Ce document constitue un outil de documentation et n'engage pas la responsabilité des institutions

►**B**

DÉCISION DE LA COMMISSION

du 1er février 2002

portant approbation d'un manuel diagnostique établissant des procédures de diagnostic, des méthodes d'échantillonnage et des critères pour l'évaluation des tests de laboratoire de confirmation de la peste porcine classique

[notifiée sous le numéro C(2002) 381]

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

(2002/106/CE)

(JO L 39 du 9.2.2002, p. 71)

Modifiée par:

		Journal officiel		
		nº	page	date
►**M1**	Décision 2003/859/CE de la Commission du 5 décembre 2003	L 324	55	11.12.2003

▼B

DÉCISION DE LA COMMISSION

du 1er février 2002

portant approbation d'un manuel diagnostique établissant des procédures de diagnostic, des méthodes d'échantillonnage et des critères pour l'évaluation des tests de laboratoire de confirmation de la peste porcine classique

[notifiée sous le numéro C(2002) 381]

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

(2002/106/CE)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté européenne,

vu la directive 2001/89/CE du Conseil du 23 octobre 2001 concernant des mesures communautaires de lutte contre la peste porcine classique ([1]), et notamment ses articles 17, paragraphe 3, et 29, paragraphe 1,

considérant ce qui suit:

(1) Il est nécessaire d'établir, au niveau communautaire, des procédures de diagnostic, des méthodes d'échantillonnage et des critères pour l'évaluation des résultats des tests de laboratoire destinés à confirmer la peste porcine classique.

(2) L'annexe IV de la directive 2001/89/CE définit les fonctions et les tâches du laboratoire communautaire de référence pour la peste porcine classique dans le but de coordonner, en consultation avec la Commission, les méthodes employées dans les États membres pour diagnostiquer la maladie. Ces fonctions et ces tâches comprennent l'organisation de tests comparatifs périodiques et la fourniture de réactifs types au niveau communautaire.

(3) Le virus de la peste porcine classique n'est pas réputé constituer un danger pour la santé humaine.

(4) Des tests de laboratoire ont été récemment mis au point pour assurer un diagnostic rapide de la peste porcine classique.

(5) L'expérience acquise ces dernières années dans la lutte contre la peste porcine classique a abouti à l'identification des procédures et des critères d'échantillonnage les plus appropriés pour l'évaluation des résultats des tests de laboratoire permettant de diagnostiquer correctement la maladie dans différentes situations.

(6) Les mesures prévues par la présente décision sont conformes à l'avis du comité vétérinaire permanent,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DÉCISION:

Article premier

1. Les États membres veillent à ce que la confirmation de la peste porcine classique soit fondée sur:

a) la détection de signes cliniques et de lésions post mortem de la maladie;

b) la détection du virus, de l'antigène ou du génome dans des échantillons de tissus, d'organes, de sang ou de matières fécales de porcs;

c) la démonstration d'une réponse d'anticorps spécifiques dans les échantillons de sang,

([1]) JO L 316 du 1.12.2001, p. 5.

▼B

conformément aux procédures, méthodes d'échantillonnage et critères d'évaluation des résultats des tests de laboratoire décrits dans le manuel joint en annexe à la présente décision.

2. Toutefois, les laboratoires de diagnostic nationaux visés à l'annexe III, point 1, de la directive 2001/89/CE peuvent apporter des modifications aux tests de laboratoire mentionnés dans le manuel joint en annexe à la présente décision ou utiliser des tests différents, pourvu que la sensibilité et la spécificité démontrées soient identiques.

La sensibilité et la spécificité de ces tests modifiés ou différents doivent être évaluées dans le cadre des essais comparatifs périodiques organisés par le laboratoire communautaire de référence pour la peste porcine classique.

Article 2

Les annexes I et IV de la directive 80/217/CEE du Conseil du 22 janvier 1980 établissant des mesures communautaires de lutte contre la peste porcine classique ([1]), modifiée en dernier lieu par l'acte d'adhésion de l'Autriche, de la Finlande et de la Suède, sont supprimées.

Article 3

La présente décision est applicable à partir du 1er novembre 2002.

Article 4

Les États membres sont destinataires de la présente décision.

([1]) JO L 47 du 21.2.1980, p. 11.

▼B

ANNEXE

MANUEL DU DIAGNOSTIC DE LA PESTE PORCINE CLASSIQUE

CHAPITRE I

Introduction, objectifs et définitions

1. Pour garantir l'application de procédures uniformes de diagnostic de la peste porcine classique, le présent manuel:

   a) énonce les orientations et les exigences minimales relatives aux procédures de diagnostic, aux méthodes d'échantillonnage et aux critères à appliquer à l'évaluation des résultats des examens cliniques ou post mortem ainsi que des tests de laboratoire en vue d'établir un diagnostic correct de la peste porcine classique ([1]);

   b) établit les exigences minimales en matière de sécurité biologique et de normes de qualité à respecter par les laboratoires diagnostiquant la peste porcine classique et lors du transport des échantillons;

   c) établit les tests de laboratoire à effectuer pour diagnostiquer la peste porcine classique et les techniques de laboratoire à appliquer au typage génétique des isolats de virus de la peste porcine classique.

2. Le présent manuel est principalement établi à l'intention des autorités compétentes pour les mesures de lutte contre la peste porcine classique. De ce fait, l'accent est mis sur les principes et l'application des tests de laboratoire et l'évaluation de leurs résultats plutôt que sur le détail des techniques de laboratoire.

3. Aux fins du présent manuel, outre les définitions visées à l'article 2 de la directive 2001/89/CE, on entend par:

   a) «exploitation suspecte» toute exploitation où sont détenus un ou plusieurs porcs suspects d'être infectés par le virus de la peste porcine classique ou une exploitation contact au sens de l'article 2, point v), de la directive 2001/89/CE;

   b) «cas isolé» tout porc réagissant positivement aux tests sérologiques de dépistage de la peste porcine classique sans avoir été précédemment en contact avec le virus de la peste porcine classique et qui ne semble pas avoir contaminé les porcs environnants ([2]);

   c) «sous-unité épidémiologique» ou «sous-unité» le bâtiment, le lieu ou le terrain limitrophe où des groupes de porcs d'une exploitation sont détenus de manière à entrer fréquemment en contact direct ou indirect les uns avec les autres tout en étant séparés des autres porcs détenus sur la même exploitation;

   d) «porcs environnants» les porcs d'une exploitation détenus, au cours des 21 derniers jours, en contact direct avec un ou plusieurs porcs suspects d'être infectés par le virus de la peste porcine classique.

CHAPITRE II

Description de la peste porcine classique mettant l'accent sur un diagnostic différentiel

A. **Introduction**

1. La peste porcine classique est provoquée par un virus ARN à enveloppe appartenant au genre *Pestivirus* de la famille des *Flaviviridae*. Ce virus est apparenté aux *Pestivirus* des ruminants qui cause la diarrhée virale des bovins (DVB) et la pestivirose ovine (PVO). Cette corrélation a d'importantes répercussions d'ordre diagnostique, car il se produit des réactions croisées pouvant déboucher sur des résultats faussement positifs des tests de laboratoire.

([1]) En déterminant le nombre d'échantillons à prélever pour les tests de laboratoire, il faut également tenir compte de la sensibilité des tests qui seront effectués. Le nombre d'animaux sur lesquels des échantillons sont prélevés sera plus élevé que celui qu'indique le présent manuel si la sensibilité du test à effectuer est faible.

([2]) Les réacteurs isolés peuvent présenter des titres d'anticorps de neutralisation du virus allant de la valeur limite (qui est le cas le plus fréquent) à des valeurs de forte positivité. Après un nouveau prélèvement, les réacteurs isolés peuvent présenter un titre décroissant ou constant. Généralement, les porcs d'un troupeau qui présentent ces réactions faussement positives sont très peu nombreux.

▼B

2. Le virus de la peste porcine classique est relativement stable dans les excrétions humides des porcs infectés, dans les carcasses de porc, dans les viandes fraîches de porc et dans certains produits à base de viande de porc. Il est facilement inactivé par les détergents, les solvants gras, les protéases et les désinfectants usuels.

3. La principale voie naturelle d'infection est de type oro-nasal, par contact direct ou indirect avec des porcs infectés ou par l'administration aux animaux d'aliments contaminés par le virus. Dans les zones à haute densité d'élevages de porcs, le virus se propage facilement d'une exploitation à l'exploitation voisine. Le virus se transmet également par du sperme provenant de verrats infectés.

4. La période d'incubation chez les individus est comprise entre une semaine et dix jours, mais, dans les conditions réelles, il se peut que les symptômes cliniques n'apparaissent dans une exploitation que deux à quatre semaines après l'introduction du virus, voire davantage, si seuls des porcs d'élevage adultes sont concernés ou si la souche virale est atténuée.

5. Les signes cliniques de la peste porcine classique sont extrêmement variables et peuvent être confondus avec ceux d'un grand nombre d'autres maladies. La gravité des symptômes dépend essentiellement de l'âge de l'animal et de la virulence du virus. Généralement, les jeunes animaux sont plus gravement affectés que les animaux plus âgés. Chez les porcs plus âgés, l'évolution de l'infection est souvent atténuée, voire subclinique.

6. On peut distinguer des formes aiguës, chroniques et prénatales de la peste porcine classique.

B. **Forme aiguë**

1. Les porcelets sevrés et les porcs à l'engrais présentent le plus souvent la forme aiguë de la maladie. Les premiers signes sont une anorexie, un état léthargique, de la fièvre, une conjonctivite, un gonflement des ganglions lymphatiques, des symptômes respiratoires et une constipation suivie de diarrhée.

   Les hémorragies typiques de la peau s'observent généralement sur l'oreille, la queue, l'abdomen et dans la partie intérieure des membres pendant les deuxième et troisième semaines suivant l'infection et jusqu'au décès. Des signes neurologiques sont fréquents, tels une allure titubante sur les membres postérieurs, des mouvements non coordonnés et des convulsions.

   La fièvre reste une constante. Elle dépasse généralement 40 °C, alors que chez les porcs adultes, la température ne doit jamais être supérieure à 39,5 °C.

2. Le virus de la peste porcine classique provoque de graves leucopénies et une immunosuppression, ce qui occasionne souvent des infections secondaires de type entérique ou respiratoire. Les signes de ces infections secondaires peuvent masquer ou empiéter sur les symptômes les plus typiques de la peste porcine classique et ainsi induire en erreur l'éleveur ou le vétérinaire.

   La mort survient généralement dans le délai d'un mois. Il y a des guérisons avec production d'anticorps, le plus souvent chez des animaux d'élevage adultes qui ne présentent pas de signes cliniques graves. Les anticorps du virus de la peste porcine classique sont décelables à partir de la deuxième-troisième semaine à compter de la contamination.

3. Les modifications pathologiques à constater à l'examen post mortem concernent le plus souvent les ganglions lymphatiques et les reins. Les ganglions sont gonflés, œdémateux et hémorragiques. Les hémorragies rénales vont de pétéchies à peine visibles à de véritables hémorragies ecchymotiques. Des hémorragies semblables peuvent également être observées sur la vessie, le larynx, l'épiglotte et le cœur; elles gagnent parfois les sérosités de l'abdomen et du thorax. Une encéphalite non purulente est souvent observée. Des lésions dues aux infections secondaires peuvent parfois tromper le vétérinaire. L'infarctus de la rate est considéré comme un signe pathognomonique, mais n'est pas fréquent.

4. D'une manière générale, la forme aiguë de la peste porcine africaine présente un tableau clinique et pathologique très proche de celui de la peste porcine classique. Lorsqu'elles se manifestent, les hémorragies de la peau et des oreilles sont faciles à déceler et laissent présager une peste porcine africaine ou classique aiguë. Peu d'autres maladies causent des lésions similaires.

▼B

La présence de peste porcine classique aiguë est également à envisager en cas de suspicion d'érysipèle, de syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP), d'empoisonnement à la coumarine, de purpura hémorragique, de syndrome cachectique multisystémique après sevrage, de syndrome dermique et néphropathique, d'infections par *Salmonella* ou *Pasteurella* ou de tout autre syndrome entérique ou respiratoire accompagné de fièvre ne réagissant pas au traitement aux antibiotiques.

5. Le virus de la peste porcine classique se transmet par la salive, l'urine et les matières fécales qui le contiennent depuis l'apparition des signes cliniques jusqu'au décès. Le virus peut également être transmis par le sperme.

C. **Forme chronique**

1. L'infection évolue de manière chronique lorsque les porcs ne parviennent pas à développer une réponse immunitaire efficace face au virus de la peste porcine classique. Les premiers signes d'une infection chronique sont similaires à ceux de l'infection aiguë. Par la suite, des signes essentiellement non spécifiques se manifestent, tels qu'une fièvre intermittente, une entérite chronique et une cachexie. Les hémorragies dermiques typiques font défaut.

   Ces porcs peuvent présenter des signes cliniques de la maladie pendant deux à trois mois avant de mourir. Le virus de la peste porcine classique est constamment propagé depuis la première apparition des signes cliniques jusqu'à la mort. Des anticorps peuvent être temporairement décelés dans des échantillons de sérum.

2. Les modifications pathologiques sont moins typiques; en particulier, les hémorragies dans les organes et les sérosités peuvent être absentes. Chez des animaux affectés d'une diarrhée chronique, des lésions nécrotiques sont fréquentes sur l'iléon, les valvules iléo-caecales et le rectum.

3. Les signes cliniques de la peste porcine classique chronique n'étant pas spécifiques, beaucoup d'autres maladies entrent en ligne de compte pour l'établissement d'un diagnostic différentiel. Tous les animaux ne présentent pas nécessairement une augmentation de la température corporelle, mais dans une exploitation contaminée, la fièvre sera constatée sur une partie des porcs au moins.

D. **Forme prénatale et apparition tardive de la maladie**

1. Le virus de la peste porcine classique parvient à traverser le placenta des truies gravides pour infecter le fœtus, mais, chez la truie, la maladie reste souvent à l'état subclinique.

   L'issue de l'infection transplacentaire des fœtus dépend largement du stade de la gestation et de la virulence du virus. Une infection au début de la gestation peut entraîner des avortements ou une mortinatalité, des momifications ou des malformations. Il en découle une réduction de l'indice de fertilité de l'exploitation.

   La contamination des truies avant le 90e jour de gestation peut déboucher sur la naissance de porcelets en état virémique persistant, pouvant être cliniquement normaux à la naissance et survivre pendant plusieurs mois. Après la naissance, leur croissance peut être insuffisante, leur état cachectique; ils peuvent être affectés de tremblements congénitaux occasionnels. Cette évolution de l'infection est qualifiée d'apparition tardive de la peste porcine classique. Ces porcelets peuvent jouer un rôle capital dans la propagation de la maladie et dans le maintien de la persistance du virus dans une population, car ils ne cessent de répandre le virus avant de mourir.

2. La peste porcine classique peut se révéler particulièrement difficile à déceler dans les exploitations d'élevage porcin, l'évolution de l'infection pouvant être très atténuée et se confondre avec beaucoup d'autres états pathologiques. Une réduction de la fertilité et des cas d'avortement peut être causée par le virus de la peste porcine classique aussi bien que par une infection à parvovirus, le SDRP, la leptospirose ou la maladie d'Aujeszky. Pathologiquement, les produits d'avortements résultant de la peste porcine classique ne peuvent pas être distingués des produits d'avortements dus à l'action d'autres agents pathogènes.

   En cas de suspicion d'une maladie infectieuse du système reproducteur, il faut immédiatement procéder à un dépistage de la peste porcine classique dans tous les cas où l'exploitation en cause est jugée à risque (par exemple, en raison de la localisation de l'exploitation dans une zone où la peste porcine classique se déclare chez les porcs sauvages) et, en tout état de cause, dès que des maladies infectieuses plus courantes du système reproducteur ont été écartées.

▼B

CHAPITRE III

Orientations relatives aux principaux critères à retenir pour considérer une exploitation comme suspecte d'être atteinte de peste porcine classique

Une exploitation sera considérée comme suspecte sur la base des constatations, des critères et des motifs suivants:

a) indices cliniques et pathologiques chez les porcs. Les principaux indices cliniques et pathologiques à retenir sont les suivants:

— fièvre accompagnée d'une morbidité et d'une mortalité accrues,

— fièvre accompagnée d'un syndrome hémorragique,

— fièvre accompagnée de symptômes neurologiques,

— fièvre d'origine inconnue, un traitement aux antibiotiques n'ayant pas amené d'amélioration de l'état de santé,

— avortements et problèmes de fertilité accrus au cours des trois derniers mois,

— tremblement congénital des porcelets,

— animaux affectés de maladies chroniques,

— retard de croissance chez les jeunes animaux (chétifs),

— pétéchies ou hémorragie ecchymotique, surtout dans les ganglions lymphatiques, les reins, la rate, la vessie et le larynx,

— infarctus ou hématomes, surtout dans la rate,

— ulcérations du colon dans les cas chroniques, surtout à proximité de la jonction iléo-caecale;

b) indices épidémiologiques. Les principaux indices épidémiologiques à retenir sont les suivants:

— porcs ayant eu des contacts directs ou indirects avec une exploitation d'élevage porcin où la contamination par la peste porcine classique a été démontrée,

— exploitation ayant livré des porcelets qui se sont ensuite révélés contaminés par la peste porcine classique,

— truies ayant fait l'objet d'une insémination artificielle par du sperme provenant d'une source suspecte,

— porcs ayant eu des contacts indirects ou directs avec des porcs sauvages d'une population où la peste porcine classique se déclare,

— porcs détenus en plein air dans une zone où les porcs sauvages sont contaminés par la peste porcine classique,

— porcs ayant été nourris d'eaux grasses dont on peut présumer qu'elles n'ont pas été traitées de manière à inactiver le virus de la peste porcine classique,

— porcs ayant pu être exposés au risque, en raison, par exemple, de l'entrée de certaines personnes dans l'exploitation, du transport, etc.;

c) indices en relation avec les résultats des tests sérologiques. Les principaux indices de laboratoire sont les suivants:

— réaction sérologique imputable à une infection par le virus de la peste porcine classique passée inaperçue ou imputable à la vaccination ([1]),

— réaction croisée entre les anticorps de la peste porcine classique et d'autres *Pestivirus* ([2]),

— détection de réacteurs isolés ([3]).

([1]) Si les porcs ont été vaccinés contre la peste porcine classique à l'aide d'un vaccin traditionnel, ils peuvent se révéler séropositifs à la suite de la seule vaccination ou en raison d'une infection latente chez les animaux vaccinés.

([2]) Dans certaines circonstances, une proportion maximale de 10 % des porcs d'un troupeau peuvent présenter des anticorps des *Pestivirus* des ruminants causant la diarrhée virale des bovins ou la pestivirose ovine. Tel peut être le cas lorsque les porcs entrent en contact direct avec des bovins ou des ovins infectés par les virus provoquant ces deux maladies ou lorsque les porcs entrent en contact avec des matériels contaminés par les *Pestivirus* des ruminants.

([3]) Dans tous les tests sérologiques actuels de dépistage de la peste porcine classique, une petite proportion de sérums font apparaître des résultats faussement positifs, dus soit au manque de spécificité de la méthode soit au sérum provenant des réacteurs isolés.

▼B

CHAPITRE IV

Procédures de contrôle et d'échantillonnage

A. **Orientations et procédures relatives à l'examen clinique et à l'échantillonnage des porcs d'une exploitation suspecte**

1. Les États membres veillent à ce qu'il soit procédé à un examen clinique, à un échantillonnage et à des investigations de laboratoire appropriés dans les exploitations suspectes pour confirmer ou écarter l'apparition de la peste porcine classique, conformément aux orientations et aux procédures définies aux points 2 à 7 visés ci-dessous.

   Indépendamment de l'adoption des mesures visées à l'article 4, paragraphe 2, de la directive 2001/89/CE dans l'exploitation en cause, ces orientations et ces procédures sont également applicables à toutes les pathologies pour lesquelles le diagnostic différentiel envisage l'éventualité de la peste porcine classique. Cela concernera également des cas où les signes cliniques et le tableau épidémiologique de la maladie observés sur les porcs laissent présager une très faible probabilité d'apparition de la peste porcine classique.

   Dans tous les autres cas de suspicion de contamination par le virus de la peste porcine classique chez un ou plusieurs porcs, les mesures visées à l'article 4, paragraphe 2, de la directive 2001/89/CE seront adoptées dans l'exploitation suspecte en cause.

   En cas de suspicion de peste porcine classique sur des porcs à l'abattoir ou dans des moyens de transport, les orientations et les procédures définies aux points 2 à 7 visés ci-dessous s'appliquent mutatis mutandis.

2. Lorsqu'un vétérinaire officiel visite une exploitation suspecte en vue de confirmer ou écarter la présence de la peste porcine classique, il y a lieu de:

   — vérifier les registres de production et de l'état sanitaire de l'élevage, pour autant qu'ils soient disponibles,

   — procéder à une inspection dans chaque sous-unité de l'exploitation pour sélectionner les porcs à soumettre à un examen clinique.

   L'examen clinique comporte la mesure de la température corporelle et concerne en premier lieu les porcs ou les groupes de porcs suivants:

   — porcs malades ou anorexiques,

   — porcs qui se sont récemment rétablis après une maladie,

   — porcs récemment introduits et provenant de foyers confirmés ou d'autres sources suspectes,

   — porcs détenus dans des sous-unités récemment visitées par des visiteurs extérieurs qui sont récemment entrés en contact étroit avec des porcs suspects ou infectés par la peste porcine classique ou qui ont été reconnus avoir eu des contacts particulièrement risqués avec une source potentielle de virus de la peste porcine classique,

   — porcs déjà soumis à échantillonnage et aux tests sérologiques de dépistage de la peste porcine classique, dans le cas où les résultats des tests ne permettent pas d'écarter la présence de la peste porcine classique, ainsi que les porcs environnants.

   Si l'inspection de l'exploitation suspecte n'a révélé la présence d'aucun des porcs ou groupes de porcs énumérés ci-dessus, l'autorité compétente fait en sorte, sans préjudice des autres mesures pouvant être appliquées à l'exploitation en cause conformément à la directive 2001/89/CE et compte tenu de la situation épidémiologique, que:

   — d'autres investigations soient effectuées dans l'exploitation en cause conformément au point 3, ou que

   — des échantillons de sang soient prélevés sur les porcs de l'exploitation aux fins des tests de laboratoire. Dans ce cas, les procédures d'échantillonnage définies au point 5 et au point 2 de la partie F sont applicables à titre d'orientation, ou que

   — les mesures définies à l'article 4, paragraphe 2, de la directive 2001/89/CE soient adoptées ou maintenues, en attendant les investigations supplémentaires à mener dans l'exploitation en cause, ou que

   — la suspicion de peste porcine classique soit écartée.

3. Lorsqu'il est fait référence au présent point, l'examen clinique à mener dans l'exploitation en cause doit porter sur des porcs choisis au hasard dans les sous-unités où le risque d'introduction du virus de la peste porcine classique a été constaté ou dans les sous-unités où la présence du virus est soupçonnée.

▼B

Le nombre minimal de porcs à examiner doit permettre de détecter, dans les sous-unités, une prévalence de 10 % avec un niveau de fiabilité de 95 %, en cas de présence de la maladie.

Toutefois, dans le cas des:

— truies reproductrices, le nombre minimal de truies à examiner doit permettre de détecter une prévalence de 5 % de cas de fièvre, le cas échéant, avec un niveau de fiabilité de 95 %,

— des centres de collecte de sperme, tous les verrats doivent être examinés.

4. Si la présence de porcs morts ou moribonds est constatée dans une exploitation suspecte, il faut procéder à des examens post mortem, de préférence sur au moins cinq de ces porcs et, en particulier, sur les porcs qui:

— avant de mourir, ont manifesté ou manifestent des signes évidents de maladie,

— présentent une température très élevée,

— sont morts récemment.

Si ces examens n'ont pas révélé de lésion laissant présager l'apparition de la peste porcine classique, mais que, en raison de la situation épidémiologique, des investigations supplémentaires sont jugées nécessaires, il y a lieu de procéder:

— dans la sous-unité où les porcs morts ou moribonds étaient détenus, à un examen clinique conformément aux prescriptions du point 3 et au prélèvement d'échantillons de sang conformément aux prescriptions du point 5, et

— à des examens post mortem éventuels sur trois ou quatre porcs environnants.

Indépendamment de la présence ou de l'absence de lésions laissant présager l'apparition de la peste porcine classique, des échantillons d'organes ou de tissus de porcs ayant fait l'objet de l'examen post mortem doivent être prélevés pour être soumis aux tests virologiques conformément au chapitre V, partie B, point 1. Ces échantillons sont à prélever de préférence sur des porcs morts depuis peu.

Lors des examens post mortem, l'autorité compétente doit faire en sorte que:

— les précautions et les mesures d'hygiène nécessaires soient prises pour éviter toute propagation de la maladie, et

— les porcs moribonds soient mis à mort avec humanité conformément aux dispositions de la directive 93/119/CEE du Conseil.

5. Si d'autres signes cliniques ou lésions pouvant laisser présager l'apparition de la peste porcine classique sont constatés dans une exploitation suspecte, mais que l'autorité compétente estime que ces indices ne suffisent pas à confirmer l'existence d'un foyer de peste porcine classique et que des tests de laboratoire se révèlent donc nécessaires, des échantillons de sang destinés à ces tests doivent être prélevés sur les porcs suspects et sur d'autres porcs dans chacune des sous-unités où les porcs suspects sont détenus, conformément aux procédures définies ci-dessous.

Le nombre minimal d'échantillons à prélever aux fins des tests sérologiques doit permettre de détecter, dans les sous-unités en cause, une prévalence de 10 % avec un niveau de fiabilité de 95 %.

Toutefois, dans le cas des:

— truies reproductrices, le nombre minimal de truies à soumettre à échantillonnage doit permettre de détecter une séroprévalence de 5 % avec un niveau de fiabilité de 95 % ([1]),

— centres de collecte de sperme, tous les verrats doivent être soumis à un prélèvement de sang.

Le nombre d'échantillons à prélever aux fins des tests virologiques sera conforme aux instructions de l'autorité compétente, qui tiendront compte de la gamme de tests pouvant être effectués, de la sensibilité des tests de laboratoire utilisés et de la situation épidémiologique.

([1]) Dans certains cas, par exemple, lorsque la présence de la peste porcine classique est soupçonnée dans une exploitation comptant un nombre limité de jeunes porcs, la proportion de truies infectées peut être très faible. Dans ce cas, il faudra prélever des échantillons sur un plus grand nombre de truies.

▼B

6. Si la suspicion de la présence de la peste porcine classique dans l'exploitation en cause est en relation avec les résultats de tests sérologiques précédents, outre le prélèvement d'échantillons de sang sur les porcs visés au point 2, deuxième alinéa, cinquième tiret, les procédures suivantes sont applicables:

   a) si les porcs séropositifs sont des truies gravides, certaines et, de préférence, trois au moins, seront euthanasiées et soumises à un examen post mortem. Avant la mise à mort, un échantillon de sang sera prélevé en vue de tests sérologiques supplémentaires. Les fœtus seront soumis à un examen de dépistage du virus de la peste porcine classique, de l'antigène ou du génome du virus, conformément au chapitre VI, en vue de déceler une infection intra-utérine;

   b) si les porcs séropositifs sont des truies allaitantes, des échantillons de sang seront prélevés sur tous les porcelets et soumis à un examen de dépistage du virus de la peste porcine classique, de l'antigène ou du génome du virus selon les indications du chapitre VI. Des échantillons sanguins seront également prélevés sur les truies en vue de tests sérologiques supplémentaires.

7. Si, après les examens menés dans une exploitation suspecte, il n'est pas décelé de signes cliniques ni de lésions laissant présager l'apparition de la peste porcine classique, mais que des tests de laboratoire supplémentaires sont jugés nécessaires par l'autorité compétente pour écarter toute probabilité de peste porcine classique, les procédures d'échantillonnage définies au point 5 seront appliquées à titre d'orientation.

B. **Procédures d'échantillonnage dans l'exploitation en cas de mise à mort des porcs à la suite de la confirmation de la maladie**

1. Pour pouvoir établir les circonstances de l'introduction du virus de la peste porcine classique dans une exploitation infectée et le laps de temps écoulé depuis son introduction, lors de la mise à mort des porcs d'une exploitation après la confirmation du foyer conformément à l'article 5, paragraphe 1, point a), de la directive 2001/89/CE, des échantillons sanguins destinés aux tests sérologiques seront prélevés au hasard sur les porcs au moment de la mise à mort.

2. Le nombre minimal de porcs à soumettre à échantillonnage doit permettre de détecter une séroprévalence de 10 % avec un niveau de fiabilité de 95 % pour les porcs de chaque sous-unité de l'exploitation ([1]).

   Des échantillons pourront également être prélevés aux fins des tests virologiques en conformité avec les instructions de l'autorité compétente, qui tiendront compte de la gamme de tests pouvant être effectués, de la sensibilité des tests de laboratoire utilisés et de la situation épidémiologique.

3. Toutefois, en cas d'apparition de foyers secondaires, l'autorité compétente peut décider de déroger aux points 1 et 2 et d'établir des procédures d'échantillonnage ad hoc, en tenant compte de l'information épidémiologique déjà disponible sur la source et les voies d'introduction du virus dans l'exploitation et la propagation potentielle de la maladie à partir de l'exploitation.

C. **Procédures d'échantillonnage lors de la mise à mort des porcs à titre de mesure préventive dans une exploitation suspecte**

1. Pour confirmer ou écarter la possibilité de la présence de la peste porcine classique et pour obtenir des informations épidémiologiques supplémentaires, lors de la mise à mort des porcs d'une exploitation suspecte à titre de mesure préventive conformément aux dispositions des articles 4, paragraphe 3, point a) ou 7, paragraphe 2, de la directive 2001/89/CE, des échantillons sanguins destinés aux tests sérologiques ainsi que des échantillons de sang ou d'amygdale destinés aux tests virologiques devront être prélevés en conformité avec la procédure définie au point 2.

2. L'échantillonnage concernera en priorité:

   — les porcs présentant des signes ou des lésions post mortem laissant présager l'apparition de la peste porcine classique ainsi que les porcs environnants,

([1]) Toutefois, en cas de recours à la dérogation visée à l'article 6, paragraphe 1, de la directive 2001/89/CE, l'échantillonnage doit porter sur les sous-unités de l'exploitation dont les porcs ont été mis à mort, sans préjudice des autres examens et échantillonnages à pratiquer sur les autres porcs de l'exploitation, qui seront effectués conformément aux instructions de l'autorité compétente.

▼B

— d'autres porcs qui pourraient avoir eu des contacts à risque avec des porcs infectés ou suspects ou des porcs suspects d'avoir été contaminés par le virus de la peste porcine classique.

L'échantillonnage des porcs doit être effectué conformément aux instructions de l'autorité compétente, qui tiendront compte de la situation épidémiologique. Dans ce cas, les procédures d'échantillonnage définies aux deuxième, troisième et quatrième alinéas suivants seront appliquées à titre d'orientation.

De plus, les porcs provenant de chacune des sous-unités de l'exploitation doivent faire l'objet d'un échantillonnage aléatoire ([1]). Dans ce cas, le nombre minimal d'échantillons à prélever aux fins des tests sérologiques doit permettre de détecter une séroprévalence de 10 % avec un niveau de fiabilité de 95 % dans la sous-unité en cause.

Toutefois, dans le cas des:

— truies reproductrices, le nombre minimal de truies à soumettre à échantillonnage doit permettre de détecter une séroprévalence de 5 % avec un niveau de fiabilité de 95 % ([2]),

— centres de collecte de sperme, des échantillons de sang doivent être prélevés sur tous les verrats.

Le type d'échantillons à prélever aux fins des tests virologiques et le test à utiliser seront conformes aux instructions de l'autorité compétente, qui tiendront compte de la gamme de tests pouvant être effectués, de la sensibilité de ces tests et de la situation épidémiologique.

D. **Procédures de contrôle et d'échantillonnage à mettre en œuvre avant la délivrance de l'autorisation de déplacer les porcs à partir des exploitations situées dans les zones de protection ou de surveillance et en cas d'abattage ou de mise à mort de ces porcs**

1. Sans préjudice des dispositions de l'article 11, paragraphe 1, point f), deuxième alinéa, de la directive 2001/89/CE, pour permettre de délivrer l'autorisation de déplacer des porcs d'une exploitation située dans une zone de protection ou de surveillance conformément à l'article 10, paragraphe 3, de ladite directive, l'examen clinique à effectuer par un vétérinaire officiel doit:

   — être réalisé dans les 24 heures précédant le déplacement des porcs,

   — être conforme aux dispositions définies au point A 2.

2. Si les porcs sont transportés vers une autre exploitation, outre les investigations à mener conformément aux dispositions du point 1, il y a lieu de procéder à un examen clinique des porcs de chaque sous-unité de l'exploitation où sont détenus les porcs à transporter. Si les porcs sont âgés de plus de trois ou quatre mois, cet examen doit comporter la mesure de la température d'un certain nombre de porcs.

   Le nombre minimal de porcs à contrôler doit permettre de détecter une prévalence de 10 % avec un niveau de fiabilité de 95 % dans les sous-unités en cause.

   Toutefois, dans le cas des:

   — truies reproductrices, le nombre minimal de truies à examiner doit permettre de détecter une prévalence de 5 % de cas de fièvre, le cas échéant, avec un niveau de fiabilité de 95 % dans la sous-unité où sont détenues les truies à transporter,

   — verrats, tous les verrats à transporter doivent être examinés.

3. Si les porcs sont transportés vers un abattoir, un établissement de transformation ou d'autres lieux pour être mis à mort ou abattus, outre les investigations à mener conformément au dispositions du point 1, il y a lieu de procéder à un examen clinique des porcs de chaque sous-unité où sont détenus les porcs à transporter. Si les porcs sont âgés de plus de

([1]) Toutefois, si l'autorité compétente n'a limité l'opération de mise à mort préventive qu'à la partie de l'exploitation où étaient détenus les porcs suspects d'avoir été infectés ou contaminés par le virus de la peste porcine classique, conformément à l'article 4, paragraphe 3, point a), de la directive 2001/89/CE, l'échantillonnage doit concerner les sous-unités de l'exploitation où la mesure a été appliquée, sans préjudice des examens et des échantillonnages supplémentaires à pratiquer sur les porcs restants de l'exploitation, qui seront effectués en conformité avec les instructions de l'autorité compétente.

([2]) Dans certains cas, par exemple, lorsque la présence de la peste porcine classique est soupçonnée dans une exploitation comptant un nombre limité de jeunes porcs, la proportion de truies infectées peut être très faible. Dans ce cas, il faudra prélever des échantillons sur un plus grand nombre de truies.

▼B

trois ou quatre mois, cet examen doit comporter la mesure de la température d'un certain nombre de porcs.

Le nombre minimal de porcs à contrôler doit permettre de détecter une prévalence de 20 % de cas de fièvre le cas échéant, avec un niveau de fiabilité de 95 % dans la sous-unité en cause.

Toutefois, dans le cas des truies reproductrices ou des verrats, le nombre minimal de porcs à examiner doit permettre de détecter une prévalence de 5 % de cas de fièvre le cas échéant, avec un niveau de fiabilité de 95 % dans la sous-unité où sont détenus les porcs à transporter.

4. Lors de l'abattage ou de la mise à mort des porcs visés au point 3, il faut prélever, sur les porcs provenant de chacune des sous-unités à partir desquelles les porcs ont été transportés, des échantillons de sang aux fins des tests sérologiques ou des échantillons de sang ou d'amygdale aux fins des tests virologiques.

   Le nombre minimal d'échantillons à prélever doit permettre de détecter une séroprévalence ou une prévalence de virus de 10 % avec un niveau de fiabilité de 95 % dans chaque sous-unité.

   Toutefois, dans le cas des truies reproductrices ou des verrats, le nombre minimal de porcs à soumettre à échantillonnage doit permettre de détecter une séroprévalence ou une prévalence de virus de 5 % avec un niveau de fiabilité de 95 % dans la sous-unité où étaient détenus ces porcs.

   Le type d'échantillons à prélever et le test à utiliser seront conformes aux instructions de l'autorité compétente, qui tiendront compte de la gamme de tests pouvant être effectués, de la sensibilité de ces tests et de la situation épidémiologique.

5. Toutefois, si des signes cliniques ou des lésions post mortem laissant présager la présence de la peste porcine classique sont détectés au moment de l'abattage ou de la mise à mort des porcs, par dérogation au point 4 visé ci-dessus, les dispositions relatives à l'échantillonnage définies au point C sont applicables.

E. **Procédures de contrôle et d'échantillonnage dans une exploitation dans le cadre du repeuplement**

1. En cas de réintroduction de porcs dans une exploitation conformément à l'article 13, paragraphe 2, point a), ou paragraphe 2, point b), ou à l'article 19, paragraphe 8, deuxième alinéa, point b), de la directive 2001/89/CE, la procédure d'échantillonnage suivante doit être appliquée:

   — en cas de réintroduction de porcs sentinelles, des échantillons de sang destinés aux tests sérologiques doivent être prélevés au hasard sur un nombre de porcs permettant de détecter une séroprévalence de 10 % avec un niveau de fiabilité de 95 % dans chaque sous-unité de l'exploitation,

   — en cas de repeuplement total, des échantillons de sang destinés aux tests sérologiques doivent être prélevés au hasard sur un nombre de porcs permettant de détecter une séroprévalence de 20 % avec un niveau de fiabilité de 95 % dans chaque sous-unité de l'exploitation.

   Toutefois, dans le cas des truies reproductrices ou des verrats, le nombre d'échantillons à prélever doit permettre de détecter une séroprévalence de 10 % avec un niveau de fiabilité de 95 %.

2. Après la réintroduction des porcs, l'autorité compétente fait en sorte que, en cas d'apparition d'une maladie ou de décès chez les porcs de l'exploitation sans cause connue, les porcs en cause fassent immédiatement l'objet d'un dépistage de la peste porcine classique. Ces dispositions s'appliquent tant que les restrictions visées à l'article 13, paragraphe 2, point a), deuxième alinéa, et à l'article 19, paragraphe 8, deuxième alinéa, point b), deuxième phrase, de la directive 2001/89/CE ne sont pas levées dans l'exploitation en cause.

F. **Procédures d'échantillonnage dans la zone de protection avant la levée des restrictions**

1. Pour permettre la levée des mesures visées à l'article 10 de la directive 2001/89/CE dans une zone de protection, il faut procéder dans toutes les exploitations de la zone:

   — à un examen clinique en conformité avec les procédures définies dans la partie A, points 2 et 3,

   — au prélèvement d'échantillons de sang destinés aux tests sérologiques, conformément au point 2 visé ci-dessous.

▼B

2. Le nombre minimal d'échantillons sanguins à prélever doit permettre de détecter une séroprévalence de 10 % avec un niveau de fiabilité de 95 % chez les porcs de chaque sous-unité de l'exploitation.

Toutefois, dans le cas des:

— truies reproductrices, le nombre minimal d'échantillons à prélever doit permettre de détecter une séroprévalence de 5 % avec un niveau de fiabilité de 95 %,

— centres de collecte de sperme, des échantillons de sang doivent être prélevés sur tous les verrats.

G. **Procédures d'échantillonnage dans les exploitations de la zone de surveillance avant la levée des restrictions**

1. Pour permettre la levée des restrictions visées à l'article 11 de la directive 2001/89/CE dans une zone de surveillance, il y a lieu de procéder dans toutes les exploitations de la zone à un examen clinique en conformité avec les procédures définies dans la partie A, point 2.

De plus, des échantillons sanguins destinés aux tests sérologiques doivent être prélevés sur les porcs:

— de toutes les exploitations ne comptant pas de porcs âgés de deux à huit mois,

— dans tous les cas où l'autorité compétente estime que la peste porcine aurait pu contaminer des truies reproductrices sans être décelée,

— dans toute autre exploitation où l'échantillonnage est jugé nécessaire par l'autorité compétente,

— dans tous les centres de collecte de sperme.

2. Dans tous les cas où des prélèvements d'échantillons sanguins destinés aux tests sérologiques sont effectués dans des exploitations situées dans la zone de surveillance, le nombre d'échantillons à y prélever doit être conforme aux dispositions de la partie F, point 2. Toutefois, si l'autorité compétente estime que la peste porcine classique aurait pu contaminer des truies reproductrices sans être décelée, l'échantillonnage pourrait concerner seulement les sous-unités où ces animaux sont détenus.

H. **Procédures de sérosurveillance et d'échantillonnage dans des zones où la présence de la peste porcine classique est soupçonnée ou a été confirmée chez les porcs sauvages**

1. Dans le cas d'une sérosurveillance des porcs sauvages d'une zone où la présence de la peste porcine a été confirmée ou est soupçonnée, la taille et l'aire géographique de la population cible à soumettre à échantillonnage doivent être définies à l'avance pour établir le nombre d'échantillons à prélever. La taille de l'échantillon doit être fixée en fonction du nombre estimé d'animaux vivants et non pas en fonction du nombre d'animaux abattus à la chasse.

2. Si les données sur la densité et la taille de la population ne sont pas disponibles, l'aire géographique devant faire l'objet de l'échantillonnage doit être délimitée en tenant compte de la présence constante de porcs sauvages et de l'existence de barrières naturelles ou artificielles empêchant efficacement de grands mouvements continus d'animaux. Si tel n'est pas le cas ou si les aires sont étendues, il est recommandé de délimiter des aires d'échantillonnage de 200 km² au maximum, pouvant héberger généralement une population d'environ 400 à 1 000 porcs sauvages.

3. Sans préjudice des dispositions de l'article 15, paragraphe 2, point c), de la directive 2001/89/CE, le nombre minimal de porcs à soumettre à échantillonnage à l'intérieur de l'aire d'échantillonnage délimitée doit permettre de détecter une séroprévalence de 5 % avec un niveau de fiabilité de 95 %. À cet effet, il y a lieu de soumettre à échantillonnage au moins 59 animaux dans chacune des aires délimitées.

Il est également recommandé que:

— dans les zones où la chasse est intense et régulièrement pratiquée ou dans lesquelles la chasse sélective a pour objet de lutter conte les maladies, environ 50 % des animaux soumis à échantillonnage appartiennent à la catégorie d'âge comprise entre trois mois et un an, 35 % à la catégorie d'âge comprise entre un et deux ans et 15 % à la catégorie d'âge de plus de deux ans,

— dans les zones à intensité de chasse faible ou nulle, au moins 32 animaux de chacune des trois catégories d'âge soient soumis à échantillonnage,

▼B

— l'échantillonnage s'effectue sur un laps de temps court, de préférence inférieur à un mois,

— l'âge des animaux soit déterminé en fonction de l'éruption dentaire.

4. Le prélèvement d'échantillons destinés aux tests virologiques sur les porcs sauvages abattus à la chasse ou trouvés morts doit être effectué conformément aux dispositions du chapitre V, partie B, point 1.

   Lorsqu'une surveillance virologique des porcs sauvages abattus à la chasse est jugée nécessaire, elle doit être effectuée en priorité sur les animaux âgés de trois mois à un an.

5. Tous les échantillons à envoyer au laboratoire doivent être accompagnés par le questionnaire visé à l'article 16, paragraphe 3, point 1), de la directive 2001/89/CE.

CHAPITRE V

Procédures et critères généraux relatifs au prélèvement et au transport des échantillons

A. **Procédures et critères généraux**

1. Avant de procéder à l'échantillonnage dans une exploitation suspecte, il y a lieu d'établir une carte de l'exploitation et de délimiter les sous-unités épidémiologiques.

2. Dans tous les cas où un deuxième échantillonnage pourrait être jugé nécessaire, tous les porcs soumis à échantillonnage doivent être munis d'une marque spécifique de manière à pouvoir faire facilement l'objet d'un nouveau prélèvement.

3. Sans préjudice du chapitre IV, partie A, point 5 b), des échantillons destinés aux tests sérologiques ne doivent pas être prélevés sur les porcelets âgés de moins de huit semaines.

4. Tous les échantillons doivent être envoyés au laboratoire accompagnés de formulaires appropriés, conformément aux prescriptions établies par l'autorité compétente. Les formulaires mentionneront des détails concernant les antécédents des porcs soumis à échantillonnage ainsi que les signes cliniques ou les lésions post mortem observés.

   Dans le cas des porcs détenus dans une exploitation, des informations claires sur l'âge, la catégorie et l'exploitation d'origine des porcs soumis à échantillonnage sont à fournir. Il est recommandé que la localisation de chacun des porcs soumis à échantillonnage dans l'exploitation soit enregistrée en même temps que sa marque spécifique d'identification.

B. **Prélèvement d'échantillons destinés aux tests virologiques**

1. Les tissus provenant des amygdales, de la rate et des reins de porcs morts ou euthanasiés constituent les échantillons les plus adaptés pour détecter le virus, l'antigène ou le génome de la peste porcine classique. De plus, il est recommandé de prélever deux échantillons d'autres tissus lymphatiques, tels que les ganglions rétropharyngiens, parotidiens, mandibulaires ou mésentériques ainsi qu'un échantillon d'iléon. Lorsque les carcasses sont autolysées, un os long entier ou le sternum est l'échantillon à préférer.

2. Des échantillons de sang anticoagulé ou coagulé doivent être prélevés sur les porcs montrant des signes de fièvre ou d'autres signes de maladie, conformément aux instructions de l'autorité compétente.

3. Il est recommandé de procéder à des tests virologiques sur les animaux malades. Ces tests possèdent généralement une valeur limitée lorsqu'ils sont appliqués à des fins de surveillance sur des animaux ne présentant pas de signes cliniques. Toutefois, si un échantillonnage à grande échelle a pour objet de déceler le virus de la peste porcine classique sur des porcs en période d'incubation, les échantillons les plus appropriés sont les amygdales.

C. **Transport des échantillons**

1. Il est recommandé que tous les échantillons:

   — soient transportés et entreposés dans des récipients étanches,

   — ne soient pas congelés, mais conservés au frais à température de réfrigération,

   — soient livrés au laboratoire aussi rapidement que possible,

▼B

— soient placés dans un emballage dans lequel la réfrigération est assurée par des sacs réfrigérants plutôt que par de la glace,

— de tissus ou d'organes soient placés dans un sachet en plastique hermétiquement fermé et dûment étiqueté. Ils seront ensuite placés dans de grands récipients extérieurs résistants et enveloppés dans une quantité de matériel absorbant suffisante pour les protéger de tout dommage et pour absorber les fuites,

— dans la mesure du possible, soient directement transportés au laboratoire par du personnel compétent de manière à assurer un transport rapide et fiable.

2. Le côté extérieur de l'emballage doit mentionner l'adresse du laboratoire destinataire et afficher très visiblement les indications suivantes: «Matériel pathologique d'origine animale. Périssable. Fragile. À n'ouvrir que dans un laboratoire compétent pour la peste porcine classique».

3. Le laboratoire destinataire des échantillons doit être informé à l'avance du moment et des circonstances de l'arrivée des échantillons.

4. Pour le transport par avion des échantillons envoyés au laboratoire communautaire de référence pour la peste porcine classique ([1]) par les États membres autres que l'Allemagne ou par des pays tiers, l'emballage doit être étiqueté conformément aux règlements de l'Association du transport aérien international (ATA).

CHAPITRE VI

Principes et utilisation des tests virologiques et évaluation de leurs résultats

A. **Détection de l'antigène du virus**

1. *Test d'immunofluorescence (IF)*

Le principe du test est la détection de l'antigène viral sur de fines coupes cryogéniques de matériel organique provenant de porcs suspects d'être infectés par le virus de la peste porcine classique. L'antigène intracellulaire est détecté à l'aide d'un anticorps conjugué par FITC. Tout résultat positif devrait être confirmé par la répétition de la coloration à l'aide d'un anticorps monoclonal spécifique.

Les organes adéquats sont les amygdales, les reins, la rate, plusieurs ganglions lymphatiques et l'iléon. Dans le cas des porcs sauvages, on peut également utiliser un frottis de moelle osseuse lorsque les organes susmentionnés ne sont pas disponibles ou sont autolysés.

Le test peut s'effectuer en l'espace d'un jour. Les échantillons d'organes ne pouvant être prélevés que sur des animaux morts, leur utilisation à des fins de dépistage est limitée. La fiabilité des résultats peut être entachée par des colorations douteuses, surtout lorsque l'expérience acquise en matière d'exécution du test n'est pas grande ou que les organes examinés sont autolysés.

2. *Test ELISA pour la détection de l'antigène*

Plusieurs techniques ELISA permettent de déceler l'antigène viral. La sensibilité de l'antigène ELISA devrait être suffisante pour obtenir un résultat positif chez des animaux montrant des signes cliniques de peste porcine classique.

Il est recommandé d'utiliser les techniques ELISA pour détecter l'antigène sur des échantillons provenant d'animaux présentant des signes cliniques ou des lésions pathologiques de la maladie. Elles ne conviennent pas pour procéder à des investigations sur des individus. Les échantillons appropriés sont les leucocytes, le sérum, le sang non coagulé ainsi que les suspensions des organes visés au point 1, prélevés sur des porcs suspects d'être infectés par le virus de la peste porcine classique ([2]).

Le test ELISA peut être effectué en l'espace d'un jour à l'aide d'un équipement automatique. Son principal avantage réside dans le fait qu'un grand nombre d'échantillons peuvent être traités en peu de temps. Il est recommandé d'utiliser les techniques ELISA donnant des résultats satisfaisants sur le matériel de référence. Cependant, actuellement, toutes les

([1]) Le laboratoire communautaire de référence dispose d'une autorisation illimitée de recevoir des échantillons diagnostiques et des isolats de virus de la peste porcine classique. Une copie de l'autorisation d'importation peut être demandée à ce laboratoire avant le transport et insérée dans une enveloppe attachée à l'extérieur de l'emballage.

([2]) Plusieurs tests ELISA concernant l'antigène de la peste porcine classique sont disponibles dans le commerce et sont validés pour différents types d'échantillons.

▼B

techniques ELISA du commerce sont moins sensibles que l'isolement du virus sur une culture de cellules et leur sensibilité est nettement meilleure sur les échantillons de sang provenant de porcelets que sur ceux de porcs adultes.

B. **Isolement du virus**

1. L'isolement du virus est fondé sur l'incubation de matériel de l'échantillon sur des cultures cellulaires sensibles d'origine porcine. Si le virus de la peste porcine classique est présent dans l'échantillon, il se reproduira dans les cellules en des quantités décelables par immunocoloration des cellules infectées avec des anticorps conjugués. Il est nécessaire de disposer d'anticorps spécifiques de la peste porcine classique pour établir un diagnostic différentiel par rapport à d'autres *Pestivirus*.

2. Les meilleurs échantillons pour la technique d'isolement du virus de la peste porcine classique sont les leucocytes, le plasma ou le sang total prélevés sur des échantillons de sang non coagulé ou les organes visés dans la partie A, point 1.

3. L'isolement du virus est une technique plus adaptée à l'analyse des échantillons provenant d'un petit nombre d'animaux qu'à l'application d'une surveillance de masse. Cette technique requiert une haute intensité de main-d'œuvre et trois jours au moins doivent s'écouler avant que les résultats ne soient connus. Deux autres cultures cellulaires peuvent se révéler nécessaires pour déceler une petite quantité de virus dans l'échantillon. Il peut en résulter un délai d'investigation allant jusqu'à dix jours avant que ne soit obtenu un résultat final. Les échantillons autolysés peuvent être cytotoxiques pour la culture et limiter de ce fait son utilisation.

4. Il est recommandé de procéder également à l'isolement du virus dans le cas d'une confirmation précédente de la présence de la peste porcine classique par d'autres méthodes. Il doit être pratiqué à titre de test de référence pour la confirmation de résultats positifs précédemment obtenus respectivement par les méthodes ELISA par antigène, réaction en chaîne de la polymérase (PCR) ou IF, coloration indirecte à la peroxydase.

   Les isolats de virus de la peste porcine classique obtenus par ce moyen servent à la caractérisation du virus et notamment au typage génétique et à l'épidémiologie moléculaire.

5. Tous les isolats de virus de la peste porcine classique provenant de tous les foyers primaires, de cas primaires chez les porcs sauvages ou de cas constatés à l'abattoir ou dans les moyens de transport doivent faire l'objet d'un typage génétique par un laboratoire de référence national dans les États membres, par tout autre laboratoire agréé par l'État membre concerné ou par le laboratoire communautaire de référence, conformément au point E.

   En tout état de cause, ces isolats de virus doivent être envoyés sans délai au laboratoire communautaire de référence pour être intégrés à la collection de virus.

C. **Détection du génome du virus**

1. La PCR sert à détecter le génome du virus dans les échantillons de sang, de tissus ou d'organes. De petits fragments d'acide ribonucléique (ARN) viral sont transcrits dans des fragments d'acide désoxyribonucléique (ADN), amplifiés par PCR jusqu'à atteindre une quantité décelable. Ces tests ne décelant qu'une séquence du génome du virus, la PCR peut donner un résultat positif même en l'absence du virus de la peste porcine classique (par exemple, dans les tissus autolysés ou les échantillons de porcs convalescents).

2. La PCR peut être utilisée sur un petit nombre d'échantillons soigneusement sélectionnés sur des animaux suspects ou sur du matériel provenant de fœtus avortés. Ce pourrait être la méthode idéale pour les carcasses de porcs sauvages, lorsque le matériel est autolysé et que l'isolement du virus n'est plus possible pour cause de cytotoxicité.

3. Le matériel qui se prête au diagnostic par PCR est composé d'échantillons des organes mentionnés pour l'isolement du virus ou de sang non coagulé.

4. La PCR peut être effectuée dans un délai de 48 heures. Elle nécessite un équipement de laboratoire approprié, des locaux séparés et un personnel qualifié. Un de ses avantages réside dans le fait que les particules virales infectées ne doivent pas être reproduites en laboratoire. La méthode est très sensible, mais des contaminations peuvent se produire facilement, ce qui débouche sur des résultats faussement positifs. Il est donc indispensable de mettre en œuvre des procédures sévères de contrôle de la

▼B

qualité. Certaines méthodes sont spécifiques des *Pestivirus* et non de la peste porcine classique et nécessitent des tests de confirmation supplémentaires, tels que le séquençage du produit de la PCR.

D. **Évaluation des résultats des tests virologiques**

1. Les tests virologiques sont indispensables pour confirmer la présence de la peste porcine classique.

   L'isolement du virus est à considérer comme le test virologique de référence et doit être utilisé comme test de confirmation s'il y a lieu. Son utilisation est particulièrement recommandée lorsque des résultats positifs des tests IF, ELISA ou PCR ne sont pas associés à la détection de signes cliniques ou à des lésions de la maladie ainsi que dans tout autre cas douteux.

   Toutefois, un foyer primaire de peste porcine classique peut être confirmé si des signes cliniques ou des lésions de la maladie ont été décelés sur les porcs en cause et si au moins deux tests de détection de l'antigène ou du génome ont donné un résultat positif.

   Un foyer secondaire de peste porcine classique peut être confirmé si, outre le lien épidémiologique avec un foyer ou un cas confirmé, des signes cliniques ou des lésions de la maladie ont été décelés sur les porcs en cause et si un test de détection de l'antigène ou du génome a donné un résultat positif.

   L'apparition d'un cas primaire de peste porcine classique chez les porcs sauvages peut être confirmée après l'isolement du virus ou si au moins deux tests de détection de l'antigène ou du génome ont donné un résultat positif. D'autres cas de peste porcine classique chez les porcs sauvages pour lesquels un lien épidémiologique a été établi avec des cas précédemment confirmés peuvent être confirmés si un test de détection de l'antigène ou du génome a donné un résultat positif.

2. Pour qu'un test de détection du génome ou de l'antigène de la peste porcine classique donne un résultat positif, le test doit avoir été réalisé à l'aide d'anticorps ou d'amorces spécifiques du virus de la peste porcine classique. Si le test pratiqué n'est pas spécifique du virus de la peste porcine classique, mais seulement des *Pestivirus*, il faut le répéter en utilisant des réactifs spécifiques de la peste porcine classique.

E. **Typage génétique des isolats de virus de la peste porcine classique**

1. Le typage génétique des isolats de virus de la peste porcine classique s'obtient par la détermination de la séquence nucléotidique de portions du génome du virus, à savoir de parties spécifiques du segment 5' non codant et/ou du gène codant la glycoprotéine E2. La similarité de ces séquences avec celles qui ont déjà été obtenues à partir d'isolats de virus précédents indique si l'apparition de la maladie est ou non causée par des souches nouvelles ou déjà identifiées, ce qui peut conforter ou réfuter les hypothèses sur le mode de transmission fondées sur l'enquête épidémiologique.

   Le typage génétique des isolats de virus de la peste porcine classique revêt une importance capitale pour déterminer la source de la maladie. Toutefois, une relation étroite entre des virus provenant de foyers différents n'est pas une preuve absolue de l'existence d'un lien épidémiologique direct.

2. Si le typage du virus ne peut pas être effectué dans un laboratoire national ou dans tout autre laboratoire autorisé à diagnostiquer la peste porcine classique à bref délai, l'échantillon original de l'isolat de virus doit être transmis au laboratoire communautaire de référence pour que le typage soit réalisé dans les délais les plus courts.

   Les données sur le typage et le séquençage des isolats du virus de la peste porcine classique dont disposent les laboratoires autorisés à diagnostiquer la peste porcine classique doivent être transmises au laboratoire communautaire de référence aux fins d'introduction de ces informations dans la base de données du laboratoire.

   Les informations contenues dans cette base de données doivent être mises à la disposition de tous les laboratoires de référence nationaux des États membres. Toutefois, en cas de publication à faire paraître dans les revues scientifiques, sur demande du laboratoire en cause, le laboratoire communautaire de référence garantit la confidentialité des données jusqu'à leur publication.

▼B

CHAPITRE VII

Principes et utilisation des tests sérologiques et évaluation de leurs résultats

A. **Principes fondamentaux et valeur diagnostique**

1. Chez les porcs infectés par le virus de la peste porcine classique, les anticorps peuvent généralement être décelés dans les échantillons de sérum à partir de deux trois semaines suivant l'infection. Chez les porcs guéris, des anticorps protecteurs et neutralisants peuvent être détectés pendant plusieurs années, voire tout au long de la vie. Des anticorps peuvent aussi être décelés sporadiquement sur des animaux mortellement atteints, en phase terminale. Chez certains porcs présentant des formes chroniques de peste porcine classique, des anticorps peuvent être décelés pendant quelques jours à la fin du premier mois suivant l'infection.

   Les porcs infectés *in utero* peuvent être immunotolérants à l'égard du virus homologue de la peste porcine classique et ne produire aucun anticorps spécifique. Toutefois, des anticorps d'origine maternelle peuvent être détectés au cours des premiers jours de la vie. La demi-vie des anticorps maternels chez des porcelets sains non virémiques est d'environ deux semaines. S'ils sont décelés sur des porcelets de plus de trois mois, il est peu probable que les anticorps de la peste porcine classique soient d'origine maternelle.

2. La détection d'anticorps contre le virus de la peste porcine classique dans des échantillons de sérum ou de plasma sert à conforter le diagnostic de peste porcine classique dans des exploitations suspectes, à établir l'âge de l'infection en cas de foyer confirmé et à mettre en œuvre des mesures de suivi et de surveillance. Toutefois, les tests sérologiques ont une utilité limitée pour la détection de la peste porcine classique dans une exploitation récemment infectée.

   Un petit nombre de porcs séropositifs présentant un faible titre de neutralisation peut révéler une infection récente (deux ou trois semaines). Un grand nombre de porcs caractérisés par un titre de neutralisation élevé indique que le virus a pénétré dans l'exploitation plus d'un mois auparavant. La localisation des porcs séropositifs dans l'exploitation peut fournir des informations utiles sur la manière dont le virus de la peste porcine classique s'est introduit dans l'exploitation.

   Il faut toutefois procéder à une évaluation précise des résultats des tests sérologiques en tenant compte de l'ensemble des résultats cliniques, virologiques et épidémiologiques, dans le contexte de l'enquête à mener en cas de suspicion ou de confirmation de l'existence de la peste porcine classique, conformément à l'article 8 de la directive 2001/89/CE.

B. **Tests sérologiques recommandés**

1. Le test de neutralisation du virus (TNV) et ELISA sont les meilleurs à retenir pour le diagnostic sérologique de la peste porcine classique.

   La qualité et l'efficacité du diagnostic sérologique effectué par les laboratoires nationaux doivent être régulièrement contrôlées dans le cadre du test de comparaison interlaboratoires périodiquement organisé par le laboratoire communautaire de référence.

2. Le TNV est fondé sur la détermination de l'activité neutralisante des anticorps de l'échantillon de sérum contre le virus, exprimée en titre neutralisant final 50 %.

   Une quantité constante de virus de la peste porcine classique est incubée à 37 °C avec du sérum dilué. À des fins de criblage, les sérums sont initialement dilués au 1/10. Lorsqu'un titrage complet est nécessaire, des dilutions par dédoublement du sérum à partir de 1/2 ou 1/5 peuvent être préparées. Chaque dilution est mélangée avec un volume égal d'une suspension de virus contenant 100 doses infectieuses (TCID 50).

   Après incubation, le mélange est inoculé à des cultures de cellules incubées pendant trois à cinq jours. Après cette période d'incubation, les cultures sont fixées et toute réplication virale dans les cellules infectées est décelée par un système de marquage immun. On peut utiliser aussi bien la neutralisation-immunoperoxydase (NPLA) que la neutralisation-immunofluorescence (NIF).

   Les résultats du TNV sont exprimés par la réciproque de la dilution initiale du sérum pour laquelle la moitié des cultures de cellules inoculées (titre final 50 %) ne présentent pas de réplication virale (pas de marquage spécifique). Le titre entre deux dilutions est estimé. Le système de la dilution finale est fondé sur la dilution effective du sérum pendant la

▼B

réaction de neutralisation, à savoir après l'adjonction du virus, mais avant l'ajout de la suspension cellulaire.

3. Le TNV est le test le plus sensible et le plus fiable pour la détection des anticorps du virus de la peste porcine classique. C'est pourquoi il est recommandé d'y recourir pour l'examen sérologique d'un animal isolé aussi bien que d'un troupeau. Cependant, ce test permet aussi de déceler des anticorps de neutralisation croisée spécifiques des infections à *Pestivirus* des ruminants sur les porcs.

   Le TNV appliqué à la détection des anticorps des virus de la DVB et de la PVO est conforme aux mêmes principes que ceux qui sont décrits ci-dessus et est pratiqué pour établir un diagnostic différentiel de la peste porcine classique.

4. Les souches de *Pestivirus* à utiliser dans les tests de neutralisation doivent répondre aux recommandations du laboratoire communautaire de référence.

5. Plusieurs techniques ELISA utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques ont été mises au point; elles sont de deux ordres: les techniques concurrentielles ou de blocage et les techniques non concurrentielles.

   Le test ELISA concurrentiel ou de blocage est généralement fondé sur des anticorps monoclonaux. Si l'échantillon de sérum contient des anticorps du virus classique, la liaison entre un anticorps monoclonal couplé à la peroxydase et l'antigène du virus sera inhibée, ce qui débouche sur une atténuation du signal.

   Dans les tests ELISA non concurrentiels, la liaison des anticorps du sérum à l'antigène est mesurée directement à l'aide d'anticorps antiporcs couplés à la peroxydase.

6. Les laboratoires nationaux doivent procéder régulièrement à des contrôles de qualité concernant la sensibilité et la spécificité de tous les lots d'un test ELISA en utilisant la série de sérums de référence fournie par le laboratoire communautaire de référence. Cette série comporte:

   — des sérums provenant de porcs se trouvant au stade initial de l'infection par le virus de la peste porcine classique (jusqu'à 21 jours suivant l'infection),

   — des sérums provenant de porcs convalescents (à partir du vingt et unième jour suivant l'infection),

   — des sérums provenant de porcs infectés par des *Pestivirus* des ruminants.

   Les tests ELISA à utiliser pour le diagnostic sérologique de la peste porcine classique doivent reconnaître tous les sérums de référence provenant de porcs convalescents. Tous les résultats obtenus avec les sérums de référence doivent être reproductibles. Il est aussi recommandé que les tests identifient tous les sérums positifs provenant du stade initial et présentent un minimum de réactions croisées avec les sérums provenant de porcs infectés par des *Pestivirus* des ruminants.

   Les résultats obtenus avec les sérums de référence provenant de porcs se trouvant dans la phase initiale de l'infection donnent une indication de la sensibilité du test ELISA.

7. La sensibilité du test ELISA est jugée inférieure à celle du TNV et il est recommandé de l'utiliser comme test de dépistage au niveau du troupeau. Néanmoins, les tests ELISA nécessitent des équipements moins spécialisés et peuvent être réalisés beaucoup plus rapidement que le TNV grâce à l'automatisation du matériel.

   Les tests ELISA doivent permettre de détecter toutes les infections de peste porcine classique au stade de la convalescence et doivent être aussi exempts que possible de toute interférence avec les anticorps présentant une réaction croisée avec les *Pestivirus* des ruminants.

C. **Interprétation des résultats sérologiques et diagnostic différentiel avec des infections dues aux *Pestivirus* des ruminants (DVB et PVO)**

1. Sans préjudice des dispositions des articles 4, paragraphe 3, point a), ou 7, paragraphe 2, de la directive 2001/89/CE, dans le cas de la détection d'un titre de neutralisation du virus de la peste porcine classique égal ou supérieur à 10 ND_{50} dans des échantillons de sérum prélevés sur un ou plusieurs porcs ou du résultat positif du test ELISA dans des échantillons de sérum provenant d'un groupe de porcs, les mesures visées à l'article 4, paragraphe 2, de la directive 2001/89/CE sont immédiatement applicables ou continuent à s'appliquer dans l'exploitation en question.

▼B

Les échantillons déjà prélevés dans cette exploitation doivent faire l'objet d'un nouveau test TNV (titrage final comparatif des anticorps neutralisants du virus de la peste porcine classique et des *Pestivirus* des ruminants).

2. Si les tests comparatifs révèlent la présence d'anticorps des *Pestivirus* des ruminants et des titres d'anticorps de la peste porcine classique absents ou manifestement inférieurs (moins du triple), la suspicion de peste porcine classique est écartée, à moins que d'autres raisons continuent à justifier la poursuite de l'application des mesures visées à l'article 4, paragraphe 2, de la directive 2001/89/CE dans l'exploitation en cause.

3. Si les tests comparatifs font apparaître un titre de neutralisation du virus égal ou supérieur à 10 ND_{50} chez plusieurs porcs et que ce titre est égal ou supérieur aux titres relatifs à d'autres *Pestivirus*, l'autorité compétente fait en sorte qu'il soit procédé à la confirmation de la présence de la peste porcine classique, à condition que des indices épidémiologiques de la maladie aient été constatés dans l'exploitation en cause.

4. Sans préjudice des dispositions de l'article 4, paragraphe 3, de la directive 2001/89/CE, si aucun indice épidémiologique de la maladie n'a été constaté ou si les résultats des tests précédents sont insuffisants, l'autorité compétente fait en sorte que, dans l'exploitation en cause:

   — les mesures visées à l'article 4, paragraphe 2, de la directive 2001/89/CE continuent à s'appliquer,

   — d'autres investigations soient menées aussi rapidement que possible pour confirmer ou écarter la présence de la peste porcine classique, conformément au chapitre IV.

5. Toutefois, si les contrôles et les tests supplémentaires visés au point 4 ne permettent pas d'écarter la présence de la peste porcine classique, il y a lieu de procéder, dans l'exploitation, à un nouveau prélèvement d'échantillons sanguins destinés aux tests sérologiques après l'écoulement d'une période d'au moins deux semaines depuis les contrôles précédents.

   Dans le contexte de ce nouvel échantillonnage, les porcs qui ont déjà fait l'objet d'un échantillonnage et d'un dépistage seront soumis à un nouveau prélèvement en vue d'un examen sérologique de comparaison avec les échantillons précédemment collectés permettant de déceler une séroconversion concernant le virus de la peste porcine classique ou le *Pestivirus* des ruminants, selon le cas.

   Si ces nouveaux contrôles et examens ne permettent pas de confirmer la présence de la peste porcine classique, les mesures visées à l'article 4 de la directive 2001/89/CE peuvent être levées.

▼M1

CHAPITRE VIII

Test de discrimination en cas de vaccination d'urgence

A. **Principes fondamentaux**

1. Un test sérologique ELISA de discrimination («test de discrimination») permet de distinguer d'une manière efficace les porcs qui ont été vaccinés avec des vaccins marqueurs, qui entraînent la production d'anticorps uniquement contre la glycoprotéine E2 de la peste porcine classique, de ceux qui ont été infectés par le virus de type sauvage de la maladie. Le test est conçu pour détecter les anticorps contre la glycoprotéine E^{rns} de la peste porcine classique. Il repose sur le principe selon lequel des animaux sains vaccinés avec des vaccins marqueurs produisent des anticorps uniquement contre la glycoprotéine E2 de la peste porcine classique, tandis que les animaux infectés par le virus sauvage réagissent en produisant également des anticorps contre d'autres antigènes du virus.

   Ce test de discrimination est sensible et spécifique ([1]). Toutefois, des porcs qui ont été infectés par des *Pestivirus* autres que celui de la peste porcine classique, tels que les virus DVB et BD, auront également une réaction positive à l'E^{rns}. En outre, la sensibilité du test n'est pas idéale, étant donné que certains animaux vaccinés aux marqueurs et infectés ensuite peuvent réagir négativement à l'E^{rns}.

([1]) Conformément aux résultats d'une étude réalisée par le laboratoire communautaire de référence pour la peste porcine classique et par les laboratoires nationaux compétents pour la peste porcine classique, la sensibilité du test de discrimination est de 94 % et sa spécificité est de 98 % environ.

▼M1

Les données actuellement disponibles indiquent que le test de discrimination ne peut être utilisé de manière fiable pour tester les échantillons de sérum provenant de porcs sauvages.

2. Le test de discrimination est un immuno-essai enzymatique bloquant en phase liquide. Les échantillons à tester sont incubés dans des plaques microtitres préenduites d'anticorps monoclonaux anti-E^{rns}, ainsi que d'une quantité définie d'antigène E^{rns}. Les anticorps spécifiques à l'E^{rns} se fixent à la quantité définie d'antigène E^{rns} dans la solution et il se forme un complexe antigène/anticorps qui ne réagit pas aux anticorps anti-E^{rns} placés sur la plaque microtitre. Après le lavage des plaques destiné à éliminer le matériel libre, un conjugué anti-E^{rns} marqué peroxydase est ajouté. Celui-ci se lie à l'antigène E^{rns} complexé par l'anticorps placé sur la plaque microtitre. Le conjugué non lié est enlevé par lavage et le substrat chromogène est ajouté. L'intensité de la couleur qui apparaît est inversement proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques de l'E^{rns} présents dans l'échantillon. Si l'échantillon ne contient pas d'anticorps (échantillon négatif), une grande partie de la quantité définie d'antigène E^{rns} qui a été ajoutée peut se lier aux anticorps anti-E^{rns} sur la plaque et on observe une réaction colorée intense.

   On obtient un résultat en comparant la densité optique dans les puits contenant les échantillons testés à celle observée dans les puits contenant les contrôles négatifs et positifs.

B. **Lignes directrices relatives à l'utilisation du test de discrimination en cas de vaccination d'urgence avec un vaccin marqueur dans les exploitations porcines, dans le cadre de l'article 19 de la directive 2001/89/CE**

Le test de discrimination est conçu pour vérifier la présence ou l'absence de circulation du virus de la peste porcine classique dans une population de porcs vaccinés avec un vaccin marqueur. Les données disponibles indiquent que le test peut se révéler utile à cette fin lorsqu'il s'agit de troupeaux, mais qu'il ne permet pas d'exclure avec certitude que certains porcs soient contaminés par la peste porcine classique. En particulier, la spécificité du test de discrimination risque d'être insuffisante pour permettre de distinguer de manière fiable les porcs vaccinés avec un marqueur des porcs contaminés en cas de vaccination de porcs adultes. Toutefois, si les résultats laissent planer un doute, les porcs concernés doivent être tués ou abattus sans cruauté conformément à la directive 93/119/CE et leurs organes doivent être soumis au test de dépistage de la peste porcine classique. L'isolement du virus et l'amplification RCP sont les tests les plus appropriés à cet effet.

Ces aspects doivent être dûment pris en considération lors de l'élaboration d'une stratégie de vaccination d'urgence avec vaccins marqueurs et lors de l'interprétation des résultats d'une étude consacrée à la peste porcine classique dans la population vaccinée avec ce type de vaccin.

La procédure relative au prélèvement d'échantillons et au test de la population de porcs vaccinés avant la levée des restrictions à appliquer dans la zone vaccinée conformément à l'article 19 de la directive 2001/89/CE dépend de l'âge des porcs vaccinés, de leur catégorie (porcs d'engraissement, porcs destinés à l'abattage, porcs reproducteurs) et du degré de sécurité souhaité en ce qui concerne l'absence de circulation du virus dans la population.

C'est pourquoi les détails relatifs à la procédure de prélèvement d'échantillons et de test sont à mentionner dans le plan de vaccination d'urgence qui doit être soumis à la Commission conformément à l'article 19, paragraphe 3, de la directive 2001/89/CE.

▼B

CHAPITRE IX

Conditions minimales de sécurité à observer dans les laboratoires compétents pour la peste porcine classique

1. Les conditions minimales définies au tableau 1 doivent être respectées dans tous les laboratoires appelés à manipuler le virus de la peste porcine classique, même en faible quantité, selon les critères des tests d'isolement et de neutralisation du virus. Toutefois, les examens post mortem, la préparation des tissus pour l'IF et les techniques sérologiques utilisant un antigène inactivé peuvent être effectués selon des prescriptions moins strictes, à condition que soient respectées les normes d'hygiène de base et qu'il soit procédé aux opérations de désinfection à la fin des manipulations avec élimination des tissus et des sérums dans des conditions de sécurité.

2. Les conditions supplémentaires définies au tableau 1 doivent être respectées par tout laboratoire mettant en œuvre des procédures comportant une multiplication importante de virus.

▼B

3. Les conditions définies au tableau 2 doivent être respectées par tout laboratoire pratiquant des expérimentations animales utilisant le virus de la peste porcine classique.

4. En tout état de cause, tous les stocks de virus de la peste porcine classique doivent être conservés en un lieu sûr, à l'état congelé ou lyophilisé. Il est recommandé de réserver les congélateurs ou les réfrigérateurs exclusivement aux virus de la peste porcine classique et aux matériels utilisés dans le contexte du diagnostic de la peste porcine classique. Chaque ampoule doit être clairement étiquetée. Des registres exhaustifs doivent mentionner les stocks de virus détenus ainsi que la date et les résultats des contrôles de qualité. Il faut également tenir un registre des virus ajoutés au stock en en précisant la source ainsi que des virus fournis à d'autres laboratoires.

5. Il est recommandé de compléter les unités de manipulation du virus de la peste porcine classique, conçues selon les principes de la sécurité biologique, par des espaces où le virus n'est pas manipulé. Ces espaces devraient servir à la préparation de la verrerie et des milieux, à l'entretien et à la préparation de cultures de cellules non infectées, au traitement des sérums et aux examens sérologiques (autres que les méthodes utilisant le virus vivant de la peste porcine classique) et au travail administratif et de bureau.

Tableau 1

Normes de confinement biologique applicables aux laboratoires de diagnostic

	Conditions supplémentaires	Conditions minimales
Environnement général	Pression atmosphérique normale Double filtration absolue de l'air aspiré Locaux réservés, exclusivement destinés aux procédures de diagnostic de la peste porcine classique	Pression atmosphérique normale Locaux réservés dont l'usage est limité à des procédures déterminées
Vêtements de laboratoire	Changement complet de vêtements à l'entrée Vêtements de laboratoire à n'utiliser que dans l'unité réservée au virus de la peste porcine classique Gants jetables pour toutes les manipulations de matériel infecté Stérilisation des vêtements avant la sortie de l'unité ou lavage à l'intérieur de celle-ci	Vêtements de dessus spéciaux à n'utiliser que dans l'unité réservée au virus de la peste porcine classique Gants jetables pour toutes les manipulations de matériel infecté Stérilisation des vêtements de dessus avant la sortie de l'unité ou lavage à l'intérieur de celle-ci
Contrôle du personnel	Accès à l'unité réservé au personnel désigné, dûment formé Lavage et désinfection des mains au sortir de l'unité Interdiction pour le personnel d'approcher des porcs dans les 48 heures suivant la sortie de l'unité	Accès à l'unité réservé au personnel désigné, dûment formé Lavage et désinfection des mains au sortir de l'unité Interdiction pour le personnel d'approcher des porcs dans les 48 heures suivant la sortie de l'unité
Équipement	Enceinte biologique de sécurité (classe I ou II) destinée à toutes les manipulations de virus vivants. L'enceinte doit disposer d'un dispositif de double filtration absolue de l'air aspiré. Tous les équipements nécessaires aux procédures de laboratoire doivent être disponibles à l'intérieur des locaux réservés du laboratoire	

▼B

Tableau 2

Conditions de sécurité biologique pour les locaux réservés aux animaux de laboratoire

	Conditions
Environnement général	Aération contrôlée par pression négative Double filtration absolue de l'air aspiré Dispositif de fumigation/désinfection complète à la fin de l'expérience Traitement de tous les effluents pour inactiver le virus de la peste porcine classique (par des procédés thermiques ou chimiques)
Vêtements de laboratoire	Changement complet de vêtements à l'entrée Gants jetables pour toutes les manipulations Stérilisation des vêtements avant la sortie de l'unité ou lavage à l'intérieur de l'unité
Contrôle du personnel	Accès à l'unité réservé au personnel désigné, dûment formé Douche intégrale à la sortie de l'unité Interdiction pour le personnel d'approcher des porcs dans les 48 heures suivant la sortie de l'unité
Équipement	Tous les équipements nécessaires aux procédures de laboratoire doivent être disponibles à l'intérieur de l'unité Stérilisation de tout le matériel au sortir de l'unité ou, dans le cas des échantillons d'origine animale, conditionnement dans une double enveloppe placée dans un récipient étanche, désinfecté en surface pour le transport vers le laboratoire compétent pour la peste porcine classique
Animaux	Mise à mort de tous les animaux avant la sortie de l'unité, examens post mortem à pratiquer dans les espaces de sécurité biologique, incinération des carcasses au terme des examens