



## Directives techniques

concernant

### le prélèvement d'échantillons et leur analyse à l'égard de la diarrhée virale bovine (BVD)

du 23 octobre 2007, modifiées le 16.04.2008 ; adaptations rédactionnelles le 23 septembre 2009, le 24 janvier 2013 et le 15.04.2019

---

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

vu les art. 174a, al. 3 et 312, al. 5, 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 fixent les exigences relatives au prélèvement d'échantillons et à leur analyse pour le dépistage de la BVD. Elles définissent l'échantillon à analyser et les méthodes d'analyse à utiliser.

#### II. Prélèvement des échantillons

2. Le/ la vétérinaire cantonal/-e décide dans quel laps de temps les échantillons doivent être prélevés et détermine l'échantillon à analyser. Il/elle désigne la personne responsable du prélèvement et fixe la méthode d'analyse.
3. Peuvent servir d'échantillon pour la mise en évidence directe du virus (antigène ou génome) les échantillons cutanés d'oreille prélevés par poinçonnage, le sang, le lait, les biopsies cutanées, le fœtus ou les animaux mort-nés.
4. Les conditions de prélèvement et d'envoi du matériel à analyser sont les suivantes:

Échantillon	Prélevé par	Récepteur, quantité, technique de prélèvement et conservation	Envoi	Remarques
Sang	Vétérinaire	Échantillon de 10 ml de sang EDTA; à conserver sous réfrigération	Le même jour en courrier A ou par coursier	Utiliser une nouvelle aiguille pour chaque prise de sang.

Lait	Vétérinaire ou autre personne désignée	Tube à échantillons de lait de 10 ml; à conserver sous réfrigération	Le même jour en courrier A ou par coursier	A mélanger avec un milieu de conservation approprié (Broad Spectrum Microtabs (55 % 2-bromo-2-nitro-1,3-propandiol)).
Échantillon cutané d'oreille prélevé par poinçonnage	Détenteur/-trice d'animaux, vétérinaire ou autre personne désignée		Le même jour en courrier A ou par coursier	Uniquement des échantillons fraîchement prélevés ou des tissus conservés sous réfrigération
Fœtus, veaux mort-nés	Vétérinaire	Fœtus entier ou tête entière avec le cou	Immédiatement après l'avortement	Uniquement pour des cas spéciaux et après discussion avec le VC
Biopsies cutanées	Vétérinaire	Biopsies par poinçonnage Ø 6 mm, sur le côté du cou ou à l'épaule Sans fixatif	Des tubes à sérum peuvent être utilisés pour l'envoi (protection contre le dessèchement avec une gaze humide)	Uniquement pour des cas spéciaux et après discussion avec le VC  Uniquement à la Pathologie vétérinaire de Zurich pour l'immunohistochimie

5. Les échantillons cutanés de l'oreille prélevés par poinçonnage ne doivent être collectés et envoyés que dans les tubes mis à disposition dans le cadre du programme d'éradication de la BVD, en évitant toute contamination.
6. Pour des raisons de traçabilité, il est impératif de remplir complètement la demande d'analyse et d'identifier clairement les échantillons à analyser.

### III. Laboratoires

7. Les laboratoires qui effectuent des analyses dans le cadre de la lutte officielle contre la BVD doivent être agréés à ce titre par l'OSAV (art. 312 OFE). La liste des laboratoires agréés est publiée sur internet.
8. L'analyse des échantillons et l'annonce des résultats d'analyse au système d'information des laboratoires Alis conformément au chiffre 19 doivent se faire dans un délai de 5 jours ouvrables.
9. Le/la vétérinaire cantonal/-e désigne pour chaque type d'échantillon le laboratoire agréé pour le dépistage de la BVD.
10. Les fœtus et les animaux mort-nés, ou leurs organes, doivent être analysés par immunohistochimie à l'Institut de pathologie vétérinaire à la Faculté Vetsuisse de l'Université de Zurich, Winterthurerstrasse 268, CH-8057 Zurich ou par une méthode PCR à transcriptase inverse en temps réel (rRT-PCR) autorisée à cette fin dans un laboratoire agréé. Chez les animaux mort-nés récemment expulsés, une alternative consiste à prélever un échantillon de peau d'oreille par poinçonnage.
11. **Laboratoire national de référence:**  
Institut de virologie et d'immunologie IVI de Berne, Länggassstrasse 122, case postale, CH-3001 Berne.

## IV. Méthodes d'analyse

### 12. Kits de tests autorisés

Seuls les systèmes de test autorisés par l'OSAV peuvent être utilisés. La liste des kits de tests autorisés par l'OSAV est publiée sur internet (Liste des produits de diagnostic vétérinaire autorisés).

### 13. Real time reverse Transcriptase PCR (rRT-PCR)

La détection spécifique du génome du virus de la BVD dans le sang, le lait, les échantillons cutanés ou dans les fœtus avortés se fait par rRT-PCR. La rRT-PCR convient en principe pour les échantillons d'animaux de tout âge.

Les tests rRT-PCR ne sont autorisés que pour le type d'échantillon validé par le fabricant. Ils doivent être utilisés conformément au mode d'emploi fourni par le fabricant.

### 14. Enzym-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA) pour la détection des antigènes de la BVD

La méthode ELISA est utilisée pour la détection d'antigènes dans les échantillons de peau d'animaux de tout âge. Elle ne peut servir à l'analyse des échantillons de sang que pour des animaux de plus de 6 mois. La méthode ELISA n'est pas autorisée pour l'analyse des échantillons de sang d'animaux âgés de moins de 6 mois.

Les tests ELISA doivent être utilisés conformément au mode d'emploi fourni par le fabricant.

### 15. Immunohistochimie

La détection des antigènes de la BVD par immunohistochimie convient particulièrement pour les analyses de fœtus avortés, de veaux mort-nés ou morts après la naissance. Selon la taille du veau avorté, le corps entier ou seulement la tête (cerveau) seront envoyés pour analyse.

Une immunohistochimie de biopsies cutanées sans fixatif (Ø 6 mm) peut être demandée dans certains cas en respectant les instructions du/ de la vétérinaire cantonal/-e.

### 16. « Pool » (échantillons de mélange)

En principe, tous les animaux font l'objet d'un prélèvement d'échantillon individuel.

Les analyses par ELISA pour détecter l'antigène de la BVD doivent se faire uniquement sur des échantillons individuels. Par contre, la rRT-PCR peut également se faire sur des échantillons « poolés » (= de mélange). La taille du pool d'échantillons dépend de la méthode choisie pour extraire l'ARN, de la rRT-PCR et du type d'échantillon utilisé. L'OSAV fixe la taille maximale autorisée du pool d'échantillons.

Les échantillons de lait et de sang peuvent être « poolés » (mélangés) avant l'extraction de l'ARN. Les échantillons de peau en revanche ne peuvent être « poolés » qu'après la lyse ou après l'extraction de l'ARN.

L'échantillon individuel doit être conservé de manière à pouvoir faire l'objet d'une analyse individuelle si le résultat du « pool » est positif.

### 17. Confirmation des résultats

Tous les résultats positifs après un premier examen (résultats initialement positifs) ainsi que tous les résultats non interprétables doivent être vérifiés par une analyse de confirmation. Un nouvel échantillon de l'animal testé (voir plus bas) est prélevé pour l'analyse de confirmation. Si ce n'est possible, l'échantillon ayant fait l'objet du premier examen est considéré comme positif.

En cas de résultat positif ou non interprétable lors du premier examen, la suite de la procédure consistera, indépendamment de la méthode utilisée lors du premier examen :

- a. à prélever un échantillon de sang EDTA et
- b. à l'analyser par rRT-PCR.

Si l'analyse de confirmation est :

- a. négative, l'échantillon est considéré comme négatif
- b. positive, l'échantillon est considéré comme positif
- c. non interprétable, l'échantillon doit être transmis au laboratoire de référence après discussion.

Les analyses de confirmation sont effectuées au laboratoire de référence national pour la BVD. Elles peuvent être confiées au laboratoire qui a analysé les échantillons la première fois pour autant que celui-ci soit agréé par l'OSAV pour le diagnostic de la BVD par des méthodes de biologie moléculaire.

Le/la vétérinaire cantonal/-e est responsable de l'organisation du prélèvement des échantillons nécessaires à la confirmation des premiers résultats.

#### **18. Conservation des échantillons**

Le laboratoire doit conserver les échantillons individuels ayant été utilisés pour constituer l'échantillon poolé jusqu'à ce qu'un résultat indubitable soit connu.

Pour chacun des échantillons positifs confirmés, le laboratoire enverra les échantillons de sang qu'il a analysés au laboratoire de référence pour la BVD.

### **V. Rapport**

19. Les résultats doivent être transmis à la banque de données des laboratoires de l'OSAV, en respectant les « directives techniques concernant la transmission des résultats d'analyse par les laboratoires agréés au système d'information Alis ».

### **VI. Entrée en vigueur**

Les présentes directives entrent en vigueur le 1<sup>er</sup> novembre 2007.

OFFICE FÉDÉRAL DE LA SÉCURITÉ  
ALIMENTAIRE ET DES AFFAIRES  
VÉTÉRINAIRES