



## Directives techniques

concernant

# les examens de dépistage de la tuberculose

du 27 septembre 2010 (État au 20.04.2023) (Correction version fr 06.09.2023)

### Sommaire

<b>les examens de dépistage de la tuberculose</b> .....	<b>1</b>
<b>I Champ d'application</b> .....	<b>2</b>
<b>II Dépistage <i>ante mortem</i></b> .....	<b>2</b>
<b>III Interprétation des résultats</b> .....	<b>3</b>
<b>IV Mesures pour les animaux de l'espèce bovine, les buffles et les bisons</b> .....	<b>3</b>
<b>V Mesures pour les autres artiodactyles ou mammifères</b> .....	<b>3</b>
<b>VI Examen <i>post mortem</i></b> .....	<b>3</b>
<b>VII Interprétation des résultats et mesures pour les animaux de l'espèce bovine, les buffles et les bisons</b> .....	<b>4</b>
<b>VIII Entrée en vigueur</b> .....	<b>4</b>
<b>IX Annexes</b> .....	<b>5</b>
Annexe 1 : Représentation schématique de la réponse immunitaire des bovins en fonction des méthodes de dépistage de la TB .....	5
Annexe 2 : Spécifications concernant les méthodes de dépistage autorisées .....	6
A. Test intradermique à la tuberculine .....	6
B. Test INF- $\gamma$ .....	10
C. ELISA pour les camélidés .....	11
Annexe 3 : Spécifications concernant les analyses de dépistage <i>post mortem</i> à effectuer sur les animaux suspects de tuberculose .....	12
A. Prélèvement et transport des échantillons à analyser .....	12
B. Description des méthodes d'analyse autorisées .....	12
Annexe 4 : Références bibliographiques .....	13

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

vu l'art. 297, al. 1, let. c de l'ordonnance du 27 juin sur les épizooties (OFE ; RS 916.401),

édicte les directives suivantes :

## I Champ d'application

1. Les présentes directives techniques sont destinées aux autorités cantonales chargées de l'exécution. Elles règlent les examens de dépistage [test intradermique à la tuberculine, test de détection de l'interféron-gamma (IFN- $\gamma$ ) resp. ELISA (tablette 1)] (annexe 2) chez les animaux vivants de l'espèce bovine, les buffles, les bisons, les caprins, les ovins et les camélidés ainsi que les analyses post mortem (annexe 3) à effectuer sur les animaux suspects de tuberculose.
2. Par tuberculose, on entend selon l'art. 158 de l'OFE les infections par *Mycobacterium (M.) bovis*, *M. caprae* et *M. tuberculosis*. Elles font partie du complexe *Mycobacterium tuberculosis*.
3. La tuberculose est une épizootie à éradiquer seulement pour les animaux de l'espèce bovine, les buffles et les bisons (art. 158, al.1 OFE). Pour les autres mammifères, les mesures sont décrites plus bas.

## II Dépistage ante mortem

4. Le diagnostic de la tuberculose bovine est complexe (annexe 1). L'OSAV définit dans les directives techniques une procédure standard pour l'examen des bovins, buffles, bisons, caprins, ovins et camélidés.
5. La méthode de référence consiste à effectuer des examens à l'échelon du troupeau en utilisant le test intradermique à la tuberculine sous forme de test simultané avec la tuberculine bovine (PPD-B) et la tuberculine aviaire (PPD-A) (annexe 2, let. A). Les camélidés constituent une exception : pour augmenter la sensibilité, le test intradermique à la tuberculine doit être combiné avec un test ELISA (voir annexe 2, section C).
6. Dans des cas exceptionnels, il est également possible d'effectuer le monotest avec la tuberculine bovine (PPD-B). Vu que ce test est peu spécifique, en cas de résultat positif il est conseillé de refaire un test de dépistage soit avec le test simultané après 42 jours ou avec un test IFN- $\gamma$  sans délai d'attente.
7. À l'exception des camélidés, le test IFN- $\gamma$  peut être effectué pour clarifier des réactions douteuses au test intradermique à la tuberculine. Le test IFN- $\gamma$  du fabricant IDvet peut aussi être utilisé pour les espèces indiquées dans la tablette 1 (annexe 2, let. B).

Tablette 1 : Choix des tests de dépistage en fonction des espèces

Espèces	intradermique	IFN- $\gamma$ IDvet	ELISA
bovins	X	X	-
buffles	X	X	-
bisons	X	X	-
chèvres	X	X*	
ovins	X	X*	
camélidés	X		X

\* actuellement pas reconnu pour l'exportation en UE

### **III Interprétation des résultats**

8. Tous les animaux présentant une réaction positive au test simultané ou au test IFN- $\gamma$  sont considérés comme des cas de suspicion de tuberculose (art.6, let. r OFE).
9. En cas de réaction douteuse au test intradermique, le vétérinaire cantonal peut ordonner sans délai d'attente une analyse de clarification sous forme d'un test IFN- $\gamma$  ou répéter le test intradermique simultané après un délai minimum de 42 jours.
10. En cas de résultat négatif à une analyse de clarification, la réaction initialement douteuse au test intradermique à la tuberculine est considérée comme négative

### **IV Mesures pour les animaux de l'espèce bovine, les buffles et les bisons**

11. Tous les animaux présentant une réaction positive au test simultané ou au test IFN- $\gamma$  doivent être mis à mort et soumis à un examen post mortem (art. 162 OFE).
12. Les animaux avec des résultats douteux qui n'ont pas été clarifiés selon les chiffres 9 et 10 sont considérés comme un cas de suspicion de tuberculose au sens de l'OFE art.162 et doivent être abattus ou mis à mort et soumis à un examen post-mortem.

### **V Mesures pour les autres artiodactyles ou mammifères**

13. Pour les artiodactyles autres que les animaux de l'espèce bovine, les buffles et les bisons, le vétérinaire cantonal prend les mesures qui s'imposent pour empêcher que l'épizootie ne continue de se propager (art. 158, al. 2 OFE).
14. Pour les mammifères autres que les artiodactyles, les mesures des épizooties à surveiller selon l'art. 291 de l'OFE s'appliquent.
15. Les mesures liées aux conditions d'exportation sont réservées.
16. Pour l'exportation vers l'UE, le test intradermique seul suffit pour définir le statut des camélidés du nouveau monde

### **VI Examen *post mortem***

17. L'examen post mortem consiste pour :
  - a. les animaux abattus à un contrôle des viandes minutieux avec un prélèvement d'échantillons pour une analyse bactériologique
  - b. les animaux mis à mort à une autopsie avec un prélèvement d'échantillons pour une analyse bactériologique
18. L'analyse bactériologique comporte une analyse de biologie moléculaire (PCR en temps réel effectué sur des tissus présentant des altérations macroscopiques suspectes de tuberculose et/ou une analyse d'au moins un ganglion lymphatique de la tête, du thorax et de l'abdomen) ainsi qu'une mise en évidence par culture de l'agent responsable de la tuberculose en temps.
19. L'analyse bactériologique de la tuberculose en cas de suspicion de la maladie à l'abattoir ou lors d'autopsies est effectuée par le laboratoire national de référence pour la tuberculose :

#### **Section de bactériologie vétérinaire (VB)**

Faculté Vetsuisse, Université de Zurich

Winterthurerstrasse 270

CH-8057 Zurich

Tél. du laboratoire de diagnostic : 044/ 635 86 10

Courriel : [labor-ivb@vetbakt.uzh.ch](mailto:labor-ivb@vetbakt.uzh.ch)

Pour de plus amples informations sur le diagnostic de la tuberculose, voir le site de VB (en allemand) (<http://www.ivb.uzh.ch/de/services/DienstleistungenVetBakt.html>)

## **VII Interprétation des résultats et mesures pour les animaux de l'espèce bovine, les buffles et les bisons**

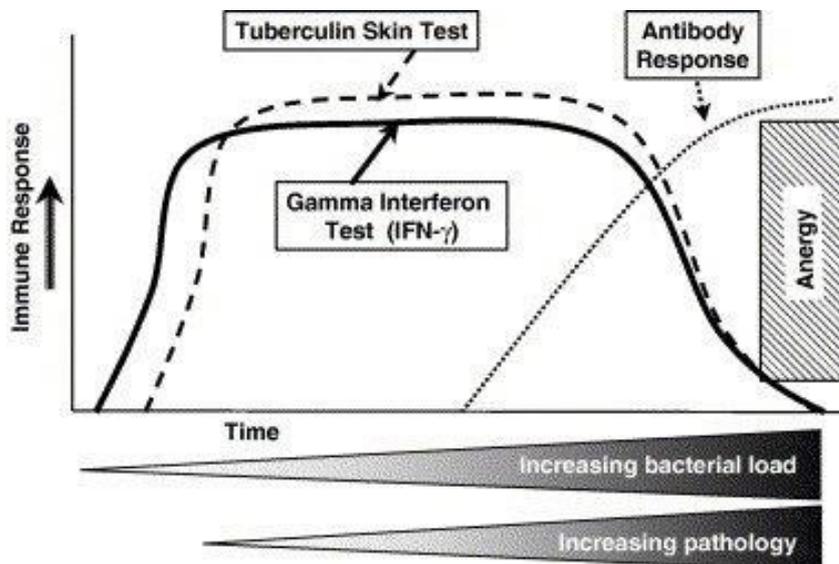
20. Il y a constat de tuberculose selon l'art. 163 de l'OFE lorsque *M. bovis*, *M. caprae* ou *M. tuberculosis* est mis en évidence par culture et/ou PCR en temps réel (spécifique pour le complexe *Mycobacterium tuberculosis* ) dans un troupeau .
21. Limitation : *M. microti* est également un membre du complexe *Mycobacterium tuberculosis* et est donc également détecté, bien qu'il ne s'agisse pas d'une épizootie selon l'art. 158 de l'OFE.
22. C'est le résultat du test PCR en temps réel qui fait foi pour déterminer les mesures de lutte et pour décider si la carcasse est propre ou impropre à la consommation.

## **VIII Entrée en vigueur**

Les présentes directives techniques sont entrées en vigueur le 1<sup>er</sup> novembre 2010. Modifications au 20.04.2023.

## IX Annexes

### Annexe 1 : Représentation schématique de la réponse immunitaire des bovins en fonction des méthodes de dépistage de la TB



Extrait de [3]: De la Rua-Domenech et al., 2006, Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A review of the tuberculin tests,  $\gamma$ -interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. Schematic representation of the spectrum of responses of the bovine immune system to various tests for TB (adapted from Vordermeier et al., 2004)

La réponse immunitaire à médiation cellulaire joue un rôle central dans la tuberculose. Le test intradermique et le test IFN- $\gamma$  mettent en évidence une réponse immunitaire cellulaire après un contact avec des bactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* mais ne prouvent pas une infection. Une production spécifique d'IFN- $\gamma$  est donc corrélée à une exposition au complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Le test IFN- $\gamma$  permet cependant une mise en évidence un peu plus précoce d'une réponse immunitaire (environ 1 à 5 semaines après l'exposition). Comme illustré dans la figure une réponse immunitaire humorale produisant des anticorps apparaît plus tardivement.

La figure illustre aussi que chez les animaux aux premiers stades de l'infection, le test intradermique ou le test IFN- $\gamma$  peut déjà être positif, mais que seules des modifications pathologiques-anatomiques minimales ou que très peu de mycobactéries peuvent être détectées lors de l'autopsie respectivement au moyen d'une culture bactériologique ou d'une détection biologique moléculaire.

## Annexe 2 : Spécifications concernant les méthodes de dépistage autorisées

### A. Test intradermique à la tuberculine

#### 1. Dispositions générales

Le test intradermique à la tuberculine ne peut être utilisé que sur des bovins, buffles, bisons, chèvres, ovins et camélidés âgés de plus de 6 semaines. Les animaux doivent être reposés et ne doivent pas être immunodéprimés.

Seule la tuberculine standardisée issue de dérivés de protéines purifiés (PPD), préalablement autorisée par l'OSAV, peut être utilisée pour pratiquer le test intradermique. Lors de la procédure d'autorisation, l'OSAV fixe la quantité et la concentration (en unités internationales UI par dose) de tuberculine bovine (PPD-B) et de tuberculine aviaire (PPD-A) à laquelle la tuberculine autorisée doit être utilisée. Les PPDs doivent être approuvées par Swissmedic\*.

*\*Actuellement, aucune préparation pour la tuberculination intradermique n'est autorisée en Suisse par Swissmedic. Il est possible de recourir à des alternatives autorisées à l'étranger. Les vétérinaires peuvent les importer avec une [autorisation d'importation de l'OSAV](#).*

La quantité de PPD-B et de PPD-A injectée doit être d'au moins 2000 unités internationales (UI) mais ne doit pas dépasser 5000 UI par dose. Le volume injecté par dose est de 0,1 ml.

L'évaluation de la réaction au test intradermique à la tuberculine est effectuée à l'aide d'un instrument de mesure (cutimètre ou pied à coulisse). Le vétérinaire doit s'exercer à utiliser l'instrument de mesure en effectuant plusieurs fois des mesures de l'épaisseur de la peau sur le même animal jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de variation entre les différentes mesures.

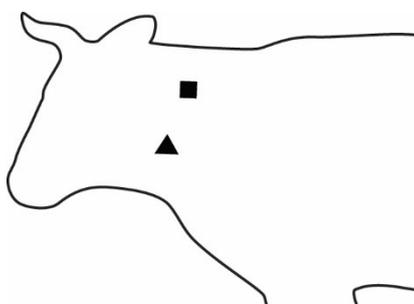
#### 2. Réalisation du test simultané

Les animaux doivent être reposés et ne doivent pas avoir reçu de médicaments immunosuppresseurs.

La tuberculine est injectée par voie intradermique. Après l'injection, il faut contrôler que la tuberculine a été appliquée correctement : un épaissement de la peau en forme de lentille doit être visible et palpable.

#### Lieux d'injection bovins, buffles et bisons

La PPD-A est injectée à environ 10 cm sous la ligne de la nuque et la PPD-B à environ 12,5 cm en dessous du site d'injection de la PPD-A. Si cette distance entre les sites d'injection ne peut pas être respectée chez les jeunes animaux pour des raisons de place, l'injection de PPD-A se fera sur l'un des côtés du cou et celle de PPD-B sur l'autre côté. Les sites d'injection doivent être préalablement tondus sur une surface de 3 cm x 4 cm puis nettoyés à sec. Avant d'injecter la tuberculine, il faut mesurer l'épaisseur de la peau avec l'instrument de mesure.



Test simultané au cou. ■ Tuberculine aviaire (PPD-A)  
▲ Tuberculine bovine (PPD-B)

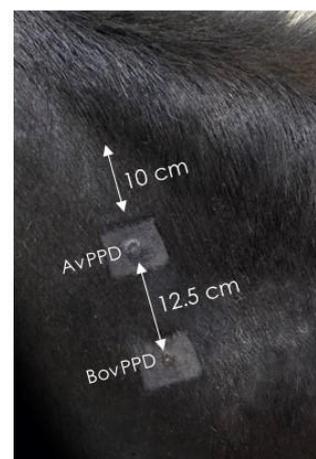


Photo: European Union Reference Laboratory for bovine tuberculosis (SOP/001/EURL)

### Lieux d'injection caprins et ovins.

Les sites d'injection doivent être situés au-dessus de la ligne de l'épaule, dans la région scapulaire (S) ou dans la région cervicale (C). La tuberculine aviaire et la tuberculine bovine sont injectées sur des côtés différents, à des endroits identiques, soit dans la région de l'épaule, soit dans la région du cou.

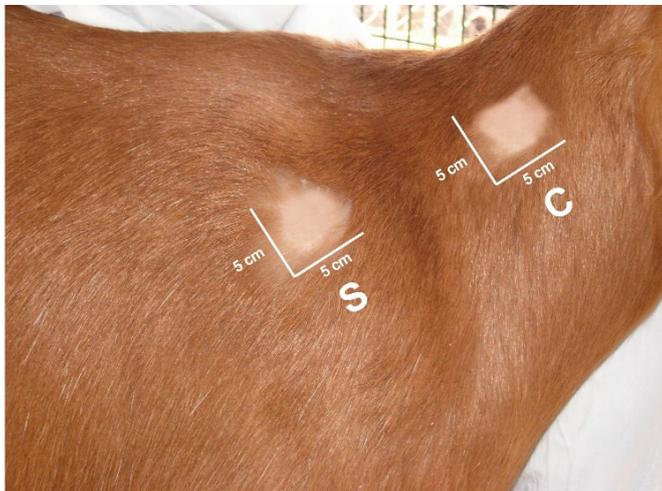


Photo : European Union Reference Laboratory for bovin tuberculosis (SOP/002/EURL)

### Lieux d'injections camélidés

Les sites d'injection doivent être situés dans les régions cervicale, préscapulaire ou post-axillaire. La tuberculine aviaire et la tuberculine bovine sont injectées par voie intradermique sur des côtés différents, à des endroits identiques, soit au niveau cervical, soit au niveau préscapulaire, soit au niveau post-axillaire. Aux sites cervical et préscapulaire, les deux tuberculines pourraient être injectées du même côté, mais il faut s'assurer qu'elles sont suffisamment séparées.

Le test intradermique chez les camélidés doit toujours être associé à un test sérologique effectué 15 à 30 jours après la tuberculination (annexe 2, point C) pour augmenter la sensibilité.



Photo: European Union Reference Laboratory for bovine tuberculosis

### 3. Mesure des résultats du test simultané

L'évaluation du test simultané devrait être effectuée par le vétérinaire qui a effectué la première mesure de l'épaisseur de la peau et qui a injecté la tuberculine.

Le vétérinaire contrôle la réaction au site d'injection 72 heures ( $\pm 4$  heures) après l'injection et mesure l'épaisseur de la peau avec le même instrument que celui utilisé pour la première mesure de l'épaisseur de la peau.

### 4. Interprétation du test simultané

La **réaction est négative** lorsque la différence entre l'augmentation de l'épaisseur de la peau au site d'injection de la PPD-B et l'augmentation constatée au site d'injection de la PPD-A est  $< 1$  mm et que l'on n'observe pas de symptômes cliniques (tels qu'œdèmes étendus, exsudats séro-hémorragiques, croûte, sensibilité à la douleur, inflammation des vaisseaux lymphatiques autour du site d'injection ou des ganglions lymphatiques).

La **réaction est douteuse** si la différence entre l'augmentation de l'épaisseur de la peau au site d'injection de la PPD-B et celle constatée au site d'injection de la PPD-A est comprise entre 1 à 4 mm et que l'on n'observe pas de symptômes cliniques (voir plus haut).

La **réaction est positive** lorsque la différence entre l'augmentation de l'épaisseur de la peau au site d'injection de la PPD-B et celle constatée au site d'injection de la PPD-A est  $> 4$  mm ou lorsqu'on observe des symptômes cliniques (voir plus haut).

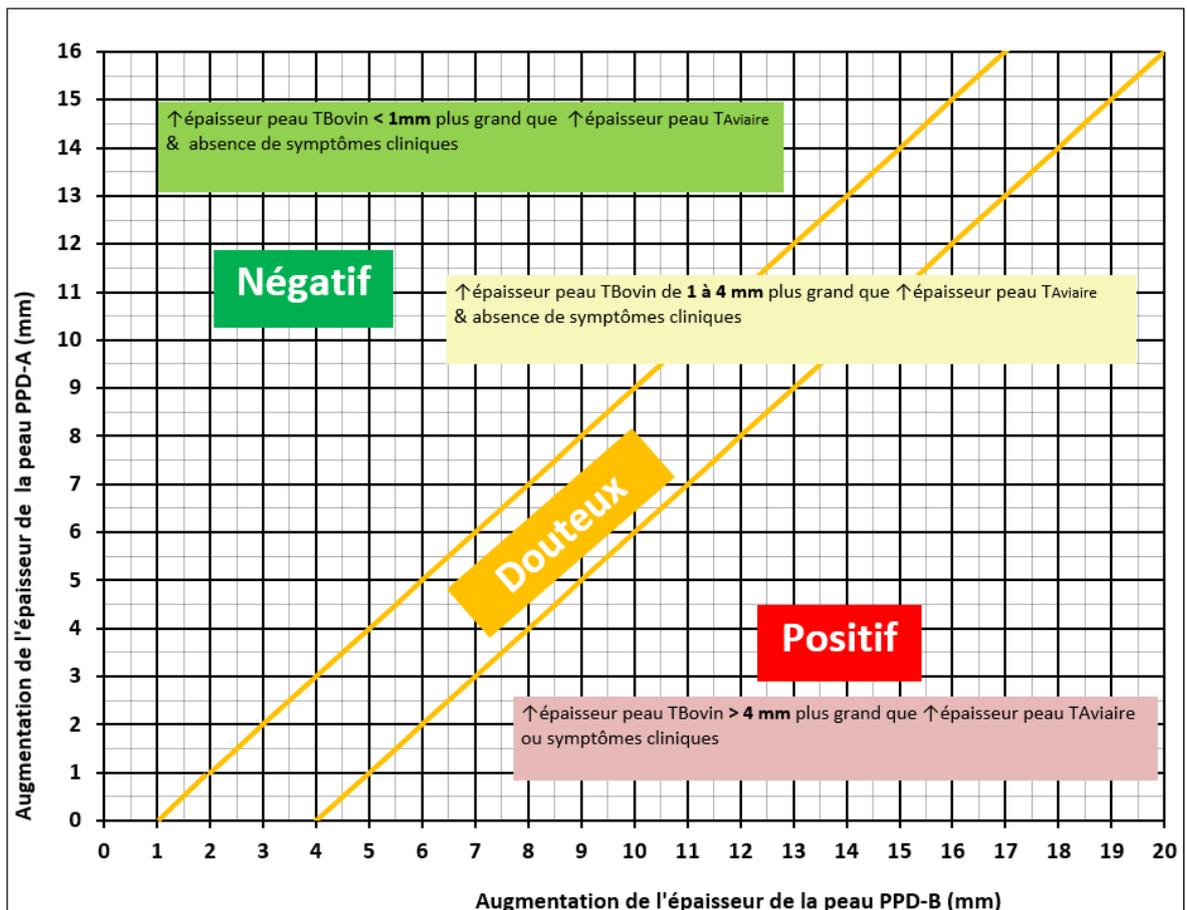
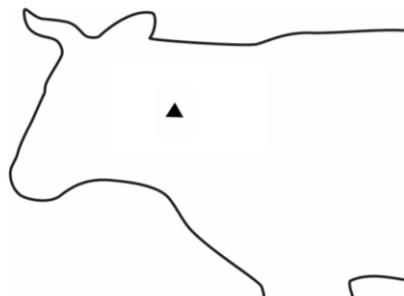


Diagramme pour l'interprétation du test simultané

## 5. Réalisation du monostest

Le site d'injection de la PPD-B se situe dans la région médiane du cou, entre le premier et le deuxième tiers du cou.

Les principes du test simultané sont également applicables.



Monostest au cou, ▲ tuberculine bovine (PPD-B)

## 6. Evaluation du monostest

L'évaluation du monostest se fait d'après les mêmes principes que pour le test simultané.

## 7. Interprétation du monostest

La **réaction est négative** s'il n'y a qu'une augmentation limitée  $\leq 2$  mm de l'épaisseur de la peau et qu'il n'y a pas de symptômes cliniques (voir plus haut).

La **réaction est douteuse** si l'augmentation de l'épaisseur de la peau est  $> 2$  mm et  $< 4$  mm, et qu'il n'y a pas de symptômes cliniques (voir plus haut).

La **réaction est positive** si l'augmentation de l'épaisseur de la peau est  $\geq 4$  mm ou si l'on observe des symptômes cliniques (voir plus haut).

## 8. Résumé de l'interprétation du test simultané et du monostest

Évaluation	Test simultané	Monostest
<b>Négatif</b>	différence entre ↑épaisseur de la peau (PPD-B) <u>et</u> ↑épaisseur de la peau (PPD-A) $< 1$ mm et absence de symptômes cliniques	↑épaisseur de la peau $\leq 2$ mm <u>et</u> absence de symptômes cliniques
<b>Douteux</b>	différence entre ↑épaisseur de la peau (PPD-B) et ↑épaisseur de la peau (PPD-A) comprise entre 1 à 4 mm <u>et</u> absence de symptômes cliniques	↑épaisseur de la peau $> 2$ mm <u>et</u> $< 4$ mm <u>et</u> absence de symptômes cliniques
<b>Positif</b>	différence entre ↑épaisseur de la peau (PPD-B) et ↑épaisseur de la peau (PPD-A) $> 4$ mm	↑épaisseur de la peau $\geq 4$ mm
	ou symptômes cliniques	ou symptômes cliniques

↑épaisseur de la peau = augmentation de l'épaisseur de la peau

## B. Test INF- $\gamma$

### 1. Dispositions générales

Conditions :

- a. Les animaux doivent être reposés et ne doivent pas être immunosupprimés.
- b. Les veaux de moins de 6 mois ne devraient pas être testés, car cela peut donner lieu à des résultats faux positifs.

Prélèvement de sang :

- a. Prélever au moins 5 ml de sang par animal dans un tube Li-Héparine.
- b. Agiter délicatement le tube à plusieurs reprises après le prélèvement de sang (mélange !).
- c. Le sang ne doit pas être réfrigéré, il doit être conservé et transporté entre 18 à 25°C.
- d. Idéalement le prélèvement de sang doit arriver au laboratoire en moins de 8h (max. 24h).

Les informations concernant les prélèvements sont disponibles sur le site du laboratoire de référence (en allemand) – Dokument Merkblatt\_Tuberkulose (<http://www.ivb.uzh.ch/de/services/DienstleistungenVetBakt.html>).

### 2. Description du principe de test

Le test IFN- $\gamma$  est un système de test *in vitro* pour le sang entier, utilisé pour le dépistage de la réponse immunitaire à médiation cellulaire à la tuberculine et sert à diagnostiquer une exposition due au complexe *Mycobacterium tuberculosis* [2 ; 3 ; 4].

Le test est effectué sur 2 jours et se base sur le principe suivant :

- a. Les lymphocytes T sont stimulés avec des tuberculines (PPD-B et PPD-A).
- b. Les lymphocytes T vivants des animaux infectés réagissent à la stimulation et produisent de l'IFN- $\gamma$  (réponse immunitaire spécifique).
- c. Les anticorps monoclonaux (analyse immunoenzymatique en sandwich [sandwich enzyme immunoassay = EIA]) permettent de mettre en évidence la production d'IFN- $\gamma$ .
- d. Pour contrôler la vitalité des lymphocytes, on les stimule en parallèle avec le mitogène de *Phytolacca*. Seuls les lymphocytes vivants réagissent à cette stimulation en libérant de l'IFN- $\gamma$ .

### 3. Interprétation du test INF- $\gamma$

Lors de l'évaluation du test IFN- $\gamma$  du fabricant IDvet, les ratios échantillon/positif (S/P) sont utilisés. D'autres fabricants utilisent les valeurs de cut-off. Les valeurs de cut-off et/ou des ratios échantillon/positif (S/P) doivent toujours être discutées avec le laboratoire de référence.

Évaluation IDvet	S/P %	Test INF- $\gamma$
Négatif	< 35%	Le test IFN- $\gamma$ n'a pas permis de mettre en évidence une production spécifique d'IFN- $\gamma$ après une stimulation <i>in vitro</i> avec la tuberculine bovine.
Positif	$\geq$ 35 %	Le test IFN- $\gamma$ a permis de mettre en évidence une production spécifique d'IFN- $\gamma$ après une stimulation <i>in vitro</i> avec la tuberculine bovine. Il y a une corrélation entre la production d'IFN- $\gamma$ et une exposition due au complexe <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .

## C. ELISA pour les camélidés

### 1. Dispositions générales

Le test intradermique chez les camélidés doit toujours être combiné avec un test sérologique (ELISA) effectué 15 à 30 jours après la tuberculination. La combinaison des deux méthodes augmente la sensibilité [5, 6].

Pour cela, 15 à 30 jours après le test intradermique, il faut prélever moins 5 ml de sang sur les animaux dans des tubes à sang sans additifs. Il faut s'assurer que le sang arrive au laboratoire le lendemain. Si cela n'est pas possible, le sang total doit être centrifugé au plus tard le lendemain à 500 à 770 g pendant 15 minutes afin de récupérer le surnageant (= sérum). Le sérum obtenu peut être conservé à  $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$  pendant quelques jours.

### 2. Interprétation des résultats

Les critères suivants sont utilisés pour l'évaluation [5]:

Tablette d'interprétation des résultats

Test intradermique	ELISA	Interprétation
Positif	Pas nécessaire	Positif
Douteux	Positif	Positif
Douteux	Négatif	Répétition test intradermique simultané après 42 jours
Négatif	Négatif	Négatif
Négatif	Positif	Positif
Négatif	Douteux	Répétition test intradermique simultané après 42 jours

### 3. Limitationen

Les camélidés sont sensibles aux infections par *M. microti*. *M. microti* fait également partie du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, mais n'entre pas dans la définition des épizooties selon l'art. 158 de l'OFE. Il n'est donc pas possible de distinguer *M. bovis*/*M. caprae*/*M. tuberculosis* de *M. microti* avec les méthodes de test indirectes (test intradermique et ELISA). Il en va de même pour la détection directe par PCR en temps réel, qui détecte également l'ensemble du complexe *Mycobacterium tuberculosis*.

## **Annexe 3 : Spécifications concernant les analyses de dépistage *post mortem* à effectuer sur les animaux suspects de tuberculose**

### **A. Prélèvement et transport des échantillons à analyser**

Les animaux avec un résultat positif ou douteux au test intradermique à la tuberculine peuvent ne présenter aucune altération macroscopique à l'abattage (No Gross Lesions Reactors, NGL; No Visible Lesions Reactors, NVL). Chez ces animaux sans lésions visibles (« animaux NVL »), il faut prélever au moins un ganglion lymphatique de la tête, du thorax et de l'abdomen [2].

S'il y a des tissus présentant des altérations macroscopiques suspectes de tuberculose, il suffit d'envoyer les parties altérées et avec une partie du tissu sain qui les entoure. Pour l'analyse bactériologique, la quantité d'échantillon à prélever devrait être d'au moins 5 à 10 g. Pour l'analyse de sécrétions purulentes ou de liquides prélevés par ponction, le volume à prélever doit être d'au moins 5 ml.

Les échantillons prélevés sur des animaux suspects de tuberculose sont classés dans la catégorie B, UN 3373. Des règles particulières doivent être respectées pour l'emballage et l'envoi de ces échantillons. Les échantillons doivent être placés dans des récipients primaires incassables et stériles à fermeture hermétique, puis dans un récipient secondaire incassable et étanche et contenant du matériau absorbant. Une demande d'analyse écrite doit être jointe à l'envoi. Cette demande d'analyse doit être protégée contre l'humidité et les souillures (la mettre dans une pochette ou un sachet en plastique). Le récipient secondaire et la demande d'analyse doivent être emballés dans un carton d'expédition sur lequel doivent figurer l'inscription « Substance biologique, catégorie B » et l'autocollant d'identification pour substances dangereuses portant le code « UN 3373 ». La demande d'analyse pour les cas de suspicion à l'abattoir peut être téléchargée sur le site internet du laboratoire de référence (<http://www.ivb.uzh.ch/de/services/DienstleistungenVetBakt.html>, « Demande IVB TB\_LyMON »). L'envoi doit se faire par courrier exprès. Le laboratoire doit être avisé par téléphone de l'envoi de ces échantillons suspects de tuberculose. Les échantillons qui ne peuvent pas être envoyés immédiatement doivent être conservés à +4°C.

### **B. Description des méthodes d'analyse autorisées**

#### **1. Culture de l'agent pathogène**

La culture reste la méthode bactériologique de référence pour la mise en évidence des mycobactéries. L'échantillon est homogénéisé puis décontaminé à l'aide d'un procédé reconnu qui détruit la flore bactérienne secondaire non spécifique [1]. Pour chaque test de dépistage effectué par la méthode de culture, l'échantillon est inoculé sur différents milieux de culture, dont un milieu de culture liquide. Les cultures sont incubées à  $+37 \pm 1^\circ\text{C}$  et sont régulièrement contrôlées. L'évaluation des cultures quant à la croissance de mycobactéries est en général terminée après sept à huit semaines. Dans certains cas, il est indiqué de prolonger le temps d'incubation à 16 semaines, par ex. lorsque les résultats de l'analyse par culture ne concordent pas avec ceux de l'examen au microscope ou de ceux de l'analyse de biologie moléculaire. L'identification des isolats issus des cultures doit être effectuée à l'aide d'une méthode de biologie moléculaire reconnue.

#### **2. Réaction en chaîne par polymérase en temps réel (PCR en temps réel)**

La réaction en chaîne par polymérase en temps réel (PCR en temps réel) permet une détection rapide de l'ADN des mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* présentes dans l'échantillon. Il faudrait utiliser uniquement des protocoles PCR en temps réel dont la validation est documentée au niveau scientifique.

Limitation : *M. microti* est également un membre du complexe *Mycobacterium tuberculosis* et est donc également détecté, bien que cette espèce ne soit pas une épizootie selon l'art. 158 de l'OFE.

## Annexe 4 : Références bibliographiques

1. WHO/TB/98.258 : Laboratory Services in Tuberculosis Control, Part III Culture
2. OMSA Chapitre 3.1.13 – Tuberculose chez les mammifères (infection par le complexe *Mycobacterium tuberculosis*). [Accès en ligne au manuel terrestre - OMSA - Organisation mondiale de la santé animale \(woah.org\)](#)
3. De la Rúa-Domenech et al. (2006) Res Vet Sci. 2006 Oct ; 81(2) :190-210. Epub 2006 Mar 2. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques.
4. Bezos et al. (2010) Vet Immunol Immunopathol. 2010 Feb 15 ;133 (2-4) : 269-75. doi: 10.1016/j.vetimm.2009.07.018. Epub 2009 Aug 7. Experimental infection with *Mycobacterium caprae* in goats and evaluation of immunological status in tuberculosis and paratuberculosis co-infected animals.
5. European Union Reference Laboratory for Bovine Tuberculosis, Visavet Madrid (SOP/001/EURL; SOP/002/EURL; SOP/003/EURL; SOP/004/EURL; SOP/005/EURL; SOP/006/EURL).
6. SANCO-7034-2013\_Diagnosis\_of\_tuberculosis\_in\_camelids