



Directives techniques

concernant

le prélèvement d'échantillons et leur examen à l'égard de la pneumonie enzootique des porcs (PE)

du 14.04.2003, actualisées le 15.11.2021

L'Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV),

vu les articles 245a, al. 2, et 297, al. 1, let. c de l'ordonnance du 27 juin 1995 sur les épizooties (OFE ; RS 916.601),

édicte les directives suivantes :

I Champ d'application

1. Les présentes directives techniques réglementent le prélèvement des échantillons, les méthodes d'analyse, l'interprétation des résultats, y.c. l'établissement du rapport et les enquêtes épidémiologiques à effectuer dans le cadre de la procédure visant à obtenir le statut « officiellement reconnu indemne de PE » pour un troupeau, ainsi que dans le cadre de la surveillance et en cas de suspicion ou de constat de l'épizootie.

II Prélèvement des échantillons

2. Matériel à analyser pour le diagnostic de la PE (agent pathogène *Mycoplasma hyopneumoniae*) : poumons, écouvillons nasaux, échantillons de brosse trachéal, sérum sanguin. En cas de suspicion clinique et/ou épidémiologique de PE dans un troupeau, le vétérinaire cantonal organise le prélèvement d'échantillons adéquats (3 poumons, 10 écouvillons nasaux, 10 prélèvements par brosse trachéal ou 20 échantillons de sérum sanguin), ainsi que l'envoi à un laboratoire agréé pour le diagnostic de la PE.

3. Poumons

Lors du contrôle des viandes, tous les poumons doivent être examinés à l'égard de signes de PE. Le contrôleur des viandes prélève des échantillons sur les poumons altérés et les envoie à un laboratoire agréé si au moins 10 % des porcs d'un lot d'abattage présentent des lésions pulmonaires suspectes de PE.

Sont considérés suspects les poumons qui présentent un tissu consolidé, rouge foncé, brun-rouge (lésions aiguës) à gris-rose (lésions chroniques) dans la zone cranio-ventrale (lobes apicaux). Lors du test de flottaison, les fragments de tissu altéré coulent.

Les échantillons (si possible un lobe pulmonaire entier) doivent être prélevés sur trois porcs présentant des poumons altérés, puis envoyés au laboratoire. Les échantillons doivent être conservés sous réfrigération, mais pas congelés, et envoyés par courrier A ou par coursier à un laboratoire agréé pour le diagnostic de la PE.

En outre, le vétérinaire compétent peut procéder à un examen macroscopique des poumons lors d'une autopsie à la ferme et, en cas de suspicion (voir ci-dessus), envoyer des échantillons à un laboratoire agréé pour le diagnostic de la PE.

Toute suspicion d'infection par la PE doit être signalée au service vétérinaire cantonal compétent pour l'exploitation de provenance, même si aucun prélèvement n'est effectué. La notification doit mentionner l'exploitation de provenance, le nombre de porcs du lot d'abattage et le nombre de poumons présentant des altérations.

Si les porcs sont livrés à l'abattoir avec un document d'accompagnement rouge (établi en cas de mesures de police des épizooties), il convient de respecter les instructions concernant le contrôle des viandes figurant sur le document.

4. Écouvillons nasaux / échantillons prélevés par brossage trachéal

En cas de suspicion clinique de PE dans un troupeau, le vétérinaire de contrôle prélève 10 écouvillons nasaux ou échantillons de brossage trachéal sur des porcs qui toussent. Pour ce faire, un aide attache les porcs et les immobilise au moyen d'une corde passée autour de la mâchoire supérieure.

Écouvillon nasal : une fois le porc attaché, lui nettoyer le groin avec une compresse sèche (pas de produit désinfectant ni de lingette désinfectante), puis introduire avec précaution un écouvillon le plus profondément possible dans le nez (écouvillon sec sans milieu). Orienter l'écouvillon légèrement en direction de la cloison nasale et, par des mouvements de rotation, récolter le plus de matériel possible (après cela, l'écouvillon devrait être légèrement humide).

Échantillons prélevés par brossage trachéal : utiliser un pas-d'âne (davier) pour empêcher le porc de mordiller le dispositif de prélèvement. Introduire le dispositif de prélèvement, de taille adaptée à l'animal, dans l'oropharynx, puis le faire pénétrer jusque dans la trachée en passant par l'épiglotte. Par des mouvements de rotation du dispositif de prélèvement, prélever le plus de matériel possible, puis retirer le dispositif de la trachée et le placer dans le tube à échantillon, si possible sans toucher la paroi.

Envoyer les écouvillons par courrier A ou par coursier à un laboratoire agréé pour le diagnostic de la PE.

5. Échantillons de sang

Dans le cadre des enquêtes menées sur les cas de suspicion clinique ou épidémiologique, il est possible de prélever des échantillons de sang. Il faut prélever 20 échantillons au total dans le troupeau.

Dans les exploitations d'élevage, les échantillons de sang peuvent être prélevés sur des porcelets jusqu'à l'âge de deux semaines, ainsi que sur les porcelets à partir de l'âge de quatre mois. Ne pas prélever de sang sur les truies durant la période allant de un mois ante partum à un mois post partum. Dans les exploitations d'engraissement, prélever les échantillons de sang sur les porcs à partir de l'âge de quatre mois.

Envoyer les échantillons par courrier A ou par coursier à un laboratoire agréé pour le diagnostic de la PE.

6. Tous les échantillons doivent être identifiés de manière à exclure toute confusion et être accompagnés d'une demande d'analyse mentionnant le nom, le prénom, l'adresse et le numéro BDTA de l'exploitation de provenance, ainsi que le mandant.

III Laboratoires

7. Les laboratoires qui effectuent des analyses dans le cadre de la lutte officielle contre la PE doivent être agréés à ce titre par l'OSAV (art. 312 OFE).
8. Laboratoire national de référence :
ZOBA, Institut de bactériologie vétérinaire de la faculté Vetsuisse de l'Université de Berne,
Länggassstrasse 122, case postale, CH-3001 Berne.
9. Après consultation du laboratoire de référence, les échantillons douteux peuvent lui être envoyés pour confirmation des résultats.

IV Procédures d'analyse et établissement du rapport

10. Les laboratoires agréés pour le diagnostic de la PE analysent les échantillons selon les procédures décrites dans le présent document. Le schéma présenté à l'annexe 1 vise à donner une vue d'ensemble des procédures d'analyse possibles. Le tableau de l'annexe 2 vise à faciliter l'évaluation des résultats et l'établissement du rapport
11. Dépistage de l'agent pathogène par PCR en temps réel (technique de biologie moléculaire) :
 - a. Dépistage de *Mycoplasma hyopneumoniae* par PCR dans des frottis bronchiques. Publication : Dubosson C.R., Conzelmann C., Miserez R., Boerlin P., Frey J., Zimmermann W., Häni H., Kuhnert P. Development of two real-time PCR assays for the detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in clinical samples. Vet. Microbiol. 102, 55 - 65, 2004.
 - b. Dépistage de *Mycoplasma hyopneumoniae* par PCR dans des écouvillons nasaux. Thèse : Zeeh F. Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in porcine nasal swabs using real-time PCR. Thèse inaugurale de la faculté Vetsuisse de l'Université de Berne, ASMV, 2004.

Seule la PCR en temps réel avec les deux séquences cibles REP et ABC, décrite dans les publications susmentionnées, peut être utilisée pour cette analyse. Pour ce faire, utiliser exclusivement les amorces (*primers*) et les sondes mentionnées dans la publication. Analyser au moins 3 poumons ou 10 écouvillons nasaux, resp. échantillons de brossage trachéal par troupeau. Pour les écouvillons nasaux, effectuer une extraction de l'ADN au préalable.

Si au moins un écouvillon nasal, un échantillon de frottis bronchique ou de brossage trachéal s'avère positif lors du test de PCR en temps réel, le test de dépistage de l'agent pathogène est considéré comme positif au sens de l'OFE et doit être interprété avec les résultats d'autres analyses cliniques et/ou de résultats épidémiologiques pour évaluer le troupeau. Les résultats positifs d'écouvillons nasaux peuvent être confirmés par l'analyse d'échantillons de brossage trachéal et/ou des analyses sérologiques. Un résultat négatif à la PCR peut être interprété comme un résultat négatif fiable.

12. Analyse sérologique pour le dépistage des anticorps

Seuls les systèmes de test vérifiés par le laboratoire de référence et approuvés par l'OSAV peuvent être utilisés (www.osav.admin.ch).

Les tests ELISA doivent être utilisés conformément aux instructions d'utilisation fournies par le fabricant.

Analyser 20 échantillons par troupeau. Si au moins trois échantillons présentent un résultat positif, l'examen sérologique du troupeau doit être considéré comme positif à la PE. Les résultats sérologiques doivent être évalués conjointement avec le résultat du dépistage de l'agent pathogène et les données cliniques et/ou épidémiologiques.

13. Typage par séquençage multilocus (MLST)

La MLST permet de typiser les échantillons positifs à la PE prélevés sur des porcs et des sangliers et d'identifier les chaînes d'infection potentielles (Mayor et al., 2008; Kuhnert et al., 2011, Kuhnert & Overesch 2014, Overesch & Kuhnert 2017). Une MLST peut être réalisée si l'ADN spécifique de *Mycoplasma hyopneumoniae* est présent en quantité suffisante (à clarifier de cas en cas avec le laboratoire de référence) dans un échantillon (en général dans les échantillons de poumon).

14. Communication des résultats

Les résultats des analyses de laboratoire, y c. les valeurs Ct en cas de tests PCR en temps réel et les rapports S/P en cas d'analyses sérologiques, doivent être communiqués au vétérinaire expéditeur et au vétérinaire cantonal. Le vétérinaire traitant responsable communique les résultats au détenteur d'animaux ainsi qu'au SSP si l'exploitation concernée y est affiliée.

V Enquêtes épidémiologiques dans les troupeaux suspects de PE

15. Dans un troupeau reconnu indemne de PE, l'enquête peut porter sur les points suivants en cas de suspicion :
- a. examen clinique des animaux du troupeau ;
 - b. historique du trafic des animaux ;
 - c. cas de maladie antérieurs ;
 - d. traitements antérieurs ;
 - e. contrôles d'abattage ;
 - f. engraissements mixtes ;
 - g. dépistage de l'agent pathogène par PCR en temps réel d'échantillons de poumons, d'écouvillons nasaux ou d'échantillons de brossage trachéal ;
 - h. analyses sérologiques ;
 - i. enquêtes épidémiologiques dans les troupeaux de contact

VI Entrée en vigueur

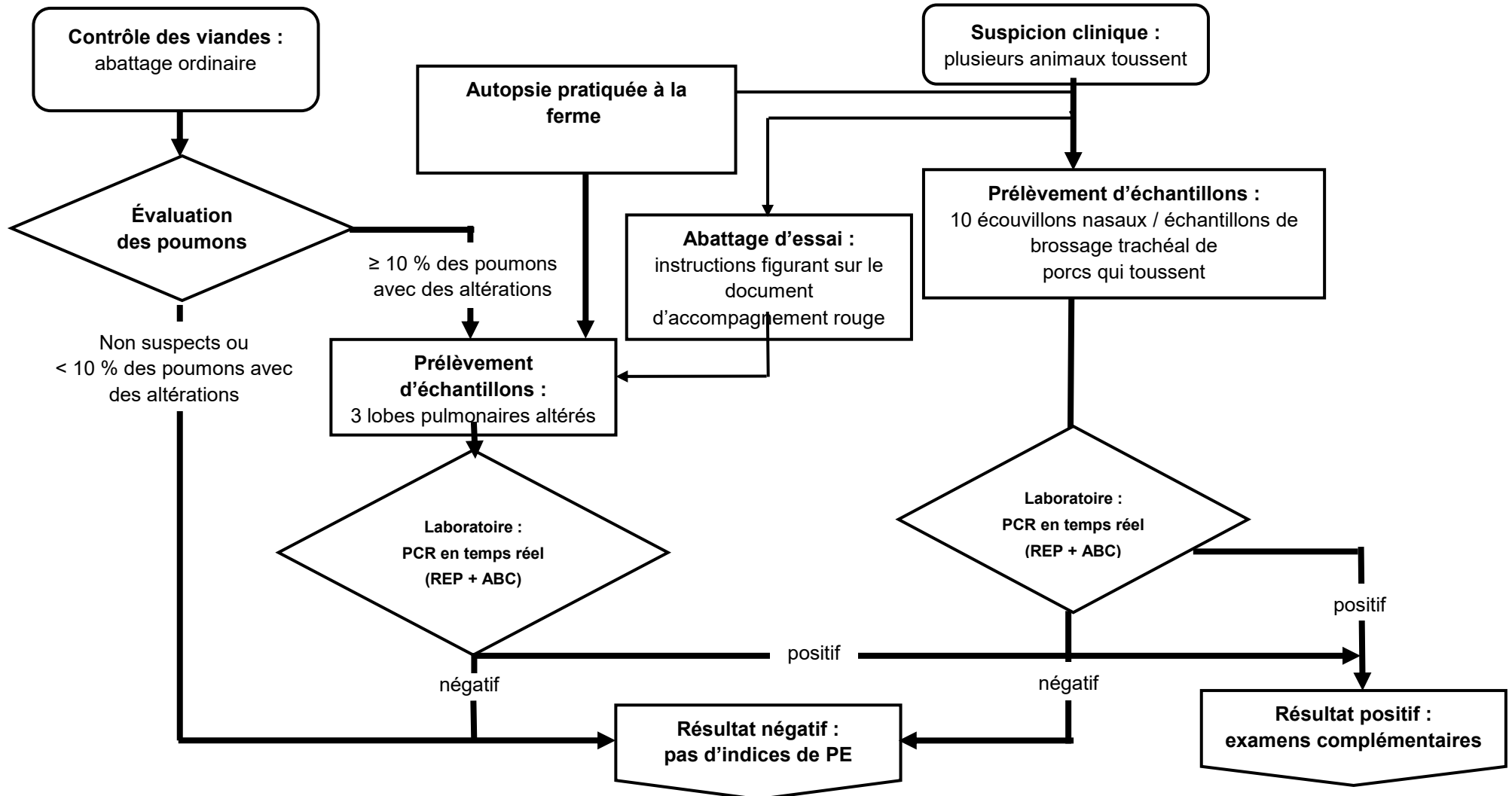
Les présentes directives modifiées entrent en vigueur le 01.12. 2021.

VII Annexes

1. Schéma de la procédure d'examen en cas de suspicion de PE
2. Évaluation des résultats et rapport



Annexe 1 : schéma de la procédure d'examen en cas de suspicion de PE dans un troupeau



Annexe 2 : évaluation des résultats et rapport

Critères d'évaluation	Prélèvement d'échantillons	PCR en temps réel (REP + ABC)	Évaluation globale et rapport
Contrôle des viandes : évaluation macroscopique des poumons			
Non suspects	Pas de prélèvement d'échantillons		Résultat négatif, pas de notification au service vétérinaire cantonal
< 10 % d'altérations pulmonaires suspectes de PE	Pas de prélèvement d'échantillons		Résultat suspect, notification de la suspicion au service vétérinaire cantonal
≥ 10 % d'altérations pulmonaires suspectes de PE	Envoyer 3 lobes pulmonaires altérés au laboratoire agréé		Résultat suspect, notification de la suspicion au service vétérinaire cantonal
Vétérinaire expéditeur : analyse macroscopique des poumons (autopsie à la ferme)			
Les altérations parlent contre une PE	Pas de prélèvement d'échantillons		Résultat négatif, pas de notification au service vétérinaire cantonal
Les altérations parlent pour une PE	Envoyer 3 lobes pulmonaires altérés au laboratoire agréé		Résultat suspect, notification de la suspicion au service vétérinaire cantonal
Laboratoire agréé : examen des échantillons			
	Prélèvement d'échantillons de tous les poumons envoyés	Tous les échantillons sont négatifs	Résultat négatif, notification au service vétérinaire cantonal
		≥ 1 échantillon positif	Résultat positif, notification au service vétérinaire cantonal
Vétérinaire de troupeau : évaluation clinique du troupeau de porcs			
Pas d'indices de PE	Pas de prélèvement d'échantillons		Résultat négatif, pas de notification au service vétérinaire cantonal

Plusieurs animaux présentent une toux marquée, notification de la suspicion au service vétérinaire cantonal	Écouvillons nasaux/échantillons de brossage trachéal de 10 porcs avec symptômes cliniques	Tous les échantillons sont négatifs	Résultat négatif, notification au service vétérinaire cantonal
		≥ 1 échantillon positif à la PCR en temps réel	Résultat positif, notification au service vétérinaire cantonal
	Échantillons de sang de 20 porcs	≥ 3 échantillons positifs au test ELISA	