

**DÉCISION DE LA COMMISSION**

du 2 juin 1992

**concernant la réalisation de tests de détection de la maladie de Newcastle chez les volailles avant l'expédition, en application de l'article 12 de la directive 90/539/CEE du Conseil**

(92/340/CEE)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,  
vu le traité instituant la Communauté économique européenne,

vu la directive 90/539/CEE du Conseil, du 15 octobre 1990, relative aux conditions de police sanitaire régissant les échanges intracommunautaires et les importations en provenance des pays tiers de volailles et d'œufs à couver<sup>(1)</sup>, modifiée en dernier lieu par la directive 91/496/CEE<sup>(2)</sup>, et notamment son article 12 paragraphe 1,

considérant que la description des méthodes à appliquer pour réaliser des contrôles sérologiques en vue de détecter la maladie de Newcastle et d'en isoler le virus doit détailler les modalités de l'échantillonnage, de la réalisation des contrôles et de l'interprétation de leurs résultats;

considérant que les mesures prévues par la présente décision sont conformes à l'avis du comité vétérinaire permanent,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DÉCISION :

*Article premier*

Le contrôle sérologique représentatif visant à détecter les anticorps de la maladie de Newcastle, visé à l'article 12

paragraphe 1 point c) troisième tiret de la directive 90/539/CEE, doit être réalisé conformément aux dispositions de l'annexe I.

*Article 2*

Le test destiné à isoler le virus de la maladie de Newcastle, visé à l'article 12 paragraphe 1 point d) second tiret de la directive 90/539/CEE, doit être réalisé conformément aux dispositions de l'annexe II.

*Article 3*

Les États membres sont destinataires de la présente décision.

Fait à Bruxelles, le 2 juin 1992.

*Par la Commission*

Ray MAC SHARRY

*Membre de la Commission*

<sup>(1)</sup> JO n° L 303 du 31. 10. 1990, p. 6.

<sup>(2)</sup> JO n° L 268 du 24. 9. 1991, p. 56.

*ANNEXE I***Contrôle sérologique destiné à détecter les anticorps de la maladie de Newcastle dans les volailles****1. Prélèvement d'échantillons de sang**

Les volailles soumises aux conditions reprises dans cette annexe doivent provenir de troupeaux au sein desquels des échantillons de sang ont été prélevés sur au moins 60 oiseaux choisis au hasard et soumis au test HI (test d'inhibition de l'hémagglutination) décrit au point 2 ci-dessous.

**2. Méthode**

- a) Distribuer 0,025 ml de PBS dans tous les puits d'une microplaque plastique (puits à fond en V).
- b) Verser 0,025 ml de sérum dans le premier puits de la plaque.
- c) Utiliser un microdilueur pour réaliser les dilutions doubles de sérum de puits en puits.
- d) Ajouter 0,025 ml de liquide allantoïdien dilué contenant 4 ou 8 unités hémagglutinantes.
- e) Mélanger en tapotant doucement et laisser reposer la plaque à 4 °C pendant un minimum de 60 minutes ou à la température ambiante pendant un minimum de 30 minutes.
- f) Ajouter 0,025 ml d'hématies à 1 % dans tous les puits.
- g) Mélanger en tapotant doucement et laisser reposer à 4 °C.
- h) Lire les plaques après 30 à 40 minutes lorsque la sédimentation des hématies témoins est terminée. Lire en inclinant la plaque pour observer la présence ou l'absence d'un flux en forme de larme s'écoulant au même rythme que les puits témoins contenant des hématies (0,025 ml) et du PBS (0,025 ml) uniquement.
- i) Le titre HI correspond à la dilution la plus élevée d'antisérum entraînant une inhibition complète de 4 à 8 unités du virus (le titrage du HA pour confirmer la présence du nombre requis d'unités hémagglutinantes doit être inclus pour chaque test HI).
- j) La validité des résultats dépend de l'obtention d'un titre inférieur à 2<sup>3</sup> pour 4 unités hémagglutinantes ou 2<sup>2</sup> pour 8 unités hémagglutinantes avec le sérum témoin négatif et d'un titre d'une dilution immédiatement supérieure ou immédiatement inférieure au titre connu du sérum témoin positif.

**3. Interprétation des tests**

L'antigène utilisé influence la détermination du niveau auquel un sérum est considéré comme positif (un titre d'au moins 2<sup>4</sup> pour 4 unités hémagglutinantes et d'au moins 2<sup>3</sup> pour 8 unités hémagglutinantes).

## ANNEXE II

## Isolement du virus de la maladie de Newcastle chez les volailles d'abattage

Les volailles soumises aux conditions reprises dans cette annexe doivent provenir de troupeaux ayant réagi négativement (aucun virus isolé) aux tests de détection du virus de la maladie de Newcastle réalisés comme suit :

1. *Échantillonnage*

Au moins 60 échantillons comprenant des écouvillonnages cloacaux (ou fèces) doivent être prélevés dans chaque troupeau.

2. *Traitement des échantillons*

Les échantillons peuvent être groupés par 5 au maximum. Les écouvillonnages doivent être placés dans une quantité de milieu antibiotique suffisante pour assurer leur immersion totale. Les échantillons de fèces doivent être homogénéisés (à l'aide d'un mélangeur fermé, d'un pilon et d'un mortier et de sable stérile) dans un milieu antibiotique jusqu'à l'obtention de suspensions à 10-20 % p/v dans ce dernier. Laisser reposer les suspensions pendant 2 heures environ à la température ambiante (ou plus longtemps à 4 °C), puis les clarifier par centrifugation (par exemple, 800 à 1 000 × g pendant 10 minutes).

Des concentrations élevées d'antibiotiques sont nécessaires pour les échantillons de fèces. Un mélange typique est constitué comme suit : 10 000 unités/ml de pénicilline, 10 mg/ml de streptomycine, 0,25 mg/ml de gentamycine et 5 000 unités/ml de mycostatine dans une solution tamponnée au phosphate. Pour le contrôle des *Chlamydia*, l'addition de 50 mg/ml d'oxytétracycline est autorisée. Lors de la confection du milieu, il est impératif que le pH soit contrôlé après addition des antibiotiques et ajusté pour atteindre un niveau compris entre 7,0 et 7,4.

3. *Isolement du virus dans les œufs embryonnés de poules*

Inoculer entre 0,1 et 0,2 millilitre du surnageant clarifié dans la cavité allantoïdienne d'au moins 4 œufs embryonnés de poules, mis à incuber pendant 8 à 10 jours. Idéalement, ces œufs devraient être issus d'un troupeau exempt d'organes pathogènes spécifiques (EOPS) mais si cela n'est pas possible, il est admis d'utiliser des œufs issus d'un troupeau reconnu exempt d'anticorps du virus de la maladie de Newcastle. Les œufs inoculés sont conservés à 37 °C et mirés quotidiennement. Au fur et à mesure, les œufs contenant des embryons morts ou mourants et tous les œufs restant après six jours d'inoculation doivent être réfrigérés à 4 °C et faire l'objet d'une recherche d'hémagglutinines à partir du liquide allantoïdien/amniotique. En l'absence d'hémagglutination, la procédure ci-dessus est répétée en utilisant comme *inoculum* le liquide allantoïdien/amniotique non dilué.

Lorsqu'il y a hémagglutination, la présence de bactéries doit être exclue par culture. S'il y a des bactéries, il est admis de passer les liquides par un filtre à membrane de 450 nm, d'ajouter un complément d'antibiotiques et d'inoculer les œufs embryonnés comme ci-dessus.