virulence of African swine fever virus caucasus isolate in European wild boars of all ages." *Emerging Infectious Diseases* 18 (4):708.
- Bourry, O., E. Hutet, M. Le Dimna, F. Paboeuf, et M-F. Le Potier. 2018. "Evaluation of ASF virus inactivation " Workshop on Laboratory Diagnosis and Control of CSF and ASF, Hannover, Germany, 29-30 May 2018.
- Canals, A., F. Alonso, J. Tomillo, et J. Dominguez. 1992. "Analysis of T lymphocyte subsets proliferating in response to infective and UV-inactivated African swine fever viruses." *Veterinary Microbiology* 33 (1-4):117-127.
- Carrascosa, A. L., M. J. Bustos, et P. de Leon. 2011. "Methods for growing and titrating african swine fever virus: Field and laboratory samples." *Current Protocols in Cell Biology* (SUPPL.53). doi: 10.1002/0471143030.cb2614s53.
- Carrascosa, A. L., M. J. Bustos, M. L. Nogal, G. González De Buitrago, et Y. Revilla. 2002. "Apoptosis induced in an early step of African swine fever virus entry into vero cells does not require virus replication." *Virology* 294 (2):372-382. doi: 10.1006/viro.2001.1348.
- Carrillo, C., MV. Borca, CL. Afonso, DV. Onisk, et DL. Rock. 1994. "Long-term persistent infection of swine monocytes/macrophages with African swine fever virus." *Journal of Virology* 68 (1):580-583.
- Chastel, Cl., J-Y. Monnat, G. Le Lay, et G. Balouet. 1987. "Infestation et hyperinfestation de la Mouette tridactyle, *Rissa tridactyla* L., par des Tiques [*Ixodes* (*Ceratixodes*) *uriae*, *Ornithodoros* (*Alectorobius*) *maritimus*]-Conséquences pathologiques." *Annales de parasitologie humaine et comparée* 62 (5):492-504.
- Chenais, E., K. Depner, V. Guberti, K. Dietze, A. Viltrop, et K. Ståhl. 2019. "Epidemiological considerations on African swine fever in Europe 2014–2018." *Porcine Health Management* 5 (1):6.
- Chenais, E., S. Sternberg-Lewerin, S. Boqvist, L. Liu, N. LeBlanc, T. Aliro, C. Masembe, et K. Ståhl. 2017. "African swine fever outbreak on a medium-sized farm in Uganda: biosecurity breaches and within-farm virus contamination." *Tropical Animal Health and Production* 49 (2):337-346. doi: 10.1007/s11250-016-1197-0.
- Davies, K., L. C. Goatley, C. Guinat, C. L. Netherton, S. Gubbins, L. K. Dixon, et A. L. Reis. 2017. "Survival of African Swine Fever Virus in Excretions from Pigs Experimentally Infected with

- the Georgia 2007/1 Isolate." *Transboundary and Emerging Diseases* 64 (2):425-431. doi: 10.1111/tbed.12381.
- de Carvalho Ferreira, HC., E. Weesendorp, ARW. Elbers, A. Bouma, S. Quak, JA. Stegeman, et WLA. Loeffen. 2012. "African swine fever virus excretion patterns in persistently infected animals: a quantitative approach." *Veterinary Microbiology* 160 (3):327-340.
- de Carvalho Ferreira, HC., E. Weesendorp, S. Quak, JA. Stegeman, et WLA. Loeffen. 2013. "Quantification of airborne African swine fever virus after experimental infection." *Veterinary Microbiology* 165 (3-4):243-251.
- de Carvalho Ferreira, HC., E. Weesendorp, S. Quak, JA. Stegeman, et WLA. Loeffen. 2014. "Suitability of faeces and tissue samples as a basis for non-invasive sampling for African swine fever in wild boar." *Veterinary Microbiology* 172 (3-4):449-454.
- DeTray, DE. 1957. "African swine fever in wart hogs (*Phacochoerus aethiopicus*)." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 130 (12):537-540.
- Dixon, L K., D AG. Chapman, C L. Netherton, et C. Upton. 2013. "African swine fever virus replication and genomics." *Virus Research* 173 (1):3-14.
- Donaldson, A. I., et N. P. Ferris. 1976. "The survival of some air-borne animal viruses in relation to relative humidity." *Veterinary Microbiology* 1 (4):413-420. doi: 10.1016/0378-1135(76)90056-0.
- Dupraz, M., C. Toty, E. Devillers, T. Blanchon, E. Elguero, M. Vittecoq, S. Moutailler, et K D. McCoy. 2017. "Population structure of the soft tick *Ornithodoros maritimus* and its associated infectious agents within a colony of its seabird host *Larus michahellis*." *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 6 (2):122-130.
- EFSA Panel on Animal Health Welfare. 2010. "Scientific opinion on African swine fever." *EFSA Journal* 8 (3):1556.
- EFSA Panel on Animal Health Welfare. 2014. "Scientific opinion on African swine fever." *EFSA Journal* 12 (4):3628.
- Filatov, S. 2016. "*Ornithodoros verrucosus* in Ukraine: Evaluating regional presence and its possible impact on the epidemiology of African swine fever." International Congress of Entomology, Orlando, Florida, USA, janvier 2016.
- Franke-Whittle, I. H., et H. Insam. 2013. "Treatment alternatives of slaughterhouse wastes, and their effect on the inactivation of different pathogens: A review." *Critical Reviews in Microbiology* 39 (2):139-151. doi: 10.3109/1040841X.2012.694410.
- Gabriel, C., S. Blome, A. Malogolovkin, S. Parilov, D. Kolbasov, J P. Teifke, et M. Beer. 2011. "Characterization of African swine fever virus Caucasus isolate in European wild boars." *Emerging Infectious Diseases* 17 (12):2342.
- Gale, P. 2004. "Risks to farm animals from pathogens in composted catering waste containing meat." *Veterinary Record* 155 (3):77-82.
- Gallardo, M. C., A. T. Reoyo, J. Fernández-Pinero, I. Iglesias, M. J. Muñoz, et M. L. Arias. 2015. "African swine fever: A global view of the current challenge." *Porcine Health Management* 1. doi: 10.1186/s40813-015-0013-y.
- Garigliany, M., D. Desmecht, M. Tignon, D. Cassart, C. Lesenfant, J. Paternostre, R. Volpe, Ann B. Cay, T. van den Berg, et A. Linden. 2019. "Phylogeographic analysis of African swine fever virus, Western Europe, 2018." *Emerging Infectious Diseases* 25 (1):184.
- González, S., C. Mendoza, JosM Sánchez-Vizcaino, et F. Alonso. 1990. "Inhibitory effect of African swine fever virus on lectin-dependent swine lymphocyte proliferation." *Veterinary Immunology and Immunopathology* 26 (1):71-80. doi: 10.1016/0165-2427(90)90133-D.
- Greig, A., et W. Plowright. 1970. "The excretion of two virulent strains of African swine fever virus by domestic pigs." *Epidemiology & Infection* 68 (4):673-682.
- Guinat, C., A L. Reis, C L. Netherton, L. Goatley, D U. Pfeiffer, et L. K. Dixon. 2014. "Dynamics of African swine fever virus shedding and excretion in domestic pigs infected by intramuscular inoculation and contact transmission." *Veterinary research* 45 (1):93.
- Haas, B., R. Ahl, R. Bohm, et D. Strauch. 1995. "Inactivation of viruses in liquid manure." *Rev Sci Tech* 14 (2):435-45.

- Haug, RT. 1993. *Kinetics of heat inactivation*. Edité par Haug RT, *The Practical Handbook of Compost Engineering*. London: Lewis Publishers. London.
- Heckert, R. A., M. Best, L. T. Jordan, G. C. Dulac, D. L. Eddington, et W. G. Sterritt. 1997. "Efficacy of vaporized hydrogen peroxide against exotic animal viruses." *Applied and Environmental Microbiology* 63 (10):3916-3918.
- Hone, J., et W. Martin. 1998. "A study of dung decay and plot size for surveying feral pigs using dung counts." *Wildlife Research* 25 (3):255-260.
- Kalmar, I. D., A. B. Cay, et M. Tignon. 2018. "Sensitivity of African swine fever virus (ASFV) to heat, alkalinity and peroxide treatment in presence or absence of porcine plasma." *Veterinary Microbiology* 219:144-149. doi: 10.1016/j.vetmic.2018.04.025.
- King, D P., S M. Reid, G H. Hutchings, S S. Grierson, P J. Wilkinson, L K. Dixon, A DS. Bastos, et T W. Drew. 2003. "Development of a TaqMan® PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus." *Journal of Virological Methods* 107 (1):53-61.
- Kleiboeker, S B., et G A. Scoles. 2001. "Pathogenesis of African swine fever virus in Ornithodoros ticks." *Animal Health Research Reviews* 2 (2):121-128.
- Kovalenko, J., M. Sidorov, et L. Burba. 1964. "Biological properties of African swine fever virus." *Dokl. vses. Akad. sel'shokhoz. Nauk*, 1:35-40.
- Krug, P. W., T. Davis, C. O'Brien, M. LaRocco, et L. L. Rodriguez. 2018. "Disinfection of transboundary animal disease viruses on surfaces used in pork packing plants." *Veterinary Microbiology* 219:219-225. doi: 10.1016/j.vetmic.2018.04.029.
- Krug, P. W., C. R. Larson, A. C. Eslami, et L. L. Rodriguez. 2012. "Disinfection of foot-and-mouth disease and African swine fever viruses with citric acid and sodium hypochlorite on birch wood carriers." *Veterinary Microbiology* 156 (1-2):96-101. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.10.032.
- Krug, P. W., L. J. Lee, A. C. Eslami, C. R. Larson, et L. Rodriguez. 2011. "Chemical disinfection of high-consequence transboundary animal disease viruses on nonporous surfaces." *Biologicals* 39 (4):231-235. doi: 10.1016/j.biologicals.2011.06.016.
- Malogolovkin, A., G. Burmakina, I. Titov, A. Sereda, A. Gogin, E. Baryshnikova, et D. Kolbasov. 2015. "Comparative analysis of african swine fever virus genotypes and serogroups." *Emerging Infectious Diseases* 21 (2):312-315. doi: 10.3201/eid2102.140649.
- McKercher, PD., RJ. Yedloutschnig, JJ. Callis, R. Murphy, GF. Panina, A. Civardi, M. Bugnetti, E. Foni, A. Laddomada, et C. Scarano. 1987. "Survival of viruses in "Prosciutto di Parma"(Parma ham)." *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 20 (4):267-272.
- McVicar, J W. 1984. "Quantitative aspects of the transmission of African swine fever." *American Journal of Veterinary Research* 45 (8):1535-1541.
- McVicar, J. W., C. A. Mebus, A. Brynjolfsson, et J. S. Walker. 1982. "Inactivation of African swine fever virus in tissues by gamma radiation." *American Journal of Veterinary Research* 43 (2):318-319.
- Mebus, C., M. Arias, J. M. Pineda, J. Tapiador, C. House, et J. M. Sánchez-Vizcaíno. 1997. "Survival of several porcine viruses in different Spanish dry cured meat products." *Food Chemistry* 59 (4):555-559. doi: 10.1016/S0308-8146(97)00006-X.
- Mellor, P S., R P. Kitching, et P J. Wilkinson. 1987. "Mechanical transmission of capripox virus and African swine fever virus by *Stomoxys calcitrans*." *Research in Veterinary Science* 43 (1):109-112.
- Montgomery, R E. 1921. "On a form of swine fever occurring in British East Africa (Kenya Colony)." *Journal of comparative pathology and therapeutics* 34:159-191.
- OIE. 2013. "African swine fever. Aetiologist, epidemiology, diagnosis, prevention and control. ." [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal\\_Health\\_in\\_the\\_World/docs/pdf/Disease\\_cards/AFRICAN\\_SWINE\\_FEVER.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/AFRICAN_SWINE_FEVER.pdf).
- Olesen, A S., M F. Hansen, T B. Rasmussen, G J. Belsham, R. Bødker, et A. Bøtner. 2018. "Survival and localization of African swine fever virus in stable flies (*Stomoxys calcitrans*)

- after feeding on viremic blood using a membrane feeder." *Veterinary Microbiology* 222:25-29. doi: 10.1016/j.vetmic.2018.06.010.
- Olesen, A S., L. Lohse, A. Boklund, T. Halasa, G. J. Belsham, T. B. Rasmussen, et A. Bøtner. 2018. "Short time window for transmissibility of African swine fever virus from a contaminated environment." *Transboundary and Emerging Diseases*.
- Olesen, A. S.; L. Lohse, M. F. Hansen, A. Boklund, T. Halasa, G. J. Belsham, T. B. Rasmussen, A. Bøtner, et R. Bødker. 2018. "Infection of pigs with African swine fever virus via ingestion of stable flies (*Stomoxys calcitrans*)." *Transboundary and Emerging Diseases* 65 (5):1152-1157. doi: 10.1111/tbed.12918.
- Olesen, A.S., L. Lohse, A. Boklund, T. Halasa, C. Gallardo, Z. Pejsak, G J. Belsham, T B. Rasmussen, et A. Bøtner. 2017. "Transmission of African swine fever virus from infected pigs by direct contact and aerosol routes." *Veterinary Microbiology* 211:92-102.
- Ordas, A., C Sanchez Botija, et S. Diaz. 1983. "CE/FAO research seminar." Sassari, Sardinia, 23-25 Spt. 1981.
- Oura, C A L., L. Edwards, et CA. Batten. 2013. "Virological diagnosis of African swine fever-comparative study of available tests." *Virus Research* 173 (1):150-158.
- Pan, IC, et WR Hess. 1984. "Virulence in African swine fever: its measurement and implications." *American Journal of Veterinary Research* 45 (2):361-366.
- Penrith, M. L., et W. Vosloo. 2009. "Review of African swine fever: Transmission, spread and control." *Journal of the South African Veterinary Association* 80 (2):58-62.
- Petrini, S., F. Feliziani, C. Casciari, M. Giammarioli, C. Torresi, et G M. De Mia. 2019. "Survival of African swine fever virus (ASFV) in various traditional Italian dry-cured meat products." *Preventive Veterinary Medicine* 162:126-130.
- Pietschmann, J., L. Mur, S. Blome, M. Beer, R. Pérez-Sánchez, A. Oleaga, et J M. Sánchez-Vizcaíno. 2016. "African swine fever virus transmission cycles in Central Europe: Evaluation of wild boar-soft tick contacts through detection of antibodies against *Ornithodoros erraticus* saliva antigen." *BMC Veterinary Research* 12 (1):1.
- Plowright, W., et J. Parker. 1967. "The stability of African swine fever virus with particular reference to heat and pH inactivation." *Archiv für die gesamte Virusforschung* 21 (3-4):383-402. doi: 10.1007/BF01241738.
- Sánchez-Vizcaíno, J M., M A. Neira, J Zimmerman, LA Karriker, A Ramirez, et KJ Schwartz. 2012. *Diseases of swine*. 10th ed: Wiley-Blackwell.
- Sánchez-Vizcaíno, J. M., L. Mur, et B. Martínez-López. 2013. "African swine fever (ASF): Five years around Europe." *Veterinary Microbiology* 165 (1-2):45-50. doi: 10.1016/j.vetmic.2012.11.030.
- Shirai, J., T. Kanno, Y. Tsuchiya, S. Mitsubayashi, et R. Seki. 2000. "Effects of Chlorine, Iodine, and Quaternary Ammonium Compound Disinfectants on Several Exotic Disease Viruses." *Journal of Veterinary Medical Science* 62 (1):85-92. doi: 10.1292/jvms.62.85.
- Sindryakova, I.P., Y. P. Morgunov, A Y. Chichikin, I. K. Gazaev, D. A. Kudryashov, et S. Z. Tsybanov. 2016. "The influence of temperature on the russian isolate of african swine fever virus in pork products and feed with extrapolation to natural conditions." *Agricultural Biology*.
- Stone, S. S., et W. R. Hess. 1973. "Effects of some disinfectants on African swine fever virus." *Applied microbiology* 25 (1):115-122.
- Thomas, FC., AG. Davies, GC. Dulac, NG. Willis, G. Papp-Vid, et A. Girard. 1981. "Gamma ray inactivation of some animal viruses." *Canadian Journal of Comparative Medicine* 45 (4):397.
- Tignon, M., C. Gallardo, C. Iscaro, E. Hutet, Y. Van der Stede, D. Kolbasov, Gi M. De Mia, M-F. Le Potier, R P. Bishop, et M. Arias. 2011. "Development and inter-laboratory validation study of an improved new real-time PCR assay with internal control for detection and laboratory diagnosis of African swine fever virus." *Journal of Virological Methods* 178 (1-2):161-170.

- Turner, C., et S. M. Williams. 1999. "Laboratory-scale inactivation of African swine fever virus and swine vesicular disease virus in pig slurry." *Journal of Applied Microbiology* 87 (1):148-157. doi: 10.1046/j.1365-2672.1999.00802.x.
- Turner, C., S. M. Williams, C. H. Burton, J. W. Farrent, et P. J. Wilkinson. 1998. "Laboratory scale inactivation of pig viruses in pig slurry and design of a pilot plant for thermal inactivation." 38 (4-5 -5 pt 4):79-86. doi: 10.1016/S0273-1223(98)00500-9.
- Turner, C., S. M. Williams, et P. J. Wilkinson. 1999. "Recovery and assay of African swine fever and swine vesicular disease viruses from pig slurry." *Journal of Applied Microbiology* 87 (3):447-453. doi: 10.1046/j.1365-2672.1999.00846.x.
- USDA. 2013. "Disease response strategy African Swine Fever." : United States Department of Agriculture.
- Vlasova, N. N., A. A. Varentsova, I. V. Shevchenko, I. Yu Zhukov, S. G. Remyga, V. L. Gavrilova, O. S. Puzankova, A. A. Shevtsov, N. G. Zinyakov, et K. N. Gruzdev. 2015. "Comparative Analysis of Clinical and Biological Characteristics of African Swine Fever Virus Isolates from 2013 Year Russian Federation." *British Microbiology Research Journal* 5 (3):203-2015.
- Wilkinson, P. J. 1984. "The persistence of African swine fever in Africa and the Mediterranean." *Preventive Veterinary Medicine* 2 (1-4):71-82.
- Wilkinson, P. J., A. I. Donaldson, A. Greig, et W. Bruce. 1977. "Transmission studies with African swine fever virus: infections of pigs by airborne virus." *Journal of comparative pathology* 87 (3):487-495.
- Wilkinson, P. J., R. C. Wardley, et S. M. Williams. 1981. "African swine fever virus (Malta/78) in pigs." *Journal of comparative pathology* 91 (2):277-284.



## **ANNEXE 1**

### **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. Stéphane BERTAGNOLI – ENVT - Compétences en virologie, infectiologie, immunologie

Mme Maria Eleni FILIPPITZI – Sciensano – Compétences épidémiologie, évaluation des risques

Mme Elodie LEROY-MONTCHATRE – Anses – Compétences en virologie, épidémiologie, évaluation des risques, interface faune domestique faune sauvage

M. François MEURENS – ONIRIS - Compétences en virologie, infectiologie, immunologie

Mme Gaele SIMON – Anses - Compétences en virologie, infectiologie, immunologie

### **COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ**

---

Les travaux, objets du présent rapport, ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- CES SABA des 11 décembre 2018 et 15 janvier 2019

#### **Président**

M. Gilles MEYER – Professeur, ENVT + virologie, immunologie, vaccinologie

#### **Membres**

Mme Catherine BELLOC – Maître de conférences, Oniris-Nantes + infectiologie, approche intégrée

M. Stéphane BERTAGNOLI – Professeur, ENVT + virologie, immunologie, vaccination

M. Alain BOISSY – Chercheur, INRA Clermont + bien-être animal

M. Henri-Jean BOULOUIS – Professeur, ENVA + bactériologie, diagnostic de laboratoire, immunologie, vaccinologie

M. Eric COLLIN – Vétérinaire praticien + médecine vétérinaire, médicament vétérinaire, maladies vectorielles, maladies à prion

M. Jean-Claude DESFONTIS – Professeur Oniris-Nantes + physiologie, bien-être animal, médecine vétérinaire

Mme Maria-Eleni FILIPPITZI – Epidémiologiste, CODA-CERVA + épidémiologie, évaluation de risque

M. David FRETIN – Chef de service, CODA-CERVA + bactériologie, zoonoses, diagnostic de laboratoire

Mme Emmanuelle GILOT-FROMONT – Professeur, VetAgro Sup + infectiologie, épidémiologie, évaluation de risque, faune sauvage  
M. Etienne GIRAUD – Chargé de recherche, INRA Tours + bactériologie  
M. Lionel GRISOT – Vétérinaire praticien + médecine vétérinaire, médicament vétérinaire  
Mme Nadia HADDAD – Professeur, ENVA + infectiologie, maladies règlementées, zoonoses  
Mme Viviane HENAU – Epidémiologiste, Anses Lyon + épidémiologie, évaluation de risque  
Mme Elsa JOURDAIN – Chargée de recherche, INRA Clermont + épidémiologie, évaluation de risque, faune sauvage  
Mme Sophie LE BOUQUIN – LE NEVEU – – Epidémiologiste, Anses Ploufragan + épidémiologie, évaluation de risque, approche intégrée  
Mme Sophie LE PODER – ALCON – Maître de conférences, ENVA + virologie, immunologie, vaccinologie  
Mme Elodie LEROY MONCHATRE – Directrice, Anses Nancy + virologie, épidémiologie, évaluation de risques, faune sauvage  
Mme Monique L'HOSTIS – Retraitée, Oniris Nantes + parasitologie  
M. François MEURENS – Professeur, Oniris Nantes + virologie, immunologie, vaccinologie  
Mme Virginie MICHEL – Anses Ploufragan + épidémiologie, évaluation de risque, bien-être animal, approche intégrée  
M. Pierre MORMEDE – Directeur de recherche, INRA + bien-être animal  
M. Hervé MORVAN – Vétérinaire biologiste, Labocéa22 + bactériologie, diagnostic de laboratoire  
Mme Carine PARAUD – Anses Niort + parasitologie  
Mme Ariane PAYNE – Chargée d'étude, ONCFS + épidémiologie, évaluation de risque, faune sauvage  
M. Michel PEPIN – Professeur, VetAgro Sup + infectiologie, immunologie, vaccinologie  
Mme Carole PEROZ-SAPEDE – Maître de conférences, Oniris Nantes + infectiologie, maladies règlementées, approche intégrée  
Mme Claire PONSART – Anses Maisons-Alfort + bactériologie, infectiologie, diagnostic de laboratoire  
M. Claude SAEGERMAN – Professeur, Université de Liège + épidémiologie, évaluation de risque  
Mme Gaele SIMON – Chercheur, Anses Ploufragan + virologie, immunologie  
M. Jean-Pierre VAILLANCOURT – Professeur, Université de Montréal + épidémiologie, évaluation de risque.

## **PARTICIPATION ANSES**

---

### **Coordination scientifique**

Mme Florence ÉTORÉ – Adjointe à la cheffe de l'unité Evaluation des risques liés à la Santé, à l'Alimentation et au Bien-être des animaux – Anses

### **Unité d'évaluation des risques liés à la santé, à l'alimentation et au bien-être des animaux – Anses DER**

Mme Charlotte DUNOYER - Chef d'unité UERSABA - Anses

**Equipe projet**

Mme Isabelle ATTIG – Chef d'Unité Evaluation de l'Efficacité des Biocides -U2EB - Anses

**Secrétariat administratif**

M. Régis MOLINET – Anses

ANNEXE 2 : AUTOSAISINE



Décision n° 2018-10-352

## AUTOSAISINE

Le directeur général de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses),

Vu le code de la santé publique, et notamment son article L. 1313-3 conférant à l'Anses la prérogative de se saisir de toute question en vue de l'accomplissement de ses missions,

Décide :

**Article 1<sup>er</sup>.**- L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail se saisit afin de réaliser une expertise dont les caractéristiques sont listées ci-dessous.

### 1.1 Thématiques et objectifs de l'expertise

Mise à jour des connaissances sur les méthodes et procédés d'inactivation du virus de la peste porcine africaine (PPA).

### 1.2 Contexte de l'autosaisine

Suite à la confirmation de plusieurs cas de PPA sur des sangliers en Belgique, proches de la frontière française, la DGAL a saisi plusieurs fois l'Anses en urgence pour répondre à des questions sur les risques d'introduction de ce virus en France, les mesures de gestion à la frontière Franco-Belge, tant dans la faune sauvage que dans les élevages de suidés.

Lors des travaux du GECU PPA, les experts se sont également interrogés sur les méthodes et produits disponibles pour inactiver ce virus, que ce soit au niveau des laboratoires qui reçoivent des prélèvements ou des cadavres d'animaux, au niveau des camions qui sont/seront utilisés pour le transport des cadavres ou des animaux vivants potentiellement contaminés, des locaux et matériaux d'élevage ou des matériaux utilisés au clos d'équarrissage, etc.

De plus, les laboratoires d'analyse vétérinaires et le Laboratoire National de Référence pour la PPA, reçoivent des questions des parties prenantes sur les produits biocides pouvant être utilisés pour décontaminer des matériaux entrés en contact avec des matières potentiellement contaminées par le virus de la PPA. Des interrogations émanent également des entreprises spécialisées dans le développement et la commercialisation de produits biocides (confrontés entre-autres à la réglementation concernant la manipulation du virus de la PPA).

Les réponses à ces interrogations n'étant pas immédiatement et facilement disponibles, dans ce contexte, il apparaît opportun d'agir par anticipation et de se saisir de la question de l'inactivation du virus de la PPA, des méthodes de décontamination utilisables ainsi que des produits utilisables et

efficaces dans l'éventualité de foyers de PPA en France dans la faune sauvage ou dans la faune domestique.

**1.3 Questions sur lesquelles portent les travaux d'expertise à mener**

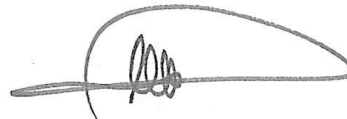
Effectuer une mise à jour des connaissances sur les méthodes et procédés d'inactivation du virus de la PPA et sur la résistance de ce virus dans les différentes matrices potentiellement contaminées. Cette mise à jour portera également sur les produits biocides utilisables pour la décontamination, tant au laboratoire que dans le cas de dépeuplement en élevage de suidés, ou au clos d'équarrissage (tant pour les porcs d'élevage que pour des cadavres de sangliers potentiellement contaminés si ceux-ci devaient y être amenés).

**1.4 Durée prévisionnelle de l'expertise**

D'octobre 2018 à janvier 2019.

**Article 2.-** Un avis sera émis et publié par l'Agence à l'issue des travaux.

Fait à Maisons-Alfort, le 26 OCT. 2018



**Dr Roger Genet**  
Directeur général

### ANNEXE 3 : PROFIL DE RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

Résultats des différentes requêtes effectuées les 18 et 24 octobre 2018.

| Base   | N° requête | Mots clés  | Résultats |
|--------|------------|--|-----------|
| Scopus | #60        | (( (TITLE-ABS-KEY ("heat treatment" OR "Ultraviolet Rays treatment" OR uv-treatment OR biosecurity OR biosafety OR elimination OR disactivation OR virucide OR virucidal OR efficacy OR protocol) OR TITLE-ABS-KEY (decontamination OR inactivation OR disinfection OR disinfectant OR biocide))) AND (TITLE-ABS-KEY (asfv OR asf OR "African swine fever" OR asfarviridae))) AND ((TITLE-ABS-KEY (asfv OR asf OR "African swine fever" OR asfarviridae) AND TITLE-ABS-KEY (pig OR swine OR wild AND boar OR sus AND scrofa OR suidea))) | 50        |
| Scopus | #59        | (( (TITLE-ABS-KEY ("heat treatment" OR "Ultraviolet Rays treatment" OR uv-treatment OR biosecurity OR biosafety OR elimination OR disactivation OR virucide OR virucidal OR efficacy OR protocol) OR TITLE-ABS-KEY (decontamination OR inactivation OR disinfection OR disinfectant OR biocide))) AND (TITLE-ABS-KEY (asfv OR asf OR "African swine fever" OR asfarviridae)))  | 287       |
| Scopus | #58        | (( (TITLE-ABS-KEY (survival OR resistance OR persistence OR matrice OR support OR environment)) AND (TITLE-ABS-KEY (asfv OR asf OR "African swine fever" OR asfarviridae))) AND ((TITLE-ABS-KEY ("heat treatment" OR "Ultraviolet Rays treatment" OR uv-treatment OR biosecurity OR biosafety OR elimination OR disactivation OR virucide OR virucidal OR efficacy OR protocol) OR TITLE-ABS-KEY (decontamination OR inactivation OR disinfection OR disinfectant OR biocide)))  | 75        |

|        |    |   |   |
|--------|----|---|---|
| Pubmed | #3 | ((asfv OR asf OR "african swine fever" or asfarviridae)) AND ("heat treatment" OR "Ultraviolet Rays treatment" OR uv-treatment OR biosecurity OR biosafety OR elimination OR disactivation OR virucide OR virucidal OR efficacy OR protocol OR decontamination OR inactivation OR disinfection OR disinfectant OR biocide))   | 218   |
| Pubmed | #7 | ((survival OR resistance OR persistence OR matrice OR support OR environment)) AND ("heat treatment" OR "Ultraviolet Rays treatment" OR uv-treatment OR biosecurity OR biosafety OR elimination OR virucide OR virucidal OR efficacy OR protocol OR decontamination OR inactivation OR disinfection OR disinfectant OR biocide)) AND (asfv OR asf OR "African swine fever" OR asfarviridae) | #133<br>(identiques aux 133 de la requête #3) |

Après élimination des doublons entre les requêtes #60, #59, #58 (reste 283 articles) et la requête #3 ainsi que des articles traitant d'autres sujets sur la base des titres (ex. *aerobic spore form*, *aluminium silicate fiber*, *anti-secretory factor*, *acid sensitive factor*, *adherent scalp flacking*) les résumés des 169 articles (voir diagramme PRISMA Annexe 4) restant ont été répartis entre les cinq experts pour lecture. Le résultat de cette lecture a été documenté dans un fichier Excel qui a été discuté lors de la réunion téléphonique du 6 novembre 2018. Lors de cette réunion, 114 articles ont été exclus pour les raisons suivantes : articles traitant de substances antivirales dans un contexte médicamenteux, culture de virus de la PPA, biologie moléculaire, articles axés sur les vecteurs de la PPA, la vaccination, etc.

Après lecture des 55 articles complets, 40 publications ont été conservées pour être utilisées dans l'avis. Les articles exclus l'ont été car ils n'apportaient pas toujours de précisions sur les biocides et/ou les procédures de désinfections utilisées (notamment les articles traitant des questions de biosécurités).

En compléments de la recherche bibliographique effectuée avec les mots-clés définis en octobre 2018, 36 autres publications dont des rapports (EFSA, OIE, etc.) et des articles scientifiques ont été ajoutés par les experts.

ANNEXE 4: DIAGRAMME PRISMA

