

**DÉCISION DE LA COMMISSION**  
**du 26 mai 2003**  
**portant approbation du manuel de diagnostic de la peste porcine africaine**

[notifiée sous le numéro C(2003) 1696]

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

(2003/422/CE)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté européenne,

vu la directive 2002/60/CE du Conseil du 27 juin 2002 établissant des dispositions spécifiques pour la lutte contre la peste porcine africaine et modifiant la directive 92/119/CEE, en ce qui concerne la maladie de Teschen et la peste porcine africaine <sup>(1)</sup>, et notamment son article 18, paragraphe 3,

considérant ce qui suit:

- (1) Il est nécessaire, en application de la directive 2002/60/CE, d'établir des procédures de diagnostic, des méthodes d'échantillonnage et des critères uniformes pour l'évaluation des résultats des tests de laboratoire destinés à confirmer la peste porcine africaine.
- (2) Conformément à cette directive, le laboratoire communautaire de référence pour la peste porcine africaine a pour tâche de coordonner, en consultation avec la Commission, les méthodes employées dans les États membres pour diagnostiquer la maladie, notamment en organisant des tests comparatifs périodiques et en fournissant des réactifs types à l'échelle communautaire.
- (3) Le virus de la peste porcine africaine n'est pas réputé dangereux pour la santé humaine.
- (4) Des tests de laboratoire ont été mis au point pour assurer un diagnostic rapide de la peste porcine africaine.
- (5) L'expérience acquise ces dernières années dans la lutte contre la peste porcine africaine 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) C'est pourquoi il convient d'approuver le manuel établissant ces procédures et critères.
- (7) Il convient d'autoriser les laboratoires de diagnostic nationaux à modifier les tests de laboratoire agréés ou à utiliser des tests différents, à condition qu'une sensibilité et une spécificité équivalentes soient démontrées.
- (8) Les mesures prévues par la présente décision sont conformes à l'avis du comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DÉCISION:

*Article premier*

1. Le manuel du diagnostic de la peste porcine africaine figurant à l'annexe est approuvé.
2. Les États membres veillent à ce que la confirmation de la peste porcine africaine se fasse conformément aux procédures, méthodes d'échantillonnage et critères pour l'évaluation des résultats des tests de laboratoire décrits dans le manuel et fondés 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.
3. Par dérogation au paragraphe 2, les laboratoires de diagnostic nationaux visés à l'annexe IV de la directive 2002/60/CE peuvent apporter des modifications aux tests de laboratoire mentionnés dans le manuel ou utiliser des tests différents, à condition qu'une sensibilité et une spécificité équivalentes soient démontrées.

En cas d'utilisation de tests modifiés ou différents, la sensibilité et la spécificité de ceux-ci doivent être évaluées dans le cadre de tests comparatifs périodiques organisés par le laboratoire communautaire de référence pour la peste porcine africaine.

*Article 2*

La présente décision s'applique à compter du 1<sup>er</sup> juillet 2003.

*Article 3*

Les États membres sont destinataires de la présente décision.

Fait à Bruxelles, le 26 mai 2003.

*Par la Commission*

David BYRNE

*Membre de la Commission*

<sup>(1)</sup> JO L 192 du 20.7.2002, p. 27.

## ANNEXE

## MANUEL DU DIAGNOSTIC DE LA PESTE PORCINE AFRICAINE

## Chapitre I

**Introduction, objectifs et définitions**

1. Pour garantir l'application de procédures uniformes de diagnostic de la peste porcine africaine, 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 africaine <sup>(1)</sup>;
  - b) fixe les exigences minimales en matière de sécurité biologique et de normes de qualité à respecter par les laboratoires diagnostiquant la peste porcine africaine et lors du transport des échantillons;
  - c) définit les tests de laboratoire à effectuer pour diagnostiquer la peste porcine africaine et les techniques de laboratoire à utiliser pour le typage génétique des isolats de virus de la peste porcine africaine.
2. Le présent manuel a été principalement conçu à l'intention des autorités compétentes en matière de lutte contre la peste porcine africaine. C'est pourquoi 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 2002/60/CE, on entend par:
  - a) «exploitation suspecte»: toute exploitation comptant un ou plusieurs porcs suspects d'être infectés par le virus de la peste porcine africaine ou une exploitation contact au sens de l'article 2, point k) de la directive 2002/60/CE;
  - b) «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;
  - c) «porcs environnants»: les porcs d'une exploitation détenus, au cours des vingt- et-un derniers jours, en contact direct avec un ou plusieurs porcs suspects d'être infectés par le virus de la peste porcine africaine.

## Chapitre II

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

## A. INTRODUCTION

1. La peste porcine africaine est provoquée par un virus ADN à enveloppe appartenant au genre *Asfivirus* de la famille des *Asfarviridae*. La virulence du virus de la peste porcine africaine varie en fonction des souches, bien qu'il ne soit pas possible d'identifier des sérotypes différents.
2. Le virus de la peste porcine africaine est très stable dans les excréments des porcs infectés, dans les carcasses de porc, dans les viandes fraîches de porc et dans certains produits à base de viande de porc. Des désinfectants appropriés doivent être utilisés afin d'assurer son inactivation dans l'environnement.
3. En Europe, la principale voie naturelle d'infection des porcs 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. Toutefois, dans les régions où il existe des vecteurs <sup>(2)</sup>, la transmission par ces derniers joue un rôle très important dans la persistance et la propagation du virus. La peste porcine africaine peut également se propager par contact indirect avec des matières contaminées et par des insectes piqueurs, vecteurs du virus de la peste porcine africaine. La transmission de la maladie peut aussi se faire par du sperme provenant de verrats infectés.
4. La période d'incubation chez les individus est comprise entre cinq et quinze jours, mais, dans les conditions réelles, il se peut que les symptômes cliniques n'apparaissent dans une exploitation que plusieurs semaines après l'introduction du virus, voire davantage, si la souche virale est atténuée.

<sup>(1)</sup> 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.

<sup>(2)</sup> Définis à l'article 2, point r), de la directive 2002/60/CE.

5. Il existe des formes aiguës, subaiguës et chroniques de la peste porcine africaine, la différence résidant essentiellement dans la virulence du virus.
6. La virémie persiste de quarante à soixante jours chez les porcs convalescents après infection, qui deviennent des vecteurs du virus. Le virus de la peste porcine africaine a été isolé sur des porcs infectés jusqu'à six mois après l'infection.

#### B. FORME AIGUË

1. L'apparition d'une forte fièvre (plus de 40 °C) est généralement le premier signe clinique de la maladie, qui s'accompagne des symptômes suivants: dépression, inappétence, respiration rapide et difficile, écoulements nasaux et oculaires. Les porcs présentent des troubles de la coordination et se blottissent les uns contre les autres. Il existe un risque d'avortement des truies à n'importe quel stade de la gestation. Certains porcs souffrent de vomissements ou de constipation, tandis que d'autres présentent des diarrhées sanglantes. Des zones congestionnées ou hémorragiques sous-cutanées apparaissent, en particulier aux extrémités et aux oreilles. Un coma, qui survient un à sept jours après l'apparition des signes cliniques, peut précéder la mort de l'animal. Les taux de morbidité et de mortalité dans une exploitation peuvent atteindre 100 %.

Les examens post mortem révèlent un syndrome hémorragique typique, avec congestion généralisée de la carcasse, liquides sanglants dans le thorax et les cavités abdominales, rate noire et dilatée, hémorragie dans les ganglions lymphatiques (en particulier dans les ganglions lymphatiques rénaux et gastrohépatiques) qui ressemblent à des caillots de sang, hémorragies pétéchiales dans les reins (cortex, substance médullaire et bassin), les séreuses abdominales, les muqueuses gastriques et intestinales, le cœur (épicaire et endocarde), ainsi qu'hydrothorax et hémorragies pétéchiales de la plèvre.

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

La présence de peste porcine africaine 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.

#### C. FORMES SUBAIGUËS

Les formes subaiguës de la maladie sont plus courantes dans les régions où elle est endémique. L'infection subaiguë se caractérise par les symptômes suivants: accès de fièvre variable, dépression et pneumonie. Une défaillance cardiaque peut entraîner la mort de l'animal. Dans la forme subaiguë de la maladie, les lésions sont similaires à celles qui sont observées dans la forme aiguë mais elles sont atténuées. Il s'agit essentiellement d'importantes hémorragies dans les ganglions lymphatiques, les reins et la rate, de congestion et d'œdème pulmonaires et, dans certains cas, de pneumonie interstitielle.

#### D. FORMES CHRONIQUES

Les formes chroniques de la maladie sont rares. Lorsqu'elles se présentent, on peut observer des infections bactériennes secondaires. Les signes cliniques de la peste porcine africaine 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 une partie au moins des porcs d'une exploitation contaminée aura de la fièvre.

Les symptômes cliniques de la peste porcine africaine peuvent inclure des problèmes respiratoires, des avortements, de l'arthrite, des ulcères dermiques ou nécroses chroniques, qui ne ressemblent pas aux symptômes cliniques typiques des infections dues au virus de la peste porcine africaine. Les lésions peuvent être minimes, voire absentes. Les observations histopathologiques se caractérisent par une dilatation des ganglions lymphatiques et de la rate, une pleurite et une péricardite fibrineuse, ainsi que par une infiltration pneumonique. Une nécrose caséuse focale et une minéralisation du poumon ont également été décrites.

### Chapitre III

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

1. Une exploitation sera considérée comme suspecte sur la base des constatations, critères et 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 chez les porcs de tous âges,
    - fièvre accompagnée d'un syndrome hémorragique; pétéchies et hémorragies ecchymotiques, notamment dans les ganglions lymphatiques, les reins et la rate (qui est dilatée et noire, en particulier dans la forme aiguë de la maladie), ainsi que dans la vessie, et ulcérations de la vésicule biliaire,

- 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 africaine a été démontrée,
  - exploitation ayant livré des porcs qui se sont ensuite révélés contaminés par le virus de la peste porcine africaine,
  - 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 il y a des cas de peste porcine africaine,
  - porcs détenus en plein air dans une zone où les porcs sauvages sont contaminés par la peste porcine africaine,
  - 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 africaine,
  - une exposition éventuelle due notamment à l'entrée dans l'exploitation ou dans le moyen de transport de personnes venant d'exploitations suspectes d'être infectées ou infectées par le virus de la fièvre porcine africaine,
  - les vecteurs se trouvent sur le territoire de l'exploitation.
2. En tout état de cause, une exploitation doit être considérée comme suspecte s'il existe une suspicion de peste porcine classique dans l'exploitation en raison de résultats cliniques ou pathologiques mais qu'aucune investigation clinique, épidémiologique ou de laboratoire n'a mené à la confirmation de cette maladie ou à l'identification d'autres sources ou agents de la maladie dans l'exploitation concernée.

#### 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 la présence de peste porcine africaine, conformément aux orientations et procédures définies aux points 2 à 6.

Indépendamment de l'adoption des mesures visées à l'article 4, paragraphe 2, de la directive 2002/60/CE dans l'exploitation en cause, ces orientations et procédures s'appliquent également à toutes les pathologies pour lesquelles le diagnostic différentiel envisage l'éventualité de la peste porcine africaine. 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 de présence de peste porcine africaine.

Dans tous les autres cas de suspicion de contamination par le virus de la peste porcine africaine chez un ou plusieurs porcs, les mesures visées à l'article 4, paragraphe 2, de la directive 2002/60/CE seront adoptées dans l'exploitation suspecte en cause.

En cas de suspicion de peste porcine africaine sur des porcs à l'abattoir ou dans les moyens de transport, les orientations et procédures définies aux points 2 à 6 s'appliquent mutatis mutandis.

2. Lorsqu'un vétérinaire officiel visite une exploitation suspecte en vue de confirmer ou d'écarter la présence de la peste porcine africaine, il y a lieu de:
- vérifier les registres de production et de l'état sanitaire de l'exploitation, pour autant qu'ils soient disponibles, de 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 groupes de porcs suivants:

- porcs malades ou anorexiques,
- 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 africaine ou qui ont été reconnus avoir eu des contacts particulièrement risqués avec une source potentielle de virus de la peste africaine,
- porcs déjà soumis à échantillonnage et aux tests sérologiques de dépistage de la peste porcine africaine, dans le cas où les résultats des tests ne permettent pas d'écarter la présence de la peste porcine africaine, ainsi que les porcs environnants,
- porcs qui se sont rétablis récemment.

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 2002/60/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 appliquées à titre d'orientation, ou que
- les mesures définies à l'article 4, paragraphe 2, de la directive 2002/60/CE soient adoptées ou maintenues, en attendant les investigations supplémentaires à mener dans l'exploitation en cause, ou que
- la suspicion de peste porcine africaine soit écartée.

3. Lorsqu'il est fait référence au présent paragraphe, 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 africaine a été constaté ou dans celles où la présence du virus est suspectée.

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

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:
- présentaient des signes très clairs de la maladie avant leur mort,
  - avaient une température très élevée,
  - sont morts récemment.

Si ces examens n'ont pas révélé de lésion laissant présager l'apparition de la peste porcine africaine, mais qu'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 un examen post mortem sur trois ou quatre porcs environnants, en particulier si ces porcs présentent des signes cliniques.

Indépendamment de la présence ou de l'absence de lésions laissant présager l'apparition de la peste porcine africaine, des échantillons d'organes ou de tissus de porcs ayant fait l'objet d'un 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 mesures d'hygiène nécessaires soient prises pour éviter toute propagation de la maladie, et
- que, dans le cas de porcs moribonds, la mise à mort se fasse de manière humaine, conformément à la directive 93/119/CEE du Conseil du 22 décembre 1993 sur la protection des animaux au moment de leur abattage ou de leur mise à mort <sup>(1)</sup>, modifiée par le règlement (CE) n° 806/2003 <sup>(2)</sup>.

5. Si d'autres signes cliniques ou lésions pouvant laisser présager l'apparition de la peste porcine africaine 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 africaine 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:

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

<sup>(1)</sup> JO L 340 du 31.12.1993, p. 21.

<sup>(2)</sup> JO L 122 du 16.5.2003, p. 1.

6. 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 africaine, mais que des tests de laboratoire supplémentaires sont jugés nécessaires par l'autorité compétente pour écarter toute probabilité de peste porcine africaine, les procédures d'échantillonnage susvisées 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. Afin d'établir les circonstances de l'introduction du virus de la peste porcine africaine 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 2002/60/CE, des échantillons sanguins destinés aux tests sérologiques seront prélevés, de manière aléatoire, 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 <sup>(1)</sup>.

Des échantillons devront 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.

Dans les cas où la présence de vecteurs infectés par le virus de la peste porcine africaine a été antérieurement démontrée, il faut également prélever les échantillons adéquats d'argasidés aux fins des tests virologiques en conformité avec les instructions de l'autorité compétente et avec l'annexe III de la directive 2002/60/CE.

3. Toutefois, en cas d'apparition de foyers secondaires, l'autorité compétente peut décider de déroger aux points 1 et 2 et établir d'autres procédures d'échantillonnage, 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 africaine 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 de l'article 4, paragraphe 3, point a), ou de l'article 7, paragraphe 2, de la directive 2002/60/CE, des échantillons sanguins destinés aux tests sérologiques et 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 africaine, ainsi que les porcs environnants,
  - 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 africaine. L'échantillonnage des porcs doit être effectué conformément aux instructions de l'autorité compétente, qui tiendront compte de la situation épidémiologique.

De plus, les porcs provenant de chacune des sous-unités de l'exploitation doivent faire l'objet d'un échantillonnage aléatoire <sup>(2)</sup>. 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.

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.

<sup>(1)</sup> Toutefois, en cas de recours à la dérogation visée à l'article 6, paragraphe 1, de la directive 2002/60/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.

<sup>(2)</sup> 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 africaine, conformément à l'article 4, paragraphe 3, point a) de la directive 2002/60/CE, l'échantillonnage doit concerner les sous-unités de l'exploitation où la mesure a été appliquée, sans préjudice des examens et échantillonnages supplémentaires à pratiquer sur les porcs restants de l'exploitation, qui seront effectués en conformité avec les instructions de l'autorité compétente.

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 (ARTICLES 10 ET 11 DE LA DIRECTIVE 2002/60/CE)

1. Sans préjudice des dispositions de l'article 11, paragraphe 1, point f), deuxième alinéa, de la directive 2002/60/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 vingt-quatre heures précédant le déplacement des porcs,
  - être conforme aux dispositions définies dans la partie A, point 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, y compris la mesure de la température d'un certain nombre d'entre eux, dans chaque sous-unité de l'exploitation où sont détenus les porcs à transporter.

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

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 aux 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 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, dans la sous-unité en cause, une prévalence de 20 % de la maladie, le cas échéant, avec un niveau de fiabilité de 95 %.

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'organes, tels que les amygdales, la rate ou les ganglions lymphatiques, 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.

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 africaine sont détectés au moment de l'abattage ou de la mise à mort des porcs, par dérogation au point 4, les dispositions relatives à l'échantillonnage définies dans la partie C s'appliquent.
6. La dérogation prévue à l'article 10, paragraphe 5, et à l'article 11, paragraphe 4, de la directive 2002/60/CE peut être accordée à condition que les autorités compétentes veillent à ce qu'un programme intensif de prélèvements d'échantillons et de tests soit également appliqué sur les groupes de porcs, susvisés aux paragraphes 2, 3 et 4, qui doivent faire l'objet de contrôles ou sur lesquels des échantillons doivent être prélevés. Dans le cadre de ce programme, le nombre minimal d'échantillons de sang à prélever doit permettre de détecter une séroprévalence de 5 % avec un niveau de fiabilité de 95 % dans le groupe de porcs en cause.

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 3, de la directive 2002/60/CE, la procédure d'échantillonnage suivante doit être appliquée:
  - des échantillons de sang doivent être prélevés au plus tôt quarante-cinq jours après la réintroduction des porcs,
  - en cas de réintroduction de porcs sentinelles, des échantillons de sang destinés aux tests sérologiques doivent être prélevés, de manière aléatoire, 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 complet, des échantillons de sang destinés aux tests sérologiques doivent être prélevés, de manière aléatoire, 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.

2. En cas de réintroduction de porcs dans une exploitation conformément à l'article 13, paragraphe 4, de la directive 2002/60/CE, la procédure d'échantillonnage suivante doit être appliquée:
  - des échantillons de sang doivent être prélevés au plus tôt quarante-cinq jours après la réintroduction des porcs,
  - en cas de réintroduction de porcs sentinelles, des échantillons de sang destinés aux tests sérologiques doivent être prélevés, de manière aléatoire, sur un nombre de porcs permettant de détecter une séroprévalence de 5 % avec un niveau de fiabilité de 95 % dans chaque sous-unité de l'exploitation,
  - en cas de repeuplement complet, des échantillons de sang destinés aux tests sérologiques doivent être prélevés, de manière aléatoire, 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.

La procédure visée au troisième tiret doit ensuite être répétée au plus tôt soixante jours après le repeuplement complet.

3. Après la réintroduction des porcs, l'autorité compétente fait en sorte qu'en cas d'apparition d'une maladie ou de décès sans cause connue chez les porcs de l'exploitation, les porcs en cause fassent immédiatement l'objet d'un dépistage de la peste porcine africaine.

Ces dispositions s'appliquent tant que les restrictions visées à l'article 13, paragraphe 3, points a) et b), et à l'article 13, paragraphe 4, de la directive 2002/60/CE ne sont pas levées dans l'exploitation en cause.

#### F. PROCÉDURES D'ÉCHANTILLONNAGE DANS LES EXPLOITATIONS SITUÉES 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 2002/60/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 ci-dessous.
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, la dérogation prévue à l'article 10, paragraphe 5, et à l'article 11, paragraphe 4, de la directive 2002/60/CE ne peut être accordée que si l'autorité compétente veille à ce que le nombre d'échantillons prélevés permette de détecter une séroprévalence de 5 % avec un niveau de fiabilité de 95 % dans la sous-unité en cause.

#### G. PROCÉDURES D'ÉCHANTILLONNAGE DANS LES EXPLOITATIONS SITUÉES DANS LA ZONE DE PROTECTION AVANT LA LEVÉE DES RESTRICTIONS

1. Pour permettre la levée des restrictions visées à l'article 11 de la directive 2002/60/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:

- 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, première phrase.

Toutefois, la dérogation prévue à l'article 10, paragraphe 5, et à l'article 11, paragraphe 4, de la directive 2002/60/CE ne peut être accordée que si l'autorité compétente veille à ce que des échantillons sanguins soient prélevés aux fins des tests sérologiques dans chacune des exploitations situées dans la zone en cause. Le nombre minimal d'échantillons sanguins à prélever doit permettre de détecter une séroprévalence de 5 % avec un niveau de fiabilité de 95 % chez les porcs de chaque sous-unité de l'exploitation.

#### H. PROCÉDURES DE SÉROSURVEILLANCE ET D'ÉCHANTILLONNAGE DANS DES ZONES OÙ LA PRÉSENCE DE LA PESTE PORCINE AFRICAINE EST SOUPÇONNÉE OU A ÉTÉ CONFIRMÉE CHEZ LES PORCS SAUVAGES

1. Dans le cas d'une séro-surveillance des porcs sauvages d'une zone où la présence de la peste porcine africaine 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 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 efficaces pour empêcher 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 km<sup>2</sup> environ, pouvant héberger généralement une population de 400 à 1 000 porcs sauvages environ.
3. Sans préjudice des dispositions de l'article 15, paragraphe 2, point c), de la directive 2002/60/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 cinquante-six animaux dans chacune des aires délimitées.
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 moins d'un an.

5. Tous les échantillons à envoyer au laboratoire doivent être accompagnés par le questionnaire visé à l'article 16, paragraphe 3, point h), de la directive 2002/60/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. Tous les échantillons doivent être envoyés au laboratoire accompagnés de formulaires appropriés, conformément aux prescriptions établies par l'autorité compétente. Les formulaires mentionneront les 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, des ganglions lymphatiques (gastrohépatiques, rénaux, sous-maxillaires, et rétropharyngiens), de la rate, des reins et des poumons de porcs morts ou euthanasiés constituent les échantillons les plus adaptés pour détecter le virus, l'antigène ou le génome de la peste porcine africaine<sup>(1)</sup>. Lorsque les carcasses sont autolysées, un os long entier ou le sternum est l'échantillon idéal.
2. Des échantillons de sang anticoagulé et/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.

<sup>(1)</sup> Il est recommandé de prélever également des échantillons d'iléon, qui peuvent être utiles pour diagnostiquer la fièvre porcine classique.

### C. TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS

1. Il est recommandé que tous les échantillons:
  - soient correctement identifiés,
  - soient transportés et entreposés dans des récipients étanches,
  - soient conservés au frais, à température de réfrigération. Toutefois, s'il est prévu qu'il faut plus de quarante-huit heures pour que les échantillons arrivent au laboratoire, le laboratoire doit être contacté afin de fournir des instructions relatives aux conditions de température les plus appropriées pour le transport,
  - soient livrés au laboratoire aussi rapidement que possible,
  - soient conservés dans des emballages contenant des sacs de glace ou de la neige carbonique pour assurer la réfrigération,
  - de tissus ou d'organes soient placés dans des conteneurs individuels en plastique hermétiquement fermés et dûment étiquetés. Ils seront ensuite placés dans des conteneurs plus grands 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 une personne compétente 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, ne pas ouvrir en dehors d'un laboratoire compétent pour la peste porcine africaine.
3. La personne compétente dans le laboratoire destinataire des échantillons doit être informée en temps opportun de l'arrivée des échantillons.
4. Lorsque les échantillons sont expédiés par voie aérienne au laboratoire communautaire de référence pour la peste porcine africaine <sup>(1)</sup>, l'emballage doit être étiqueté conformément aux règlements de l'Association transport aérien international (AITA).

### Chapitre VI

#### **Principes et utilisation des tests virologiques et évaluation de leurs résultats**

### A. DÉTECTION DE L'ANTIGÈNE DU VIRUS

#### 1. Test d'immunofluorescence directe

Le principe du test est la détection microscopique d'antigènes viraux sur des frottis d'empreinte ou sur de fines coupes cryogéniques de matériel organique provenant de porcs suspect d'être infectés par le virus de la peste porcine africaine. Les antigènes intracellulaires sont détectés à l'aide d'un anticorps spécifique conjugué FIT <sup>(2)</sup>. Des inclusions cellulaires ou des granules fluorescents apparaissent dans le cytoplasme des cellules infectées.

Les organes adéquats sont les reins, la rate, ainsi que plusieurs ganglions lymphatiques. Pour les porcs sauvages, on peut également utiliser un frottis de moelle osseuse lorsque leurs organes ne sont pas disponibles ou sont autolysés.

Le test peut s'effectuer en l'espace de deux heures. Les échantillons d'organes ne pouvant être prélevés que sur des animaux morts, leur utilisation à des fins de dépistage est limitée.

Il s'agit d'un test extrêmement sensible à utiliser pour les cas de peste porcine africaine dans sa forme aiguë. En ce qui concerne les formes subaiguë ou chronique, la sensibilité du test d'immunofluorescence directe n'est que de 40 % environ, probablement en raison de la présence de complexes antigènes-anticorps qui bloquent la réaction avec l'anticorps conjugué de la peste porcine africaine. 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. ELISA pour la détection de l'antigène

L'antigène viral peut également être détecté à l'aide des techniques ELISA, mais ce test n'est recommandé que pour les formes aiguës de la maladie en raison de sa faible sensibilité en présence de complexes antigènes-anticorps. La sensibilité de l'antigène ELISA devrait être suffisante pour obtenir un résultat positif chez des animaux présentant des signes cliniques de la forme aiguë de la peste porcine africaine. En tout état de cause, il est recommandé de n'utiliser ce test que comme «test du troupeau» et de l'utiliser en conjonction avec d'autres tests virologiques.

<sup>(1)</sup> Le laboratoire communautaire de référence dispose d'une autorisation illimitée de recevoir des échantillons diagnostiques et des isolats de virus de la peste porcine africaine provenant de n'importe quel État membre. Si l'échantillon provient de l'extérieur de l'Union européenne, 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.

<sup>(2)</sup> Isothiocyanate de fluorescéine.

**B. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DU VIRUS GRÂCE AU TEST D'HÉMADSORPTION**

1. L'isolement du virus est fondé sur l'inoculation de matériel de l'échantillon sur des cultures cellulaires primaires et sensibles d'origine porcine, ainsi que sur des cellules monocytes et macrophages. Les meilleurs échantillons pour la technique d'isolement du virus de la peste porcine africaine sont les leucocytes et le sang total prélevés sur des échantillons de sang non coagulé ou les organes visés dans la partie A, point 1. Si le virus de la peste porcine africaine est présent dans l'échantillon, il se reproduira dans les cellules et un effet cytopathique caractéristique se produira dans les cellules infectées.
2. Le test d'hémadsorption est recommandé pour l'identification des isolats de virus de la peste porcine africaine en raison de sa sensibilité et de sa spécificité élevées. Le test d'hémadsorption repose sur la capacité du virus de la peste porcine africaine à se reproduire dans des macrophages de porc et d'induire l'hémadsorption en présence des érythrocytes de porc. Une rosette d'érythrocytes caractéristique se développe autour des macrophages infectés. Toutefois, un petit nombre de souches virales et sauvages de peste porcine africaine ne peut pas induire l'hémadsorption mais peut produire un effet cytopathique. Ces souches peuvent être identifiées de manière spécifique à l'aide du test d'immunofluorescence directe sur les sédiments de cultures cellulaires ou par amplification en chaîne par polymérase (PCR).
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 les résultats ne sont connus qu'un à trois jours plus tard. 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. L'isolement du virus et son identification par le test d'hémadsorption sont recommandés comme test de référence pour obtenir confirmation des résultats positifs d'un ELISA, d'un PCR ou d'un test d'immunofluorescence directe antérieur. Ils sont également recommandés lorsque la peste porcine africaine a déjà été confirmée par d'autres méthodes, en particulier en cas de foyer primaire ou en cas de peste porcine africaine.

Les virus isolés dans des macrophages de porcs peuvent servir à la caractérisation du virus et à l'épidémiologie moléculaire.

5. Tous les isolats de virus de la peste porcine africaine 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'une caractérisation par un laboratoire national de référence dans les États membres, par tout autre laboratoire agréé par l'État membre concerné ou par le laboratoire communautaire de référence, conformément à la partie 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 réaction en chaîne de la polymérase (PCR) sert à détecter le génome du virus dans les échantillons de sang, de sérum, de tissus ou d'organes. Les petits fragments d'ADN viral sont amplifiés par la PCR en quantités détectables. Il est possible de détecter une large gamme d'isolats appartenant à tous les génotypes de virus connus, tant des virus non-hémadsorbants que des isolats de faible virulence, en utilisant les amorces d'une zone du génome bien conservée. Ce test ne décelant qu'une séquence du génome du virus, la PCR peut donner un résultat positif même lorsque le virus infectieux n'est pas détecté par isolement (par exemple, dans les tissus autolysés ou les échantillons de porcs convalescents qui se sont rétablis et sont devenus normaux sur le plan clinique).
2. La PCR peut être utilisée sur un petit nombre d'échantillons soigneusement sélectionnés sur des animaux suspects. Cette méthode est recommandée pour les échantillons d'organes qui sont cytotoxiques, l'isolement du virus étant dès lors impossible (échantillons de porcs sauvages notamment).
3. Le matériel qui se prête à la PCR est composé d'échantillons des organes mentionnés pour l'isolement du virus ou de sérum. Les homogénats de tissus peuvent également être analysés par PCR.
4. Le test peut s'effectuer en l'espace d'un jour. Il nécessite un équipement de laboratoire approprié, des locaux séparés et un personnel qualifié. Un de ses avantages réside dans le fait que le virus infectieux ne doit pas être reproduit en laboratoire. La PCR est très sensible, mais une contamination peut 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 qualité.

#### D. TESTS VIROLOGIQUES RECOMMANDÉS ET ÉVALUATION DES RÉSULTATS

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

L'isolement du virus et le test d'hémadsorption sont à considérer comme les tests virologiques de référence et doivent être utilisés comme tests de confirmation s'il y a lieu. Leur utilisation est particulièrement recommandée lorsque des résultats positifs des tests d'immunofluorescence directe ou d'amplification en chaîne par polymérase 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 africaine peut être confirmé si des signes cliniques ou des lésions de la maladie ont été décelés sur les porcs en cause et sur des échantillons et si au moins deux tests différents de détection de l'antigène, du génome ou de l'anticorps ont donné un résultat positif sur des échantillons prélevés sur ces mêmes porcs suspects.

Un foyer secondaire de peste porcine africaine 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, du génome ou de l'anticorps a donné un résultat positif.

L'apparition d'un cas primaire de peste porcine africaine chez les porcs sauvages peut être confirmée après l'isolement du virus ou si au moins deux tests de détection de l'antigène, du génome ou de l'anticorps ont donné un résultat positif. D'autres cas de peste porcine africaine 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, du génome ou de l'anticorps a donné un résultat positif.

#### E. CARACTÉRISATION GÉNÉTIQUE DES ISOLATS DU VIRUS DE LA PESTE PORCINE AFRICAINE

1. La caractérisation génétique de l'isolat du virus de la peste porcine africaine s'obtient par la détermination des profils de restriction enzymatique et des séquences nucléotides de parties du génome du virus. La similarité entre ces profils de restrictions ou ces séquences et ceux déjà obtenus à partir d'isolats antérieurs du virus peut indiquer si les foyers de la maladie sont causés par des virus qui suivent un modèle moléculaire européen ou africain.

La caractérisation génétique des isolats du virus de la peste porcine africaine est extrêmement importante étant donné qu'elle améliorera les connaissances actuelles sur l'épidémiologie moléculaire de la peste porcine africaine et sur la variation génétique des virus. Les données moléculaires permettent de classer les nouveaux isolats et fournissent des informations sur leur origine possible.

2. Si la caractérisation moléculaire du virus ne peut pas être effectuée dans un laboratoire national ou dans tout autre laboratoire autorisé à diagnostiquer la peste porcine africaine à bref délai, l'échantillon original de l'isolat de virus doit être transmis au laboratoire communautaire de référence pour que la caractérisation soit réalisée dans les meilleurs délais.

Les données relatives à l'analyse de restriction enzymatique et au séquençage des isolats du virus de la peste porcine africaine dont disposent les laboratoires autorisés à diagnostiquer la peste porcine africaine 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 nationaux de référence 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.

### Chapitre VII

#### *Principes et utilisation des tests sérologiques et évaluation de leurs résultats*

#### A. PRINCIPES FONDAMENTAUX ET VALEUR DIAGNOSTIQUE

1. La détection d'anticorps spécifiques à la peste porcine africaine est recommandée pour les formes subaiguë et chronique de la maladie, ainsi que pour les tests à grande échelle et pour les programmes d'éradication de la peste porcine africaine, pour plusieurs raisons:

- i) les anticorps sont produits rapidement dans les porcs infectés. Dans ces porcs, les anticorps sont généralement détectables dans des échantillons de sérum prélevés de sept à dix jours après l'infection;
- ii) il n'existe aucun vaccin contre la peste porcine africaine. Cela signifie que les anticorps spécifiques à la peste porcine africaine ne sont produits qu'après infection par le virus de la peste porcine africaine, et
- iii) la persistance d'anticorps. Chez les porcs guéris, des anticorps spécifiques peuvent être détectés à un niveau élevé pendant plusieurs mois, voire tout au long de la vie de certains d'entre eux.

Des anticorps spécifiques à la peste porcine africaine d'origine maternelle peuvent être détectés au cours des dix premières semaines de la vie des porcelets. La demi-vie des anticorps maternels chez les porcelets est d'environ trois semaines. S'ils sont décelés sur des porcelets de plus de trois mois, il est peu probable que les anticorps de la peste porcine africaine soient d'origine maternelle.

2. La détection d'anticorps contre le virus de la peste porcine classique dans des exsudats de sérum ou de plasma d'organes présentés sert à conforter le diagnostic de peste porcine africaine dans des exploitations suspectes, à établir la date d'introduction de l'infection en cas de foyer confirmé et à mettre en œuvre des mesures de suivi et de surveillance.

La localisation des porcs séropositifs dans l'exploitation peut fournir des informations utiles sur la manière dont le virus de la peste porcine africaine s'est introduit dans l'exploitation.

Il faut toutefois procéder à une évaluation précise des résultats des tests sérologiques en tenant compte de tous les 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 africaine, conformément à l'article 8 de la directive 2002/60/CE.

#### B. TESTS SÉROLOGIQUES RECOMMANDÉS

1. Le test ELISA, le test d'immunofluorescence indirecte et le test basé sur la technique du Western blot sont les meilleurs tests pour obtenir une confirmation sérologique de la peste porcine africaine.

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 test ELISA est le plus fiable et le plus utile dans le cadre des études sérologiques à grande échelle. Dans ce test, les anticorps contre le virus de la peste porcine africaine fixés sur les protéines virales qui sont attachées à la phase solide sont détectés par l'ajout d'une protéine A conjuguée à une enzyme qui produit une réaction colorée visible lorsqu'elle est en contact avec le substrat approprié.
3. Les laboratoires nationaux doivent procéder régulièrement à des contrôles de qualité concernant la sensibilité et la spécificité de tous les lots de réactifs 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 africaine (jusqu'à dix-sept jours après l'infection),
  - des sérums provenant de porcs convalescents (plus de dix-sept jours après l'infection).

Les tests ELISA à utiliser pour le diagnostic sérologique de la peste porcine africaine doivent détecter tous les sérums de référence provenant de porcs convalescents. Tous les résultats obtenus avec les sérums de référence doivent être reproductibles. Il est recommandé de détecter tous les sérums positifs dès la phase initiale. 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.

4. Le test d'immunofluorescence indirecte est une technique rapide qui offre une sensibilité et une spécificité élevées pour la détection d'anticorps contre le virus de la peste porcine africaine provenant de sérums ou d'exsudats de tissus. Il repose sur la détection d'anticorps contre le virus de la peste porcine africaine qui se lie à une monocouche de cellules MS infectées par un virus de peste porcine africaine adapté. La réaction anticorps-antigène est détectée par une protéine A fluorescente et étiquetée. Les échantillons positifs présentent une fluorescence spécifique près du noyau des cellules infectées.

Les tests d'immunofluorescence directe et indirecte utilisés en association pour tester un organe, du sang ou des exsudats provenant d'animaux présentant des signes cliniques de la peste porcine africaine peuvent mener à une confirmation rapide et fiable de la maladie.

5. La technique du Western blot est une technique très spécifique et très sensible qui repose sur l'utilisation de bandes de nitrocellulose qui contiennent des protéines virales comme antigènes. La réaction anticorps-antigène spécifique est détectée par l'ajout d'un conjugué peroxydase de protéine A et du substrat approprié. Cette technique est très utile pour tester les sérums pour lesquels le test ELISA ne donne pas de résultats satisfaisants.

#### Chapitre VIII

##### **Conditions minimales de sécurité à observer dans les laboratoires compétents pour la peste porcine africaine**

1. Les conditions définies au tableau 1 doivent être respectées dans tout laboratoire dans lequel le virus de la peste porcine africaine est amplifié par répliation dans des cultures cellulaires. Toutefois, les examens post mortem, la préparation des tissus pour le test d'immunofluorescence directe ou pour l'amplification en chaîne par polymérase, et les techniques sérologiques utilisant un antigène inactivé peuvent être effectués selon des prescriptions moins strictes, pour autant que les conditions minimales définies au tableau 1 soient respectées, que des normes d'hygiène de base soient appliquées et qu'il soit procédé aux opérations de désinfection à la fin des manipulations avec élimination des carcasses, des tissus et des sérums dans des conditions de sécurité.

2. Les conditions définies au tableau 2 doivent être respectées par tout laboratoire dans lequel le virus de la peste porcine africaine est inoculé à des animaux.
3. Tous les stocks de virus de la peste porcine africaine doivent être conservés en un lieu sûr, à l'état congelé ou lyophilisé. 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 précisant la source ainsi que des virus fournis à d'autres laboratoires.
4. Il est recommandé de compléter les unités de manipulation du virus de la peste porcine africaine, 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 africaine) et au travail administratif et de bureau.

Tableau 1

## Normes de confinement biologique applicables aux laboratoires de diagnostic

	Conditions minimales	Conditions supplémentaires
Environnement général	Pression atmosphérique normale Locaux réservés dont l'usage est limité à des procédures déterminées	Pression atmosphérique normale. Simple filtrage HEPA de l'air évacué Locaux réservés, exclusivement destinés aux procédures de diagnostic de la peste porcine africaine Traitement des effluents susceptibles d'être contaminés pour inactiver le virus de la peste porcine africaine (par des procédés thermiques ou chimiques)
Vêtements de laboratoire	Vêtements de dessus spéciaux à n'utiliser que dans l'unité réservée au virus de la peste porcine africaine Gants jetables pour toutes les manipulations de matériel infecté Stérilisation des vêtements de dessus avant la sortie de l'unité ou lavage à haute température à l'intérieur de celle-ci	Changement complet de vêtements à l'entrée. Vêtements de laboratoire à n'utiliser que dans l'unité réservée au virus de la peste porcine africaine Gants jetables pour toutes les manipulations de matériel infecté Stérilisation des vêtements avant la sortie de l'unité ou lavage à haute température 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'entrer dans les locaux où se trouvent les porcs dans les quarante-huit 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'entrer dans les locaux où se trouvent les porcs dans les quarante-huit 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 filtrage HEPA de l'air évacué Tous les équipements nécessaires aux procédures de laboratoire doivent être disponibles à l'intérieur des locaux réservés du laboratoire	

Tableau 2

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

	Conditions
Environnement général	Aération contrôlée par pression négative Simple filtrage HEPA de l'air évacué Dispositif de fumigation/décontamination complète à la fin de l'expérience Traitement de tous les effluents solides et liquides pour inactiver le virus de la peste porcine africaine (par des procédés thermiques ou chimiques)

	Conditions
Vêtements de laboratoire	Changement complet de vêtements à l'entrée Stérilisation des vêtements avant la sortie de l'unité ou lavage à haute température à l'intérieur de celle-ci
Contrôle du personnel	Accès à l'unité réservé au personnel désigné, dûment formé Il convient de laisser les vêtements à l'intérieur avant de prendre une douche. Douche intégrale à la sortie de l'unité Interdiction pour le personnel d'entrer dans les locaux où se trouvent les porcs dans les quarante-huit 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 africaine
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