



Directives techniques du 30 septembre 2005 (état au 25 août 2014)

concernant

Le prélèvement d'échantillons et le diagnostic de la brucellose

L'Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV),
vu les art. 151, 190, 207, 233 et 297, al. 1, let. c, de l'ordonnance du 27 juin 1995 sur les
épizooties (OFE; RS 916.401),

édicte les **directives** suivantes :

I. Champ d'application

1. Les présentes directives techniques régissent les prélèvements d'échantillons, les méthodes d'analyse, ainsi que l'interprétation des résultats et toutes les mesures qui en découlent dans le cadre de la surveillance et des examens à effectuer en cas de suspicion de brucellose et en cas de brucellose bovine, ovine, caprine et porcine et de brucellose des béliers.

II. Prélèvements des échantillons

2. Le **matériel d'examen** pour établir un diagnostic de brucellose peut être :
 - pour le dépistage sérologique : sérum sanguin. Du lait de vaches, individuel ou de citerne, peut également être analysé sur ordre du vétérinaire cantonal.
 - pour le dépistage de l'agent pathogène : matériel avorté [placenta, fœtus, (caillette)], organes du système urogénital et rate ainsi qu'organes altérés, matériel provenant d'un abcès ou d'une ponction articulaire ou de la capsule articulaire.
3. **Échantillons de sang** : les échantillons doivent être conservés au frais et expédiés par courrier A ou par coursier à un laboratoire agréé.
4. **Arrière-faix/fœtus** : il faut envoyer plusieurs cotylédons du placenta nécrosés ou hyperémiés, prélevés si possible immédiatement après la mise-bas ou l'avortement ainsi qu'au cas où cela est possible, le fœtus (caillette) ou les organes des animaux mort-nés.
5. **Organes/ponctions** : il est également possible d'envoyer des organes (p. ex.: testicules, épидидyme, gonades, rate ou ganglions lymphatiques régionaux) présentant des lésions, prélevés sur des animaux suspects ou du matériel provenant de ponctions des articulations ou de la capsule articulaire après accord et sur les indications d'un laboratoire agréé.
6. Le matériel d'examen doit être collecté et expédié dans des **conteneurs étanches**, afin de protéger de toute souillure ou contamination le personnel amené à manipuler les conteneurs. Les échantillons doivent être conservés au frais (mais pas congelés) et expédiés le plus rapidement possible au laboratoire agréé.
7. Tous les échantillons doivent être dûment étiquetés de manière à pouvoir être **clairement identifiés** et être accompagnés d'une **demande d'analyse** mentionnant le nom, le prénom, l'adresse, le numéro BDTA de l'exploitation de provenance et de l'animal sur lesquels ils ont été prélevés, les coordonnées du mandant, les analyses à effectuer ainsi que le nom du destinataire de la facture.

III. Laboratoires de diagnostic

8. Les **laboratoires** qui peuvent effectuer des analyses dans le cadre du plan de lutte officiel contre la brucellose doivent être agréés par l'OSAV (art. 312 OFE). Une liste actuelle est publiée sur le site Internet de l'OSAV (www.blv.admin.ch).
9. **Laboratoire national de référence :**
ZOBA, Institut de bactériologie vétérinaire de la faculté Vetsuisse de l'Université de Berne, Länggassstrasse 122, 3012 Berne, ou case postale 8466, 3001 Berne
10. Les résultats douteux après nouvelle analyse, les valeurs « suspectes » dans IDEXX ELISA avec DO > 70-80 % et les résultats positifs doivent être annoncés au vétérinaire cantonal et examinés par le laboratoire de référence compétent. Le contrôle des échantillons de sérum nécessite également la transmission des données brutes de la première analyse (valeurs DO en pourcent du contrôle positif) et l'indication du kit de test utilisé. D'entente avec le laboratoire de référence, le vétérinaire cantonal ordonne les analyses de clarification des échantillons qui se révèlent aussi sérologiquement positifs au laboratoire de référence. Les cultures pures suspectes doivent être expédiées dans un milieu de transport standard avec un écouvillon.

IV. Méthodes d'analyse

11. Analyse sérologique pour la détection d'anticorps dans le sang :

- **ELISA** : ne peuvent être utilisés pour cet examen que les kits de test autorisés à cet effet par l'OSAV. Pour l'utilisation des kits de tests ELISA, on se conformera aux instructions du mode d'emploi fourni par le fabricant. Les kits de test autorisés actuellement sont publiés sur le site Internet de l'OSAV (www.blv.admin.ch > Santé animale > Les maladies en un clin d'œil > Brucellose).
- **Test à l'antigène tamponné pour Brucella (BBAT) :**
 - **Test au rose de Bengale (TRB)** : le test au rose de Bengale pour *B. abortus/melitensis/suis* doit être effectué en respectant les directives de la version actuelle du manuel des tests de diagnostic et des vaccins de l'OIE*¹. Les résultats devront être classés en cas positifs ou négatifs.
 - **Réaction de fixation du complément (RFC)** : la réaction de fixation du complément doit être effectuée en respectant les directives de la version actuelle du manuel des tests de diagnostic et des vaccins de l'OIE*¹. Les résultats sont exprimés en unités internationales.

12. Détection de l'agent pathogène au microscope :

- **Arrière-faix/fœtus** : les cotylédons ainsi que, pour le fœtus, le foie, les poumons et la caillette (sédiment) sont examinés au microscope au moyen de la coloration spéciale de Stamp conformément aux directives de la version actuelle du manuel des tests de diagnostic et des vaccins de l'OIE*¹. Outre les brucellas, les coxiellas et les chlamydies réagissent également avec cette coloration spéciale. Lorsque les animaux présentent un résultat positif avec cette coloration spéciale, il y a suspicion d'une infection par la brucellose. Il faut, dans ce cas, si ce n'est pas déjà fait, prélever un échantillon de sang de la mère ou du troupeau pour effectuer une recherche d'anticorps.

Si le dépistage des anticorps se révèle positif, il y a suspicion d'épizootie et il faut alors effectuer un dépistage de l'agent pathogène par culture.

- **Organes/ponctions** : l'examen au microscope se fait comme décrit dans la partie « Arrière-faix/fœtus ».

13. Dépistage de l'agent pathogène par culture :

Dans les cas suspects, le dépistage de l'agent pathogène par culture au moyen de méthodes spéciales d'isolement (Abril et al. 2011^{*2}) et de milieux nutritifs spéciaux est réalisé conformément aux directives de la version actuelle du manuel des tests de diagnostic et des vaccins de OIE^{*1}. Toutes les cultures pures suspectes doivent être transmises pour confirmation au laboratoire de référence.

14. Procédure de diagnostic de la brucellose bovine, ovine, caprine et porcine et de la brucellose du bélier :

Pour les tests sérologiques, les examens primaires sont les suivant : chez les **ruminants**, il s'agit des kits ELISA autorisés à cet effet et, chez les **porcs**, ce sont le TRB ou le kit ELISA autorisé à cet effet, assorti d'échantillons de sang.

En cas d'**avortements**, on effectue, en plus d'une analyse sérologique sur l'animal ayant avorté, un dépistage au microscope de l'agent pathogène est effectué dans les arrière-faix/le fœtus en utilisant la coloration spéciale Ziehl-Neelsen modifiée d'après Stamp, conformément aux directives de la version actuelle du manuel des tests de diagnostic et des vaccins de l'OIE^{*1}.

Si le dépistage des anticorps se révèle positif, il y a suspicion d'épizootie et il faut alors effectuer un examen sérologique du troupeau ainsi qu'un dépistage de l'agent pathogène par culture.

Les **animaux détenus dans les centres d'insémination** sont régis par les directives techniques concernant les exigences sanitaires applicables à la production, au stockage, à la remise et à la mise en place de sperme d'animaux des espèces bovine, ovine, caprine et porcine (www.blv.admin.ch > Thèmes > Santé animale > Thèmes spécialisés > Insémination artificielle / transfert d'embryons).

Il faut également tenir compte des dispositions particulières qui régissent l'importation, l'exportation et le transit des animaux à onglons (www.blv.admin.ch > Thèmes > Affaires internationales).

Procédure de diagnostic de la **brucellose du bélier** : l'analyse sérologique par la méthode ELISA constitue l'examen principal. Si le résultat se révèle positif, un deuxième prélèvement est effectué sur l'animal concerné au plus tôt deux semaines plus tard pour une analyse sérologique de vérification ; après un deuxième résultat négatif, les analyses sont considérées comme terminées, à condition que l'enquête épidémiologique menée sur le troupeau ne révèle aucun indice de brucellose.

15. Schéma d'évaluation et investigations complémentaires : l'isolement d'une souche de *Brucella* constitue un cas positif de brucellose. L'interprétation des résultats sérologiques pour la **brucellose bovine, la brucellose ovine et caprine, et la brucellose porcine** ainsi que les différentes mesures qui en découlent sont décrits en annexe.

V. Entrée en vigueur

Les présentes directives remplacent les directives techniques concernant le prélèvement d'échantillons et le diagnostic de la brucellose et de la coxiellose du 1^{er} mai 1969 et entrent en vigueur le 1^{er} octobre 2005.

^{*1}Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres, Organisation mondiale de la santé animale (OIE), http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_summry.htm

^{*2}A novel isolation method of *Brucella* species and molecular tracking of *Brucella suis* biovar in domestic and wild animals (2011). Abril C, Thomann A, Brodard J, Wu N, Ryser-Degiorgis MP, Frey J, Overesch G. Vet Microbiol. **150**:405-10.

Annexe : Schéma d'évaluation des résultats sérologiques concernant la brucellose bovine, la brucellose ovine et caprine et la brucellose porcine

1. Examen par le test ELISA

Le tableau ci-dessous indique les mesures à prendre en fonction des différents résultats d'analyse de prélèvements de sang avec le test ELISA.

Résultat ELISA	Mesures à prendre
négatif	Examen terminé, résultat négatif
suspect ou positif	Envoyer l'échantillon au laboratoire de référence

2. Examens ultérieurs au laboratoire de référence et mesures à prendre

Le tableau ci-dessous donne des indications sur les analyses des échantillons positifs effectuées au laboratoire de référence, sur leur évaluation ainsi que sur les mesures à prendre. Tous les échantillons sont réexaminés au moyen du test ELISA, par agglutination (test au rose de Bengale) **et** par réaction de fixation du complément. En cas d'incertitude, il est recommandé de contacter le responsable du laboratoire de référence.

ELISA	Agglutination TRB	RFc	Évaluation des résultats et mesures à prendre
négatif	négatif	< 20 UI/ml, négatif	Examen terminé , résultat négatif.
positif	positif	≥ 20UI/ml, positif	S'il s'agit d'un résultat isolé , il y a suspicion de brucellose et une enquête épidémiologique doit être menée dans le troupeau, conformément aux art. 154, 193 et 210 OFE. Si plusieurs échantillons provenant d'un même troupeau sont positifs , il s'agit d'un cas d'épizootie au sens des art. 151, 190 et 207 OFE. Les enquêtes épidémiologiques doivent être menées conformément aux art. 155, 194 et 211 OFE.
positif	positif	< 20 UI/ml, négatif	S'il s'agit d'un résultat isolé , il faut attendre au moins deux semaines pour prélever un deuxième échantillon de sang sur l'animal concerné et procéder à une analyse sérologique de vérification ; l'examen est considéré comme terminé après un résultat négatif, à condition que l'enquête épidémiologique menée dans l'exploitation ne révèle aucun indice de brucellose. Si plusieurs échantillons provenant d'un même troupeau sont positifs , il y a suspicion de brucellose et les enquêtes épidémiologiques doivent être menées dans le troupeau conformément aux art. 154, 193 et 210 OFE.
positif	négatif	≥ 20 UI/ml, positif	S'il s'agit d'un résultat isolé , il faut attendre au moins deux semaines pour prélever un deuxième échantillon de sang sur l'animal concerné et procéder à une analyse sérologique de vérification ; l'examen est considéré comme terminé après un résultat négatif, à condition que l'enquête épidémiologique menée dans l'exploitation ne révèle aucun indice de brucellose. Si plusieurs échantillons provenant d'un même troupeau sont positifs , il y a suspicion de brucellose et les enquêtes épidémiologiques doivent être menées dans le troupeau conformément aux art. 154, 193 et 210 OFE.
positif	négatif	< 20 UI/ml, négatif	Examen terminé , à condition qu'il n'y ait pas d'indice de brucellose au niveau épidémiologique

3. Matériel examiné : lait de bovins

Si les résultats du test ELISA effectué sur les échantillons de lait ne sont pas interprétables ou positifs, il faut effectuer des prélèvements de sang et les envoyer au laboratoire de référence.

Dans tous les cas, il est recommandé de contacter le responsable du laboratoire de référence lorsque l'interprétation des résultats est peu claire.