



Directives techniques

concernant

le prélèvement d'échantillons et leur analyse pour dépister la paratuberculose (*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, MAP)

du 12 juillet 2016, modifiées le 20 décembre 2021

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

vu les art. 237, al. 2, 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 l'agent infectieux de la paratuberculose (ParaTb), *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) chez les bovins, les ovins et les caprins, y compris les buffles, les camélidés du Nouveau-Monde et les ruminants sauvages détenus dans un enclos, qui présentent des signes cliniques ou des altérations anatomopathologiques faisant suspecter la présence de cette maladie (cas de suspicion au sens de l'art. 238, al. 1, OFE). Elles déterminent le matériel d'analyse requis et les méthodes d'analyse qui doivent être appliquées.

II. Prélèvement d'échantillons

2. Le vétérinaire cantonal désigne la personne responsable du prélèvement.
3. Le matériel soumis à examen servant à la détection directe de MAP comprend des échantillons de fèces, des parties d'intestin présentant des altérations (surtout jéjunum ou iléon, ainsi que la valvule iléo-caecale) ou des ganglions lymphatiques mésentériques.
4. Il convient de prélever des échantillons appropriés dans des récipients stériles étanches au liquide.

L'emballage de chaque échantillon doit être constitué de trois éléments :

- a. un récipient robuste contenant l'échantillon (étanche à l'air et à l'eau),
- b. un emballage secondaire (par ex. un sac en plastique contenant du matériau absorbant en quantité suffisante pour pouvoir absorber la totalité du liquide qui pourrait s'échapper) et
- c. un emballage extérieur (par ex. boîte de transport).

L'emballage doit être identifié au moyen d'un autocollant portant la mention « UN3373 »

et de la désignation officielle de transport « Matière biologique, catégorie B » figurant juste à côté de cet autocollant.

Les échantillons doivent être envoyés le jour même par courrier A ou par coursier. Il doit être garanti que les échantillons arrivent au laboratoire le jour suivant.

III. Laboratoires

5. Les laboratoires qui effectuent des analyses dans le cadre de la lutte officielle contre la ParaTb doivent être agréés à ce titre par l'OSAV (art. 312 OFE). La liste des laboratoires agréés est publiée sur Internet :

<https://www.blv.admin.ch/blv/fr/home/tiere/tierseuchen/tierseuchendiagnostik.html>

6. Le vétérinaire cantonal désigne le laboratoire agréé pour le diagnostic de la ParaTb où il faut envoyer les échantillons pour analyse.

7. **Laboratoire national de référence :**

Département de bactériologie vétérinaire
Faculté Vetsuisse, Université de Zurich
Winterthurerstrasse 270, CH-8057 Zurich
Tél. laboratoire de diagnostic : 044 635 86 10
E-mail : labor-ivb@vetbakt.uzh.ch

IV. Méthodes d'analyse

8. Quelle que soit la méthode d'analyse, un problème se pose : l'excrétion intermittente ou la répartition irrégulière de MAP dans l'échantillon (surtout les fèces), ce qui explique pourquoi un résultat négatif n'exclut pas avec certitude une infection par MAP.

9. **Amplification de l'ADN spécifique de MAP par PCR en temps réel**

Matériel soumis à examen : fèces, parties d'intestin présentant des altérations (surtout jéjunum ou iléon, ainsi que la valvule iléo-caecale), ganglions lymphatiques mésentériques, cultures de bactéries suspects d'être des MAP.

Seuls les tests de détection par PCR en temps réel autorisés par l'OSAV peuvent être utilisés pour la mise en évidence directe de MAP dans les échantillons. Les kits de tests autorisés par l'OSAV sont publiés sur Internet :

<https://www.blv.admin.ch/blv/fr/home/tiere/tierseuchen/tierseuchendiagnostik.html>. Le mode d'emploi du fabricant doit être respecté. L'extraction préalable correcte de l'ADN pour les mycobactéries, qui doit comprendre une désintégration mécanique, revêt une importance particulière.

10. **Détection de l'agent infectieux au microscope**

Matériel soumis à examen : fèces, parties d'intestin présentant des altérations (surtout jéjunum ou iléon, ainsi que la valvule iléo-caecale), ganglions lymphatiques mésentériques.

Méthodes d'analyse : coloration chimique des frottis avec la coloration dite de Ziehl-Neelsen. Examen au microscope optique à un grossissement de 1000 fois.

Mise en évidence de bacilles acido-résistants : des bactéries en bâtonnet acido-résistantes de différentes tailles sont décelables même dans le contenu intestinal des animaux en bonne santé. Leur mise en évidence microscopique dans le frottis du matériel précité par coloration chimique n'est pas une preuve irréfutable de MAP. La mise en évidence microscopique de bacilles courts acido-résistants (env. 1,5 x 0,5 µm) en amas denses caractéristiques de ≥ 3 bactéries ne représente un indice étiologique important que si elle est associée à des symptômes cliniques typiques de la paratuberculose et/ou

à des altérations anatomopathologiques caractéristiques de la muqueuse intestinale. Les résultats microscopiques positifs doivent être confirmés par une PCR spécifique à MAP.

11. **Mise en évidence par culture de bactéries**

Matériel soumis à examen : fèces, parties d'intestin présentant des altérations (surtout jéjunum ou iléon, ainsi que la valvule iléo-caecale), ganglions lymphatiques mésentériques.

Le matériel soumis à examen doit être rigoureusement homogénéisé et décontaminé. L'inoculum est ensemencé sur au moins deux milieux nutritifs spéciaux additionnés de mycobactine, incubé **12 à 16 semaines** et régulièrement examiné durant ce temps pour constater le développement de colonies MAP typiques. Les colonies suspectes sont identifiées comme MAP par PCR en temps réel. Examen final après récupération des cultures par rinçage et analyse par PCR en temps réel de l'ADN extrait du matériel rincé.

12. Si les résultats des **examens pathologiques** (autopsie, histologie, coloration de Ziehl-Neelsen) indiquent la présence de la paratuberculose, il y a lieu de confirmer la mise en évidence de l'agent infectieux par PCR en temps réel.
13. La **sérologie** ne se prête pas au diagnostic portant sur un animal isolé et son emploi n'entre donc pas dans le champ d'application des présentes directives techniques.

V. Examens en cas de suspicion et appréciation des résultats

14. Les échantillons appropriés d'animaux isolés présentant des signes cliniques d'une infection ou des altérations anatomopathologiques sont examinés par PCR en temps réel (point 9).
15. Si le résultat du test PCR en temps réel est positif à MAP, l'animal est considéré comme positif à MAP (cas d'épizootie).
16. Si le résultat du test PCR en temps réel est négatif à MAP, l'examen par PCR en temps réel est répété sur un nouvel échantillon. Si le résultat du second test est positif à MAP, l'animal est considéré comme positif à MAP (cas d'épizootie). Si le résultat du second test est négatif à MAP, l'animal est considéré comme négatif à MAP (pas de cas d'épizootie).

VI. Obligation d'annoncer incombant aux laboratoires

17. Le laboratoire d'analyse annonce sans délai au vétérinaire cantonal compétent (conformément à l'art. 237a, al. 2, OFE) un résultat positif obtenu selon une méthode d'analyse mentionnée au chap. IV (mise en évidence de l'agent infectieux).

VII. Entrée en vigueur

Les présentes directives entrent en vigueur le 15 août 2016.

OFFICE FÉDÉRAL DE LA SÉCURITÉ ALIMENTAIRE
ET DES AFFAIRES VÉTÉRINAIRES