ORDRE DE SERVICE

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE
ET DE LA PECHE

Direction générale de l'alimentation
Sous-direction de la santé et de la protection animales
Bureau de la santé animale

Adresse : 251, rue de Vaugirard
75732 PARIS CEDEX 15
Suivi par : Yann Louguet
Tél : 01.49.55.84.54
Fax : 01.49.55.43.98
Réf. Interne : BSA/YL/05-07-047
Réf. Classement : SA 222-311

NOTE DE SERVICE

DGAL/SDSPA/N2005-8196

Date: 02 août 2005

Classement : SA 222-311

Date de mise en application :Immédiate
Nombre d'annexes: 4

Le Ministre de l'agriculture et de la pêche
à
(cf destinataires)

Objet : Réseau des laboratoires agréés pour le diagnostic virologique de la peste porcine classique (PPC) et épidémiosurveillance de la maladie en abattoir

Bases juridiques : Arrêté du 23 juin 2003 fixant les mesures de lutte contre la peste porcine classique.

Mots-clés : Laboratoire - Agrément – Virologie- Porcs - Peste porcine classique.

Résumé : Cette note précise la liste et les coordonnées des laboratoires d'analyses agréés pour le diagnostic virologique par la technique RT PCR de la peste porcine classique ainsi que le protocole de surveillance virologique de la PPC en abattoir. Elle complète la note de service relative à l'épidémiosurveillance de la PPC en élevage (NS SDSPA/N2005-8086 du 21 mars 2005).

Destinataires	
Pour exécution : - Préfets - Directeurs départementaux des services vétérinaires -Laboratoires vétérinaires départementaux agréés pour le diagnostic virologique de la peste porcine classique	Pour information : - Inspecteurs Généraux de la Santé Publique Vétérinaire chargés des missions inter régionales - Brigade Nationale d'Enquêtes Vétérinaires et Phytosanitaires - Directeur de l'AFSSA-site de Ploufragan - Directeurs des Ecoles Nationales Vétérinaires - Directeur de l'Ecole Nationale des Services Vétérinaires - Directeur de l'INFOMA - Agence de la sélection porcine - FNGDS - UGPVB - INAPORC - ADILVA - Laboratoires vétérinaires départementaux agréés pour le diagnostic sérologique de la peste porcine classique

I. Laboratoires agréés pour le diagnostic virologique (RT PCR) de la peste porcine classique

Vous trouverez ci-joint :

- la liste des laboratoires agréés pour le diagnostic virologique de la peste porcine classique par la technique de RT PCR**(annexe 1).**
- les adresses de ces laboratoires **(annexe 2)**.

Les laboratoires agréés comportent des locaux ainsi qu'un degré de confinement en totale conformité avec le cahier des charges ci joint **(annexe 3).**

II. Protocole d'épidémiosurveillance de la PPC par la mise en place d'analyses virologiques en abattoir sur les reproducteurs réformés

II.1 : Objectif de la mise en place de ce réseau de laboratoires agréés pour le diagnostic virologique de la PPC:

En complément de la surveillance sérologique de la PPC en élevage (NS SDSPA/N2005-8086 du 21 mars 2005), un protocole de surveillance virologique de la PPC est mis en place en abattoir.
L'objectif de ce dispositif est double :

1- apporter une information supplémentaire pour confirmer le statut indemne de la France (absence de circulation virale);
2- maintenir opérationnelle la capacité d'analyses du réseau de laboratoires agréés en virologie pour le diagnostic de la peste porcine classique afin de répondre aux besoins que générerait une épizootie (en complément du réseau de laboratoires agréés en sérologie).

II.2 : Prélèvements à réaliser :

Les prélèvements seront réalisés sur des truies de réforme à l'abattoir. Ces prélèvements ne doivent pas uniquement concerner les truies réformées de votre département. En revanche, ils ne doivent pas être pratiqués sur des porcs en provenance d'autres pays. Le nombre de prélèvements à réaliser concerne l'année civile entière. En cas d'impossibilité de réaliser le nombre de prélèvements requis, je vous saurais gré de bien vouloir avertir le bureau de santé animale de la DGAL.
Le nombre d'analyses à réaliser par département et par an est défini en **annexe 4**. Pour raison pratique, les prélèvements peuvent se réaliser de manière groupée sans obligation d'une répartition homogène toute l'année
Le sang sera prélevé sur tube EDTA. Une fois le sang collecté dans le tube, celui ci doit subir des mouvements très lents de sorte que l'anticoagulant et le sang soient bien mélangés.
Les prélèvements et leur identification seront effectués par un agent des services vétérinaires spécialement affecté par vos soins à cette tâche. Un compte rendu devra accompagner les prélèvements expédiés au laboratoire départemental d'analyses vétérinaires et devra comporter :

- le nom de l'abattoir où sont réalisés les prélèvements ;
- le numéro individuel d'identification des animaux testés et le numéro d'ordre de prélèvement correspondant,
- le nom de l'éleveur, le numéro (frappe) et l'adresse du site d'élevage d'origine.

II.3. Analyses de laboratoires :

Le directeur du LDV agréé envoie les résultats négatifs au directeur départemental des services vétérinaires du département d'implantation de l'abattoir où les prélèvements ont été effectués.
Si le résultat d'une analyse en RT PCR est non négatif, le directeur départemental des services vétérinaires doit être immédiatement prévenu par le directeur du LVD ayant réalisé l'analyse. Le LDV contacte également immédiatement le LNR (AFSSA Ploufragan) puis envoie le prélèvement au LNR en vue d'une analyse de confirmation. Le directeur départemental des services vétérinaires doit immédiatement avertir la DGAL (bureau de santé animale).
L'AFSSA Ploufragan doit être prévenue de l'envoi des prélèvements par télécopie :

AFSSA Ploufragan
UVIP
Les croix BP 53
22440 Ploufragan
tél 02 96 01 62 22
fax :02 96 01 62 53
mail : mf.lepotier@afssa.fr et uvip@ploufragan.afssa.fr

II.4 : Prise en charge financière :

L'Etat prend en charge l'épidémiosurveillance virologique en abattoir de la peste porcine (imputation sur le chapitre 69.03 article 02).
Le financement de ces opérations d'analyses virologiques se fait par paiement direct des factures adressées par le LVD au directeur départemental des services vétérinaires du département d'implantation de l'abattoir où sont effectués les prélèvements.

Vous voudrez bien tenir informé le LDAV agréé pour le diagnostic virologique de la PPC désigné pour votre département, des présentes dispositions.

Le sous-directeur de la santé et de la protection animales

Olivier FAUGERE

Liste des laboratoires agréés pour le diagnostic de la peste porcine classique (virologie)

LABORATOIRE NATIONAL DE REFERENCE pour les techniques de dépistage de la peste porcine classique par RT PCR et isolement viral:

AFSSA site de Ploufragan - Unité Virologie Immunologie Porcines

DEPTS	LABORATOIRES	Techniques de dépistages agréées RT PCR
21	LABORATOIRE DEPARTEMENTAL DE COTE D'OR	X
22	LABORATOIRE DE DEVELOPPEMENT ET D'ANALYSES DES COTES D'ARMOR	X
35	LABORATOIRE DEPARTEMENTAL D'ANALYSES D'ILLE ET VILAINE	X
55	LABORATOIRE VETERINAIRE DEPARTEMENTAL DE LA MEUSE	X
62	LABORATOIRE DEPARTEMETAL D'ANALYSES DU PAS-DE-CALAIS	X
67	LABORATOIRE VETERINAIRE DEPARTEMENTAL DU BAS-RHIN	X
72	LABORATOIRE DEPARTEMENTAL DE LA SARTHE	X
81	LABORATOIRE DEPARTEMENTAL D'HYGIENE DU TARN	X

Annexe 2

Adresses des laboratoires agréés pour la recherche de la peste porcine classique

(sous réserve de modifications non signalées à la DGAL)

LABORATOIRE NATIONAL DE REFERENCE
pour la peste porcine classique :

AFSSA site de Ploufragan
Unité Virologie Immunologie Porcines
Les Croix - B.P. 53
22440 PLOUFRAGAN
Tél : 02.96.01.62.22 – Fax : 02.96.01.62.53
E-mail : mf.lepotier@afssa.fr

DEPARTEMENT	INTITULE	TELEPHONE	TELECOPIE
21-COTE D'OR	Laboratoire Départemental de la Côte d'Or 2ter, rue Hoche - BP 678 - 21017 Dijon Cedex	03.80.63.67.70	03.80.43.54.52
22-COTES D'ARMOR	Laboratoire de Développement et d'Analyses 7, rue du Sabot - BP 54 - 22440 Ploufragan	02.96.01.37.22	02.96.01.37.50
35 - ILLE ET VILAINE	Laboratoire Départemental d'Analyses 24, rue Antoine Joly - BP 3163 - 35031 Rennes Cedex	02.99.14.27.00	02.99.14.27.01
55 - MEUSE	Laboratoire Vétérinaire Départemental Chemin des romains - BP 516 - 55012 Bar le Duc Cedex	03.29.79.96.00	03.29.79.96.10
62-PAS-DE-CALAIS	Laboratoire Départemental d'Analyses Parc de Haute Technologie des Bonnettes SP 18 – 2, rue du Genévrier - 62022 Arras Cedex	03.21.51.46.54.	03.21.71.48.55.
67 - BAS-RHIN	Laboratoire Vétérinaire Départemental 2 place de l'abattoir- 67200 Strasbourg	03.90.20.65.20	03.90.20.65.36
72-SARTHE	Laboratoire Départemental de la Sarthe 128, rue de Beaugé - 72018 Le Mans Cedex 2	02.43.39.95.70	02.43.39.95.80
81-TARN	Laboratoire Départemental d'Hygiène Zone Albitech – 32, rue G. Eiffel - 81011 Albi Cedex 09	05.63.47.57.75	05.63.46.07.38

afssa
AGENCE FRANÇAISE DE SECURITE SANITAIRE DES ALIMENTS

LABORATOIRE D'ETUDES ET DE RECHERCHES AVICOLES ET PORCINES

Site de Ploufragan

Ploufragan, le 09/02/2004

Cahier des charges à respecter par un laboratoire demandant un agrément pour la réalisation d'analyses sérologique et/ou virologique pour le diagnostic de la peste porcine classique (PPC)[i], ou d'analyses sérologique pour le diagnostic de la Fièvre Aphteuse (FA)

Unité virologie, immunologie porcines

Dossier suivi par :
Marie-Frédérique LE POTIER

Ligne directe :
02 96 01 62 90

Fax direct :
02 96 01 62 53

E- mail :
mf.lepotier@afssa.fr

N. Réf. :04mlp033

V. Réf. :

Zoopôle
BP 53
22440 Ploufragan

Tel 02 96 01 62 22

Fax 02 96 01 62 23

www.afssa.fr

REPUBLIQUE FRANÇAISE

Le virus de la Peste Porcine Classique provoque des épizooties graves chez les suidés, et représente donc un risque pour l'environnement.
Le virus de la fièvre aphteuse (FA) provoque des épizooties graves chez les artiodactyles et représente donc un risque sanitaire majeur. Ces deux maladies sont inscrites sur la liste A de l'OIE). Elles sont réputée légalement contagieuse et font l'objet de réglementations sanitaires en France et en Europe.

Outre les exigences prescrites par la norme ISO 17025 et celles concernant le fonctionnement des laboratoires d'immuno-sérologie animale, les laboratoires pratiquant la recherche des anticorps Peste Porcine Classique ou Fièvre Aphteuse doivent être aménagés et doivent fonctionner conformément aux exigences définies pour les laboratoires pratiquant des essais et analyses en virologie. D'une manière générale, toutes les précautions doivent être prises pour éviter que des particules virales ne puissent sortir du laboratoire. La mise en œuvre des pratiques de laboratoire définies dans la norme NF X42-075 est fortement recommandée, le virus de la Peste Porcine Classique étant inclus dans la classe Ea2 définie par la commission Biosécurité de l'AFNOR.

➢ **Par conséquent, les mesures générales de confinement et les procédures spécifiques suivantes doivent être respectées pour la manipulation d'échantillons contaminés *a priori* par le virus de la peste porcine classique, ou le virus de la fièvre aphteuse :**

1. les manipulations de virus vivant de la Peste Porcine Classique, ou des échantillons de suidés susceptibles d'en contenir, ou de sérums d'artiodactyles susceptibles de contenir du virus Fièvre Aphteuse (sang ou organe provenant d'un foyer avéré ou d'une zone de protection ou de surveillance établie autour d'un foyer) doivent être réalisées dans le secteur confiné (cf item 7) du laboratoire sous un poste de sécurité microbiologique de type II ;

2. les souches de virus de la Peste Porcine Classique doivent obligatoirement être conservées à une température inférieure ou égale à – 65°C dans le secteur contaminé du laboratoire ;

3. l'organisation du travail journalier et celle des circuits doivent permettre d'éviter de manipuler du matériel non contaminé après manipulation du virus ou de l'antigène viral ;

4. si d'autres pestivirus ou des prélèvements susceptibles de contenir des pestivirus, sont manipulés dans le laboratoire, ces manipulations ne doivent pas être faites en même temps que la manipulation du virus de la Peste Porcine Classique, sauf si les installations ou les procédures mises en place par le laboratoire permettent d'éviter les contaminations croisées entre pestivirus ;

5. le laboratoire doit mettre en place un système et des procédures efficaces de décontamination des effluents liquides avant leur rejet, ainsi que des effluents pâteux, déchets solides et matériel contaminé avant leur élimination. Tout matériel recyclable contaminé doit faire l'objet d'une désinfection avant toute nouvelle utilisation (autoclavage à une température égale ou supérieure à 121 °C, pendant au moins 30 min, ou tout autre moyen équivalent) ;

6. les chaussures et les vêtements de ville doivent être quittés dans le vestiaire externe du laboratoire et/ou du local où est manipulé le virus ou les sérums susceptibles d'en contenir. Le personnel doit revêtir dans le vestiaire interne du laboratoire et/ou du local, des vêtements et des chaussures de travail adaptés mis à sa disposition, qui en aucun cas ne doivent côtoyer les vêtements de ville, ni sortir du laboratoire sans décontamination préalable. De plus, un lavabo pour le lavage des mains doit être disposé à la sortie du laboratoire et doit être utilisé avant de reprendre les vêtements de ville. Les consignes sont affichées.

7. le laboratoire ou le local où est manipulé le virus de la PPC ou les sérums susceptibles de contenir du virus PPC ou FA doit être en dépression stable par rapport à l'extérieur d'une valeur minimale de 5 mm de colonne d'eau et doit être pourvu d'un système de filtration absolu de l'air à la sortie (double filtration recommandée), et de sas de communication à doubles portes;

8. le laboratoire ou le local concerné doit être pourvu d'une douche (ou tout autre système d'aspersion équivalent) permettant une décontamination du personnel. Dans le cas de manipulation de virus de la Peste Porcine Classique, la douche doit être utilisée en cas de projection de matériel contaminé. Dans le cas de manipulation de sérum pour le diagnostic sérologique Fièvre Aphteuse, la douche doit être systématiquement utilisée avant de reprendre les vêtements de ville, même en absence de projection. Les consignes sont affichées ;

9. une pancarte mentionnant la manipulation du virus et l'interdiction d'accès au laboratoire aux personnes non habilitées doit être apposée sur la porte d'entrée du laboratoire et/ou du local où sont manipulés le virus PPC ou les échantillons susceptibles de contenir du virus de la Peste Porcine Classique ou du Virus Fièvre Aphteuse. Une liste des personnes habilitées à pénétrer dans la pièce et dans le laboratoire doit être tenue à jour. Les consignes sur le changement de vêtements et les précautions à prendre à l'entrée et à la sortie doivent être également clairement mentionnées.

10. Un document mentionnant l'interdiction d'avoir des contacts avec des animaux des espèces sensibles ainsi qu'avec des éleveurs dans un délai de 48 h après sortie de la zone doit être signé par le visiteur.

- **Manipulations d'échantillons non contaminés *a priori* par du virus de la peste porcine classique :**

Dans le cadre de l'épidémiosurveillance, les prélèvements sériques pour recherche d'anticorps anti-virus de la PPC par des techniques ELISA utilisant un antigène non infectieux, peuvent être manipulés dans la partie immuno-sérologie non confinée du laboratoire associée à l'unité confinée de virologie.
Pour la détection du génome du virus de la PPC par RT-PCR, les acides nucléiques, une fois extraits dans la zone confinée du laboratoire de virologie, peuvent être

manipulés dans les salles dédiées à la PCR, même si elles sont en dehors de la zone confinée, ceci sous réserve que l'inactivation complète du virus par le processus d'extraction d'acides nucléiques ait été validée au préalable.

- **Procédure d'agrément**

L'agrément est délivré par le Ministre de l'Agriculture, Direction Générale de l'Alimentation après instruction par le Laboratoire National de Référence d'un dossier de demande d'agrément destiné à vérifier l'adéquation entre les conditions minimales requises et les locaux et procédures des laboratoires. Le dossier devra est constitué des pièces suivantes :

- plan des locaux,
- description du traitement de l'air et procédures de contrôle,
- procédures des traitement des déchets et des effluents,
- organisation des circuits (personnel, matériel, prélèvements),
- toutes autres pièces documentaires utiles.

Une visite sur site par un représentant du LNR, aux frais du laboratoire candidat à l'agrément, pourra compléter l'instruction de ce dossier d'agrément.

Les chefs d'unité,
Marie-Frédérique LE POTIER et Stephan ZIENTARA

- [i] **Références normatives et réglementaires**

NF EN ISO/CEI 17025*, Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais (indice de classement X 50-061).*

NF U 47-020, *Guide de bonnes pratiques de traitement de l'échantillon soumis à des analyses immuno-sérologiques*.

NF U 47-025, Recherche d'anticorps contre la peste porcine classique par al technique de neutralisation virale et immunochimie sur culture (IF ou IP)

NF X 42-075, *Biotechnologies Guide des bonnes pratiques d'analyse et de recherche en microbiologie dans le domaine de la santé animale.*

Directive communautaire : 2001/189 CE du Conseil du 23 octobre 2001 relative à des mesures communautaires de lutte contre la peste porcine classique

Décision n° 2002/106/CE 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.

Arrêté ministériel 23 juin 2003 fixant les mesures de lutte contre la peste porcine classique

Annexe 4 :
Protocole annuel de surveillance virologique de la peste porcine classique réalisée en abattoir sur les porcs reproducteurs réformés

Département concerné	Nombre de prélèvements demandés par an	Laboratoire destinataire	Nombre de virologies prévues par an
03	150	LVD 21	500
43	150		
67	200		
22	500	LVD 22	500
35	500	LVD 35	500
62	500	LVD 62	500
45	80	LVD 72	500
53	420		
81	500	LVD 81	500