



service public fédéral

SANTÉ PUBLIQUE, SÉCURITÉ DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE ET ENVIRONNEMENT



Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire

VADEMECUM

Lutte contre la tuberculose bovine : nouvelle réglementation

Version	V02
Mise en application	01/02/2021
Destinataires	Collaborateurs de l'AFSCA; Détenteurs; Vétérinaires; Laboratoires agréés dans le cadre de la lutte contre la tuberculose bovine Administration de la santé de l'ARSIA/DGZ SCIENSANO.

SOMMAIRE

1. But
2. Domaine d'application
3. Références
4. Abréviations
5. Groupes de travail
6. Surveillance
 - 6.1. *Introduction*
 - 6.2. *Éléments de la surveillance*
 - 6.2.1. *Généralités*
 - 6.2.2. *Cadre général*
7. Mesures de lutte
 - 7.1. *Suspicion*
 - 7.1.1. *Suspicion à l'abattoir*
 - 7.1.2. *Suspicion chez un bovin vivant*
 - 7.1.3. *Exploitation sous suspicion*
 - 7.2. *Foyer*
 - 7.2.1. *Enquête épidémiologique pour répertorier les exploitations de contact*
 - 7.2.2. *Ordre d'abattage*
 - 7.2.2.1. Instructions pour l'exploitant de l'abattoir et le CDMRA
 - 7.2.2.2. Instructions pour le transporteur
 - 7.3. *Procédure de confirmation*
 - 7.3.1. *Généralités*
 - 7.3.2. *Principe*
 - 7.3.3. *Directives*
 - 7.4. *Instructions spécifiques : détenteur – vétérinaire d'exploitation – ARSIA/DGZ – laboratoires*
 - 7.4.1. *Instructions pour le détenteur*
 - 7.4.1.1. Généralités
 - 7.4.1.2. Indemnisations lors d'abattage par ordre de bovins

7.4.2. Instructions pour le vétérinaire

- 7.4.2.1. Généralités
- 7.4.2.2. Directives
- 7.4.2.3. Indemnisations

7.4.3. Instructions à ARSIA et DGZ (administration de la santé)

- 7.4.3.1. Généralités
- 7.4.3.2. Préparation pratique
- 7.4.3.3. Indemnisation

7.4.4. Instructions aux laboratoires

- 7.4.4.1. Généralités
- 7.4.4.2. Traitements et conservation des échantillons
- 7.4.4.3. Echantillons non conformes / résultats non-conformes
- 7.4.4.4. Gestion des résultats non concluants
- 7.4.4.5. Gestion des échantillons à l'arrivée au laboratoire
- 7.4.4.6. Gestion des tests IFNg en cas de foyer(s)
- 7.4.4.7. Rapportage
- 7.4.4.8. Transfert des échantillons des laboratoires vers sciensano
- 7.4.4.9. Indemnisations

8. Rôle de Sciensano

9. Rôle de l'AFSCA

- 9.1. *Généralités*
- 9.2. *Suivi des résultats non conformes*
- 9.3. *Suivi des missions non réalisées*
- 9.4. *Données de contact des ULC (secteur production primaire)*

10. Annexes et documents connexes

1. But.

Cette procédure décrit les nouvelles mesures de lutte contre la tuberculose bovine dans le cheptel bovin, clarifie les règles et accords qui ont été établis dans ce cadre avec les parties concernées et les stakeholders, et définit les responsabilités de chaque acteur.

2. Domaine d'application.

Mesures de surveillance pour le maintien du statut indemne de tuberculose de la Belgique, mesures en cas de suspicion et mesures en cas de foyer.

3. Références.

- Loi du 24 mars 1987 relative à la santé des animaux;
- Arrêté royal du 22 février 2001 organisant les contrôles effectués par l'Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire et modifiant diverses dispositions légales;
- Arrêté royal du 17-01-2021 relatif à la lutte contre la tuberculose bovine;
- Arrêté royal du 20 novembre 2009 relatif à l'agrément des médecins vétérinaires;
- Arrêté royal du 23 mars 2011 établissant un système d'identification et d'enregistrement des bovins ;
- Arrêté royal du 14/11/2003 relatif à l'autocontrôle, à la notification obligatoire et à la traçabilité dans la chaîne alimentaire.

4. Abréviations

- AFSCA: Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire;
- ARSIA: Association Régionale de Santé et d'Identification Animales asbl;
- DGZ: Dierengezondheidszorg Vlaanderen vzw;
- SCIENSANO: Laboratoire National de Référence, visé à l'article 3 de l'arrêté royal du 3 août 2012 relatif à l'agrément des laboratoires qui effectuent des analyses en rapport avec la sécurité de la chaîne alimentaire
- ULC: Unité Locale de Contrôle;
- IFNg : test de l'interféron gamma = test d'immunité à médiation cellulaire visant à mettre en évidence la réponse du système immunitaire à l'agent de la tuberculose.

5. Groupes de travail

- Groupe TUB Labo : groupe chargé des aspects techniques / pratiques du nouveau programme ;
- Task Force de suivi : groupe comprenant les représentants du secteur bovins, des vétérinaires, de sciensano, de l'administration de la santé ARSIA/DGZ et les autorités fédérales, chargé d'évaluer la mise en place et l'évolution du nouveau programme de lutte ;
- Groupe Communication : groupe reprenant les représentants des autorités fédérales, de l'administration de la santé de DGZ et ARSIA et de Sciensano, chargé de répertorier les besoins en communication et d'assurer leur suivi ;

- Groupe coordination foyer : groupe reprenant des représentants de l'AFSCA et des différents laboratoires autorisés à effectuer des analyses dans le cadre de la lutte contre la tuberculose ayant pour objectif de gérer la répartition des échantillonnages en cas de foyer de tuberculose.

6. Surveillance

6.1. Introduction.

Le but de la surveillance est d'assurer un suivi des exploitations à risque (surveillance ciblée) et de contrôler 1/5^{ème} des troupeaux bovins chaque année (surveillance standard), en dehors des exploitations qui font déjà l'objet d'un suivi pour la tuberculose, à l'exception des exploitations de veaux d'engraissement et des exploitations d'engraissement telles que définies dans l'arrêté royal du 25 novembre 2016 relatif à la lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine.

Dans la mesure du possible, les prélèvements d'échantillons sont organisés durant la campagne hivernale. Le dépistage sérologique de la tuberculose est réalisé sur les mêmes échantillons que ceux prélevés en application de l'arrêté royal du 25 novembre 2016 relatif à la lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine, pour autant qu'ils répondent aux critères requis.

Pour les exploitations laitières qui réalisent des tests sur le lait pour le maintien du statut I3 et l'acquisition/maintien du statut I4, un échantillonnage sanguin devra donc être prévu tous les 5 ans.

6.2. *Éléments de la surveillance.*

6.2.1. Généralités

La surveillance relative à la tuberculose bovine comprend 6 volets. Un troupeau ne peut être sélectionné que pour un volet. Les méthodes de diagnostic utilisées dans le cadre de la surveillance sont les tests non bactériologiques suivants :

- Le test ELISA qui vise à mettre en évidence la présence d'anticorps dirigés contre l'agent de la tuberculose bovine ;
- Le test IFNg qui vise à mettre en évidence la réponse du système immunitaire à l'agent de la tuberculose.

Tout test ELISA ou IFNg ayant donné lieu à un premier résultat non négatif (en fonction du tableau de décisions validé par le groupe « TUB Labo ») est soumis à une procédure de confirmation avant que l'AFSCA ne déclare le bovin comme 'suspect' (voir point 7.3).

La procédure de confirmation d'un test IFNg n'est pas d'application si les tests ELISA et IFNg effectués simultanément sur un même échantillon ou sur un échantillon pris séparément chez un même bovin donnent chacun un résultat non négatif (en fonction du tableau de décisions validé par le groupe « TUB Labo »). Dans ce dernier cas, l'animal est d'office considéré comme suspect d'être atteint.

Volet 1 – Programme de surveillance standard

- 1/5^{ème} des exploitations (en dehors des exploitations déjà suivies pour la tuberculose) ;
- Sélection aléatoire de bovins au sein des animaux âgés de plus de douze mois si cette catégorie d'animaux représente au moins cinquante pourcents de l'effectif total des bovins au sein de

l'établissement. Dans les autres cas, le tirage au sort est réalisé sur l'effectif total des bovins. Le nombre d'échantillons à prélever dépend du nombre total de bovins présents dans l'établissement selon la table d'échantillonnage A. L'identité des animaux à prélever est fixée par l'administration de la santé de ARSIA/DGZ ;

• TABLE D'ECHANTILLONNAGE A

Taille du troupeau	Nombre de bovins à échantillonner
>260	20
[80-260]	19
[40-79]	18
[20-39]	16
[16-19]	13
[14-15]	12
[13]	11
[12]	10
[10-11]	9
[1-9]	Tous les animaux

Test ELISA à effectuer sur un échantillon sanguin (si possible sur l'échantillon prélevé dans le cadre de la lutte contre la rhinotrachéite infectieuse bovine). Pour les exploitations laitières qui réalisent des tests sur le lait pour le maintien du statut I3 et l'acquisition/maintien du statut I4, un échantillonnage sanguin est donc à prévoir tous les 5 ans;

- Si le test ELISA s'avère non-négatif, il est confirmé par le test Enferplex réalisé chez Sciensano (voir point 7.3).
- En cas d'ELISA confirmé positif, l'ensemble des bovins du troupeau ayant fait l'objet d'un premier échantillonnage + un nombre de bovins supplémentaires tirés au sort parmi les animaux âgés de plus de 6 mois sont prélevés en vue de la réalisation de deux tests : un ELISA et un IFNg. Le nombre de bovins à prélever dépend du nombre total de bovins présents dans le troupeau selon la table d'échantillonnage B :

TABLE D'ECHANTILLONNAGE B

Taille du troupeau	Nombre final de bovins à prélever
>260	40
[80-260]	39
[40-79]	38
[20-39]	Tous les animaux âgés de plus de 6 mois
[16-19]	Tous les animaux âgés de plus de 6 mois
[14-15]	Tous les animaux âgés de plus de 6 mois
[13]	Tous les animaux âgés de plus de 6 mois
[12]	Tous les animaux âgés de plus de 6 mois
[10-11]	Tous les animaux âgés de plus de 6 mois
[1-9]	Tous les animaux âgés de plus de 6 mois

Les exploitations et les bovins sont sélectionnés par l'administration de la santé de DGZ/ARSIA (voir point 7.4.3.1)

Volet 2 – Programme de surveillance appliqué aux bovins provenant d'une région non officiellement indemne de tuberculose

Individuellement : Tests ELISA +IFNg sur les bovins âgés de plus de 6 mois importés de pays tiers ou provenant ou nés dans un état membre ou partie d'état membre non officiellement indemne de tuberculose.

Tests effectués annuellement sur ces bovins durant les 3 années qui suivent celle de leur arrivée sur le territoire national.

Les bovins sont sélectionnés par l'administration de la santé de DGZ/ARSIA (voir point 7.4.3.1)

Volet 3 – Programme de surveillance à réaliser dans les exploitations pour lesquelles un bovin a présenté des lésions suspectes de tuberculose à l'autopsie.

- Dans les 12 mois qui suivent l'autopsie d'un bovin suspect, le troupeau auquel appartenait ce bovin fait l'objet d'un sondage sérologique (test ELISA). Cette mesure s'applique à partir de la date d'entrée en vigueur du nouvel arrêt royal (1-02-2021).
- Sélection des bovins et tests : voir volet 1 .

Volet 4 – Programme de surveillance à réaliser dans les exploitations où une suspicion d'infection par l'agent de la tuberculose a été levée l'année précédente.

Sélection des bovins et tests : voir volet 1

Sont concernées :

- Les exploitations de contact d'un foyer de l'année n-1;
- Les exploitations où a séjourné un bovin atteint de tuberculose pendant moins de 30 jours au cours de l'année n-1 ;
- Les exploitations où un bovin s'est révélé suspect après une procédure de confirmation à un deuxième test effectué dans le cadre de la surveillance de l'année n-1;
- Les exploitations qui hébergent un bovin importé d'un pays à risque qui a été testé non négatif au cours de l'année n-1.

La liste des exploitations est communiquée par l'AFSCA à l'administration de la santé de DGZ/ARSIA et les bovins sont sélectionnés par l'administration de la santé de DGZ/ARSIA (voir points 7.4.3.1)

Pour 2021, ce volet ne concerne que les troupeaux qui ont présenté un résultat douteux ou positif à la tuberculination lors du winterscreening de 2019-2020.

Volet 5 – Programme de surveillance à réaliser dans les exploitations libérées après avoir été déclarées comme foyer

- Foyers libérés après élimination totale des bovins :

Durant les 5 années qui suivent le repeuplement, le troupeau est échantillonné pour un test ELISA
→ voir volet 1 pour la sélection des bovins.

- Foyers libérés après élimination partielle des bovins :

Test ELISA + test IFNg sur tous les bovins de plus de 6 mois durant les 5 années qui suivent la libération du foyer.

La liste des exploitations est communiquée par l'AFSCA à l'administration de la santé de DGZ/ARSIA et les bovins sont sélectionnés par l'administration de la santé de DGZ/ARSIA (voir points 7.4.3.1.)

Volet 6 – Programme de surveillance à réaliser dans les exploitations ayant fait l'objet d'un bilan partiel de dépistage avec un résultat favorable

- Sont concernés les troupeaux visés sous les volets 1 à 5 qui ont été échantillonnés pour un test IFNg et dont les bovins échantillonnés se sont révélés 'non suspects ».
- L'année qui suit celle du sondage sérologique : test ELISA effectué sur les bovins du troupeau suivant les modalités du volet 1.
- La liste des exploitations est communiquée par l'AFSCA à l'administration de la santé de DGZ/ARSIA et les bovins sont sélectionnés par l'administration de la santé de DGZ/ARSIA (voir points 7.4.3.1.)

Ce volet 6 n'est pas d'application pour la première année d'application du nouvel arrêté royal (2021).

6.2.2. Cadre général.

- La surveillance ne concerne que les bovins et les exploitations bovines à l'exception des exploitations d'engraissement ;
- L'échantillonnage est réalisé par les vétérinaires d'exploitation (ou par les vétérinaires d'exploitation suppléants).

La répartition globale des tâches se fait comme suit :

- L'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ est responsable de l'organisation pratique de la surveillance. Elle sélectionne les bovins à échantillonner au sein des troupeaux concernés par le programme de surveillance : voir point 7.4.3.2. Elle communique au vétérinaire d'exploitation et au détenteur concernés l'identité des bovins à prélever, les tests à effectuer et la période durant laquelle les prélèvements doivent être réalisés ;
- Les vétérinaires d'exploitation sont responsables des échantillonnages, de la qualité des échantillons et de la remise des échantillons aux laboratoires sur base du document global mis à disposition par l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ;
- Les détenteurs ont la responsabilité de contacter à temps leur vétérinaire d'exploitation et de leur apporter toute l'aide nécessaire à la réalisation de l'échantillonnage.
- Une task force de suivi se réunira plusieurs fois en 2021 pour évaluer la mise en place et l'évolution du programme de surveillance.

7. Mesures de lutte

7.1. Suspicion

7.1.1. Suspicion à l'abattoir

- Le vétérinaire qui constate ou suspecte la tuberculose lors de l'expertise d'un bovin à l'abattoir, prélève sur ce bovin tous les ganglions lymphatiques anormaux ainsi que les lésions suspectes de tuberculoses.

Lorsque la carcasse d'un bovin abattu par ordre de l'AFSCA, ne présente aucune lésion, des échantillons des ganglions rétropharyngés, bronchiques, médiastinaux, rétromammaires, mandibulaires, mésentériques, iliaques, parotidiens, inguinaux, hépatiques et pancréatiques doivent être prélevés.

- Le vétérinaire envoie les échantillons au laboratoire de Sciensano pour un test PCR et une mise en culture.
- Le statut de l'exploitation de provenance du bovin reste inchangé dans l'attente du résultat du test PCR.

7.1.2. Suspicion chez un bovin vivant

- Test ELISA + test IFNg à effectuer sur deux échantillons de sang du bovin suspect. Un tube pour la sérologie (tube sec avec capuchon rouge), et un tube pour l'IFNg (tube hépariné avec capuchon vert) ;
- Test de confirmation si un des deux tests initiaux n'est pas négatif (suivant le tableau de décisions validé par le groupe « TUB Labo ») ;
- Ordre d'abattage pour le bovin si le résultat des deux tests initiaux permet de déclarer le bovin suspect d'être atteint suivant le tableau de décisions validé par le groupe « TUB Labo » ou si le bovin est déclaré suspect à l'issue de la procédure de confirmation.

7.1.3. Exploitation sous suspicion

- Suspension du statut 'indemne' de l'exploitation ;
- Test ELISA + test IFNg sur tous les bovins de plus de 6 mois à effectuer dans les 30 jours de la suspension du statut ;
- Pas de mouvements sauf pour transport direct à l'abattoir ou transport de veaux de moins de 6 semaines vers un établissement d'engraissement;
- Restrictions sur le lait et les produits laitiers ;
- Levée de la suspicion :
 - ensemble des tests ELISA et IFNg permettent de déclarer le bovin non suspect suivant le tableau de décisions validé par le groupe « TUB Labo » (le cas échéant, après la procédure de confirmation), et ;
 - bovins déclarés suspects abattus par ordre et résultat de la PCR ou de la culture négatif.

7.2. Foyer

- Retrait du statut 'indemne';
- Test ELISA + test IFNg sur tous les bovins de plus de 6 mois à effectuer dans les 30 jours du retrait du statut . En cas de foyer, les tests ELISA et IFNg sont effectués par Sciensano ;
- Pas de mouvements sauf pour transport direct à l'abattoir ou transport de veaux de moins de 6 semaines vers un établissement d'engraissement après une évaluation positive par l'AFSCA de l'enquête épidémiologique;
- Ordre d'abattage pour les bovins du foyer qui suivant le tableau de décisions validé par le groupe « TUB Labo » sont suspects d'être infectés ou susceptibles d'être contaminés (pas de procédure de confirmation) ;
 - Alternative 1 : abattage partiel possible si les tests du groupe concerné sont négatifs et que la situation sanitaire le permet ;
 - Alternative 2 : mise à mort possible à la place de l'abattage mais aux frais du détenteur.
- Restrictions sur le lait et les produits laitiers (Interdiction de vendre le lait provenant des bovins faisant l'objet d'un ordre d'abattage ou le faire enlever ou l'utiliser) ;
- Nettoyage et désinfection des installations et équipements : à vérifier sur place par les ULC ;
- Destruction ou traitement du fumier, du lisier et du purin (il existe une instruction spécifique de l'AFSCA qui est communiquée aux détenteurs concernés le cas échéant) ;

- Libération du foyer :

Abattage partiel :

- tous les animaux de plus de six semaines ont réagi négativement à une première tuberculination de comparaison, effectuée soixante jours au plus tôt après la date à laquelle il a été confirmé que tous les bovins avec un « ordre d'abattage » ont été abattus ou mis à mort ;
- un test ELISA et un test IFNg ont été réalisés sur tous les bovins non abattus dans les quinze à trente jours après la date de la première tuberculination et dont le résultat est favorable pour tous les animaux échantillonnés suivant le tableau de décisions validé par le groupe « TUB Labo »;
- tous les animaux de plus de six semaines ont réagi négativement à une deuxième tuberculination de comparaison, effectuée entre quatre et cinq mois après l'élimination du dernier animal ayant reçu un ordre d'abattage.

Abattage total :

- tous les bovins ont été éliminés ;
- l'exploitation a été soumise à un nettoyage et une désinfection : contrôlé par l'ULC ;
- le lieu et la date d'abattage sont communiqués à Sciensano par l'ULC.

7.2.1. Enquête épidémiologique pour répertorier les exploitations de contact ;

- L'afscs réalise une enquête qui détermine les troupeaux de contact et les indique sur une carte ;
- Placement des exploitations de contact sous suspicion (voir point 7.1.3);
- Sciensano reçoit une copie de cette carte ainsi qu'une liste des exploitations (avec les coordonnées des éleveurs et du vétérinaire), et convoque une réunion des laboratoires concernés ;
- En préparation à cette réunion, Sciensano transmet la carte des exploitations de contact aux différents laboratoires qui établiront, chacun suivant un critère de distance la plus proche, une liste des exploitations pour lesquelles ils pourront réaliser les analyses ;
- Organisation d'une vidéoconférence AFSCA- laboratoires (groupe coordination foyer) afin d'évaluer la capacité des laboratoires à effectuer les tests IFNg dans un délai de 30 jours après la suspension du statut indemne (voir point 7.1.3). En fonction des résultats, planification des tests ELISA et IFNg ou des intradermotuberculinations comparatives sur les animaux de plus de 6 semaines, si les délais pour effectuer les tests sérologiques sont supérieurs à 30 jours (voir point 7.4.4.6).

7.2.2. Ordre d'abattage

- La liste des abattoirs pouvant accueillir des bovins avec un ordre d'abattage est publiée sur le site web de l'AFSCA (Professionnels > Production animale > Animaux > Santé animale> généralité) ;
- Abattage des bovins dans un délai de 30 jours ;
- Transport direct des bovins munis d'un ordre d'abattage de l'exploitation vers l'abattoir : transport scellé par l'AFSCA ;
- Le document de transport et l'ordre d'abattage sont délivrés par l'AFSCA (ULC) pour le transport vers un abattoir désigné ;

7.2.2.1. **Instructions pour l'exploitant de l'abattoir et le CDMRA**

- L'exploitant d'un abattoir qui abat des bovins munis d'un « ordre d'abattage » dans le cadre de la lutte contre la tuberculose ou des bovins provenant d'un foyer mentionne la raison particulière de l'abattage dans le registre de l'abattoir;
- l'exploitant de l'abattoir désigné détient les bovins munis d'un « ordre d'abattage » séparément des autres bovins et les abat en dernier lieu dans les vingt-quatre heures de leur arrivée ;
- Avant l'abattage de l'animal, le CDM vérifie l'exactitude des documents et réalise l'inspection antemortem des bovins puis communique les résultats des inspections dans Beltrace ;
- Le CDM de l'abattoir désigné transmet à l'ULC rédactrice le document d'ordre d'abattage et de transport complété et signé après avoir complété sa partie ;
- l'exploitant de l'abattoir désigné fait évaluer par le CDM de l'Agence, le nettoyage et la désinfection de l'abattoir après l'abattage des bovins munis d'un « ordre d'abattage », avant qu'une nouvelle activité d'abattage n'ait lieu.

7.2.2.2. **Instructions pour le transporteur**

- Le transporteur conduit directement les bovins avec un ordre d'abattage et une autorisation de transport, dans son véhicule plombé, de l'exploitation à l'abattoir désigné.
- Le transporteur confirme qu'il a pris connaissance de la nature du transport en complétant et signant sa partie du document de transport qui lui a été transmise ;
- Le transporteur qui a transporté les bovins munis d'un « ordre d'abattage » vers l'abattoir désigné fait évaluer le nettoyage et la désinfection du véhicule par le CDM de l'Agence avant qu'il ne quitte l'abattoir.

7.3. Procédure de confirmation

7.3.1. Généralités

Tout examen non bactériologique (ELISA, IFNg) qui suivant le tableau de décisions validé par le groupe « TUB Labo » a conduit à définir un bovin comme potentiellement infecté est soumis à une procédure de confirmation avant que l'Agence ne déclare l'animal concerné comme « bovin suspect ».

Aucune procédure de confirmation d'un test IFNg n'est cependant mise en place dans les cas suivants :

- 1° si l'exploitation dans laquelle séjourne le bovin est déclarée comme foyer;
- 2° si les tests ELISA et IFNg effectués simultanément sur un même échantillon ou sur un échantillon pris séparément chez un même bovin donnent chacun un résultat non négatif (en fonction du tableau de décisions validé par le groupe « TUB Labo »).

7.3.2. Principe

Un test ELISA positif sera confirmé par un test Enferplex réalisé chez Sciensano (voir modalités de transfert point 7.4.4.8).

Pour chaque bovin déclaré comme potentiellement infecté en fonction du tableau de décisions validé par le groupe « TUB Labo » un deuxième test IFNg sera réalisé par le même laboratoire qui a effectué le premier test ou par un autre laboratoire en fonction des capacités disponibles.

7.3.3. Directives

Lors d'un résultat non négatif à un test ELISA, le laboratoire ayant effectué le test envoie un échantillon de sang à sciensano afin que celui-ci réalise le test de confirmation Enferplex.

Lorsqu'un bovin est déclaré comme potentiellement infecté en fonction du tableau de décisions validé par le groupe « TUB Labo », l'ULC envoie une demande d'échantillonnage au vétérinaire de l'exploitation concerné pour effectuer le test de confirmation. Cette demande au vétérinaire d'exploitation est relayée par l'administration de la santé ARSIA/DGZ qui est chargée d'imprimer les formulaires-comportant toutes les données administratives facilitant le traitement administratif du laboratoire et précisant de manière standardisée les informations et motifs devant figurer sur le rapport d'essai et devant être notifiés à la base de données.

7.4. Instructions spécifiques : détenteur – vétérinaire d'exploitation – ARSIA/DGZ - laboratoires

7.4.1. Instructions pour le détenteur.

7.4.1.1. Généralités.

Lors de tout programme officiel, il est attendu – comme défini légalement par ailleurs – du détenteur comme responsable du troupeau qu'il appelle le vétérinaire d'exploitation pour réaliser l'échantillonnage ou les tuberculinations et qu'il lui assure les conditions de contentions des animaux optimales pour l'exécution correcte de son travail.

Concrètement, cela signifie que le détenteur :

- contacte à temps son vétérinaire d'exploitation et convient d'un rendez-vous pour la réalisation des échantillonnages et/ou des tuberculinations (en cas de dépassement de la capacité des laboratoires ou pour la libération d'un foyer) ;
- apporte l'aide nécessaire, notamment assure la contention des animaux ;
- s'assure que tous les animaux soient correctement identifiés;
- assiste le vétérinaire lorsque celui-ci réalise les échantillonnages ou les tuberculinations et la lecture de celles-ci;
- met toutes les informations administratives à la disposition du vétérinaire ;
- informe tout de suite son ULC par écrit (par mail ou par fax) (voir le point 9.4).si le vétérinaire refuse de réaliser la mission ;
- fait abattre ses bovins munis d'un ordre d'abattage dans un abattoir de son choix repris sur la liste mise à disposition par l'AFSCA, au plus tard dans les 30 jours qui suivent la notification par l'AFSCA ;
- introduit par téléphone ou mail , auprès de l'ULC, au moins 48 h avant le transport vers l'abattoir désigné, une demande de documents de transport;
- informe l'abattoir désigné de l'arrivée des bovins munis d'un ordre d'abattage au moins 48h avant le transport ;
- remplit sa partie du document de transport et le transmet au transporteur.

Si le responsable du troupeau refuse d'appeler le vétérinaire d'exploitation ou d'assister ce dernier lors de la réalisation de la prise de sang ou de la tuberculination, son troupeau sera d'office considéré comme suspect, et sera bloqué jusqu'au moment où la mission demandée aura été réalisée (*article 62 de l'arrêté royal du 17-01-2021 relatif à la lutte contre la tuberculose bovine*) ;

Par ailleurs, ce refus constitue une infraction pénale passible de l'établissement d'un procès-verbal transmis dans un premier temps au Commissaire aux amendes administratives et ,en absence de transaction, transmis dans un deuxième temps transmis au Procureur du Roi (*article 23, 3°, b) de la loi du 24 mars 1987 relative à la santé des animaux ; article 3 de l'arrêté royal du 22 février 2001 organisant les contrôles effectués par l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire et modifiant diverses dispositions légales*).

7.4.1.2. Indemnités lors d'abattage par ordre de bovins.

Le responsable des bovins abattus par ordre reçoit une indemnité pour ses bovins, payée par le Fonds. Les documents relatifs à l'expertise des bovins sont disponibles sur le site du SPF santé publique : <https://www.health.belgium.be/fr/bovins-0>

7.4.2. Instructions pour le vétérinaire.

7.4.2.1. Généralités.

Le vétérinaire d'exploitation (ou un vétérinaire employé par – et sous la responsabilité du vétérinaire d'épidémiosurveillance) est responsable de :

Pour les tuberculinations :

- La notification préalable (au minimum 24h à l'avance) à l'ULC concernée de la date et de l'heure des tuberculinations à réaliser ;
- La réalisation des tuberculinations, la lecture de celles-ci après 72h et le rapportage des résultats au moyen du document global mis à disposition par l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ. Toutefois, toute réaction positive ou douteuse de tuberculination doit être notifiées immédiatement à l'ULC du troupeau ;

Pour les prélèvements sanguins

- La réalisation des échantillonnages prévus selon les instructions ci-dessous (sous réserve d'avoir été appelé dans les délais par le détenteur) ;
- En cas de screening (uniquement prélèvement sanguin en vue d'un test ELISA) , le vétérinaire est responsable:
 - o pour le prélèvement de sérum ;
 - o pour l'identification de l'échantillon ;
 - o pour la conservation de l'échantillon à son cabinet dans des conditions optimales jusqu'à ce que celui-ci puisse être collecté par le laboratoire agréé ;
 - o pour la livraison conforme au service de ramassage dans les 8 jours.
- En cas de double prélèvement (pour un test ELISA et un test IFNg), le vétérinaire est responsable :

- pour le prélèvement de sérum et de sang non coagulé ;
- pour l'identification de l'échantillon ;
- pour la conservation des échantillons (IFNg) entre 16° et 23°C, mais pas à 4°C jusqu'au moment du ramassage de l'échantillon chez l'éleveur ;
- pour la prise de rendez-vous préalable avec le laboratoire pour tout test IFNg, au moins 3 jours ouvrables à l'avance.

Lors de l'introduction de bovins à partir de pays non officiellement indemnes de tuberculose :

- de contacter lui-même le laboratoire pour convenir d'un rendez-vous pour un test IFNg,
- de réaliser l'échantillonnage et acheminer l'échantillon prélevé au laboratoire dans les 8 heures suivant le prélèvement ;
- . de prélever un deuxième échantillon sanguin qui servira à effectuer un test ELISA.

Chaque vétérinaire reçoit de l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ une liste des bovins à échantillonner ou à tuberculer ainsi que la période durant laquelle les prélèvements/tuberculinations doivent être réalisés. L'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ fournira soit une liste avec les animaux à prélever individuellement, soit une liste avec les animaux correspondant aux catégories d'âge appropriées ainsi que les instructions appropriées.

Après réception, le vétérinaire contrôle ses ordres de mission :

- S'il pense ne pas être dans la mesure de réaliser une mission, il en avertit l'ULC par écrit (par mail ou par fax) (voir point 9.4). Il mentionne à cette occasion l'identification du troupeau, la raison pour laquelle l'échantillonnage ou la tuberculination ne peut pas être réalisé, et la mission concernée ;
- Dans le cas où l'ULC juge la raison valable, elle en avertit le détenteur, le vétérinaire et l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ ;
- Dans le cas où l'ULC juge que la raison n'est pas valable ou n'est pas suffisamment motivée, l'échantillonnage ou la tuberculination devront encore être effectués durant la période prévue à cet effet. L'ULC en avertira le détenteur, le vétérinaire et l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ ;
- Dans le cas où il s'agit d'un bovin « import risk » qui a été vendu vers un autre troupeau, l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ fera une nouvelle mission pour le troupeau dans lequel le bovin se trouve actuellement ;
- Dans le cas où il n'y a plus suffisamment d'animaux de l'ordre de mission original présents dans le troupeau, il/elle contacte alors l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ pour obtenir un formulaire de mission actualisé (liste d'échantillonnage) ;
- Dans le cas où le nombre d'échantillons à prélever est trop important ou si l'échantillonnage ne peut être réalisé en une seule journée, le vétérinaire d'exploitation peut, soit engager un collègue sous sa responsabilité, soit fractionner les échantillonnages en plusieurs jours.

Si le vétérinaire d'exploitation est empêché par le responsable du troupeau de réaliser le prélèvement ou la tuberculination demandé, il est tenu d'en informer immédiatement l'ULC par écrit (par mail ou par fax) (voir point 9.4).

Si le vétérinaire d'exploitation n'est pas disponible, il s'assure que ses missions soient réalisées par le vétérinaire d'exploitation suppléant.

7.4.2.2. Directives.

Les échantillons prélevés dans le cadre des tests sérologique (ELISA) doivent être réalisés avec des tubes ne contenant pas d'anticoagulant (Capuchon rouge). Les prélèvements pour les tests IFNg doivent eux être réalisés sur des tubes contenant des anticoagulants- de l'héparine de lithium (capuchon vert). Les tubes avec anticoagulant doivent être retournés directement après la prise de sang et remués plusieurs fois pour permettre une répartition homogène de l'anticoagulant, ceci afin d'éviter la formation de caillot.

Comme mentionné au point 5.2.2, le nombre d'animaux à échantillonner dépend du volet de la surveillance ou du motif. Les chiffres ci-dessous précisent le nombre d'animaux à échantillonner par catégorie d'âge. Au cas où le groupe d'animaux comporte moins d'animaux, tous les animaux présents doivent être prélevés.

- Volet 1 – Programme de surveillance standard:
 - Catégorie d'animaux âgés de 12 mois et plus: 1 tube de sang coagulé (sans anticoagulant, capuchon rouge).
 - Si le premier test (ELISA) est confirmé positif : 1 tube de sang coagulé (sans anticoagulant, capuchon rouge) et 1 tube de sang non-coagulé (avec anticoagulant héparine de lithium, capuchon vert) à remuer plusieurs fois pour les bovins concernés;
- Volet 2 – Programme de surveillance appliqué aux bovins provenant d'une région non officiellement indemne de tuberculose:
 - Les bovins de plus de 6 mois désignés individuellement: sang coagulé (tube sans anticoagulant- capuchon rouge) et 1 tube de sang non-coagulé (avec anticoagulant héparine de lithium, capuchon vert) à remuer plusieurs fois;
- Volet 3 – Programme de surveillance à réaliser dans les exploitations pour lesquelles un bovin a présenté des lésions suspectes de tuberculose à l'autopsie ou à l'abattoir.
 - Les bovins de plus de 6 mois : 1 tube de sang coagulé (sans anticoagulant, capuchon rouge) et 1 tube de sang non-coagulé (avec anticoagulant héparine de lithium, capuchon vert) à remuer plusieurs fois;
- Volet 4 – Programme de surveillance à réaliser dans les exploitations où une suspicion d'infection par l'agent de la tuberculose a été levée
 - Les bovins de plus de 6 mois : 1 tube de sang coagulé (sans anticoagulant, capuchon rouge) et 1 tube de sang non-coagulé (avec anticoagulant, capuchon vert) à remuer plusieurs fois ;
- Volet 5 – Programme de surveillance à réaliser dans les exploitations libérées après avoir été déclarées comme foyer
 - Si élimination totale :Les bovins de plus de 6 mois :
 - 1 tube de sang coagulé (sans anticoagulant, capuchon rouge);
 - Si élimination partielle : Les bovins de plus de 6 mois
 - 1 tube de sang coagulé (sans anticoagulant, capuchon rouge) et 1 tube de sang non-coagulé (avec anticoagulant héparine de lithium, capuchon vert) à remuer plusieurs fois.
- Volet 6 – Programme de surveillance à réaliser dans les exploitations ayant fait l'objet d'un bilan partiel de dépistage avec un résultat favorable

- Les bovins de plus de 6 mois :
 - 1 tube de sang coagulé (sans anticoagulant, capuchon rouge et 1 tube de sang non-coagulé (avec anticoagulant héparine de lithium, capuchon vert) à remuer plusieurs fois.
- Suspicion
 - Bovins de plus de 6 mois : (ELISA +IFNg)
 - Foyer
 - Bovins de plus de 6 mois : ELISA + IFNg
 - Tuberculinations de tous les bovins de plus de 6 semaines
 - Introduction d'un bovin provenant d'une zone non officiellement indemne de tuberculose
 - Bovin de plus de 6 mois : ELISA +IFNg
 - Le vétérinaire prend lui-même contact avec l'administration de la santé ARSIA/DGZ pour l'informer de la réalisation de tests sur le(s) bovin(s) provenant de zones non officiellement indemnes de tuberculose.

Le vétérinaire d'exploitation respecte strictement les directives en ce qui concerne les échantillonnages et les tuberculinations. En cas d'infraction, son agrément pourra lui être retiré par le conseil disciplinaire.

En pratique :

- Tous les échantillonnages et les tuberculinations doivent être impérativement réalisés endéans les délais transmis par l'administration centrale de la santé ARSIA/DGZ ou par l'AFSCA;
- Les échantillons sanguins prélevés dans le cadre de la surveillance lors du winterscreening doivent être délivrés ou arriver au laboratoire selon les dispositions relatives à l'AR IBR. Les échantillons devant servir à un test IFNg doivent parvenir au laboratoire dans un délai maximal de 8 heures après leur prélèvement en concertation avec le laboratoire concerné.

Les échantillonnages et tuberculinations doivent être réalisés dans les règles de l'art.

- La prise d'échantillons doit être réalisée de manière à obtenir des échantillons de bonne qualité ;
- Les tubes de sang doivent être remplis d'environ 8 ml de sang de façon à ce qu'après traitement des échantillons il reste assez de sérum pour les analyses prévues et au minimum 5 ml de sang avec anticoagulant héparine de lithium. Si le volume fourni ne permet pas d'effectuer le conditionnement prévu, le prélèvement ne sera pas indemnisé ;
- La contamination des échantillons et la contamination croisée entre échantillons doivent être évitées;
- Les tuberculinations doivent être réalisées de façon à pouvoir lire le résultat correctement. Cela signifie que la peau où la tuberculination sera réalisée doit être rasée (tondeuse, ciseaux ou rasoir (faire attention à l'irritation) et nettoyée, que la dose de tuberculine (non-périmée) doit être injectée en intradermique et que la présence d'un nodule d'injection doit être contrôlée. Après 72 heures l'épaisseur du pli de peau au point d'injection est mesurée.
- Les échantillons doivent être livrés le plus rapidement possible et dans de bonnes conditions au laboratoire.
 - ✓ "Le plus rapidement possible" signifie qu'un échantillon servant à un test ELISA doit être acheminé au laboratoire endéans les 8 jours calendrier qui suivent son prélèvement. Un échantillon servant à un test IFNg doit être acheminé au laboratoire dans les 8 heures qui suivent son prélèvement et avant l'heure indiquée par le laboratoire concerné.

- ✓ “Dans de bonnes conditions” signifie que le vétérinaire doit maintenir les échantillons dans des conditions de conservation optimales jusqu’à leur livraison, afin d’éviter toute diminution de qualité de l’échantillon. En ce qui concerne les tubes de sang coagulé cela signifie pratiquement qu’il faut laisser coaguler le sang à température ambiante durant quelques heures, puis conserver les tubes à 4°C. En ce qui concerne les tubes avec anticoagulant pour le test IFNg, la température pour le transport doit être comprise entre 16°C et 23°C mais surtout pas être transportés à 4°C.

La qualité des échantillons sera vérifiée par le laboratoire lors de leur arrivée. **Voir point 7.4.4.2.**

Le vétérinaire respecte toutes les obligations administratives:

- Dans le cadre de l’obtention de son INDEMNISATION, le vétérinaire notifie **à l’administration de la santé de l’ARSIA/DGZ**, au moyen du document global fourni, le résultat d’une tuberculination **endéans les 2 jours ouvrables qui suivent la lecture** du résultat.
- Dans le cadre de la NOTIFICATION OBLIGATOIRE, **en cas de résultat positif ou douteux après tuberculination, le vétérinaire avertit en plus immédiatement l’ULC par téléphone et confirme ceci par fax ou par mail** (voir point 9.4);
- Tous les échantillons sont correctement identifiés. Quand ils sont mis à disposition, les moyens d’identification (autocollants ou listes) de l’administration de la santé de l’ARSIA/DGZ sont utilisés;
- Les formulaires de demande d’analyse sont correctement remplis, conformément aux directives usuelles. Les motifs d’analyse sont précisés:

7.4.2.3. Indemnisations.

Le Fonds paie, sur base des états de frais envoyés par le vétérinaire d’exploitation ou le vétérinaire engagé sous sa responsabilité, les indemnisations suivantes pour l’échantillonnage et pour les tuberculinations. Les montants ci-dessous sont indexés chaque année à partir du 1^{er} octobre :

- Prélèvements de sang (en dehors des prélèvements visés par AR IBR):
Base légale: AR du 17-01-2021 relatif à la lutte contre la tuberculose bovine;
 - *Visite d’exploitation : 30,11 euros par troupeau par visite par vétérinaire et par jour ;*
 - *Echantillonnage: 3,00 euros par échantillon.*
- Tuberculinations:
Base légale: AR du 17-01-2021 relatif à la lutte contre la tuberculose bovine ;
 - *Visite d’exploitation: 30,11 euros par troupeau;*
 - *Tuberculination: 5,86 euros par tuberculination.*

Aucune indemnité n’est payée par le Fonds dans le cadre des examens et rééchantillonnages liés à l’introduction de bovins à partir de zones non officiellement indemnes de tuberculose. Ces frais sont à charge du responsable.

Aucune indemnité ne sera versée pour les échantillons prélevés si le vétérinaire a commis une erreur pendant la réalisation du prélèvement, ou lors de l’identification de celui-ci ou en cas de stockage non adéquat sous la responsabilité du vétérinaire (= échantillons non conformes avant analyse : voir point 7.4.4.3). Le laboratoire pourra facturer les frais logistiques au vétérinaire préleveur si tous les échantillons sont non-conformes avant analyse).

Si le vétérinaire prélève plus d’échantillons que ce qui lui est demandé dans sa mission, ces échantillons supplémentaires ne seront pas indemnisés non plus.

Dans le cas où une fraude ou des négligences répétées et extrêmes lors des échantillonnages ou des tuberculinations sont établies, le vétérinaire concerné perdra tout droit à une indemnisation quelles que soient les autres sanctions prises. Dans ce cadre, il est important de noter que l'AFSCA pourra faire procéder à des analyses ADN sur des échantillons de troupeaux sélectionnés de façon arbitraire ou orientée.

Les indemnisations sont accordées selon les procédures habituelles, sur base d'états de frais.

7.4.3. Instructions à ARSIA et DGZ (administration de la santé).

7.4.3.1. Généralités.

L'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ est responsable des tâches suivantes:

- de la sélection des troupeaux dans le cadre de la surveillance standard et de la sélection des bovins devant faire l'objet d'un échantillonnage dans le cadre de la surveillance relative à la tuberculose (extraction des identités des bovins depuis l'inventaire SANITEL du troupeau) ;
- d'informer le vétérinaire d'exploitation et le détenteur concerné de la sélection du troupeau en vue de l'échantillonnage dans le cadre de la surveillance ;
- de la planification des échantillonnages dans le cadre du programme de surveillance (listes des animaux à échantillonner + type(s) d'échantillon(s) à prélever par le vétérinaire + type de test à réaliser par le laboratoire) ;
- de communiquer au vétérinaire d'exploitation les tests à réaliser, la période durant laquelle les prélèvements doivent être réalisés, le nombre d'échantillons à prélever ainsi que l'identité des animaux / groupes d'animaux à prélever ;
- de la transmission au vétérinaire d'exploitation des modalités d'échantillonnage en fonction du type de test ;
- d'imprimer les formulaires d'accompagnement des échantillons comportant toutes les données administratives facilitant le traitement administratif du laboratoire et précisant de manière standardisée les informations et motifs devant figurer sur le rapport d'essai et devant être notifiés à la base de données.
- de rédiger une liste totale des missions à réaliser par les vétérinaires d'exploitation et d'envoyer cette liste vers PRI@favv-afscs.be et vers les ULC (ULC.PRI@favv-afsva.be) (voir le point 9.4). Cette liste contient au minimum les données suivantes: numéro de troupeau, nom et adresse du détenteur, vétérinaire, motif;
- de la gestion de la banque de données relatives aux tests réalisés dans le cadre de la lutte contre la tuberculose bovine ;
- de l'envoi d'un récapitulatif mensuel des tests / missions réalisés à l'AFSCA ou de permettre à l'AFSCA d'avoir accès à ces données ;
- de l'envoi mensuel au SPF du nombre / type de tests réalisés par chaque laboratoire autorisé ;
- de l'établissement des listes de prestations vétérinaires ;
- de l'établissement d'une liste des missions non réalisées (hors tests de confirmation et suivi des lésions à l'abattoir) dans le cadre de l'AR et de la transmission de cette liste aux ULC :

7.4.3.2. Préparation pratique.

L'administration de la santé ARSIA/DGZ établit la liste des troupeaux à échantillonner dans le cadre du programme de surveillance pour le 1^{er} décembre de l'année concernée:

- La liste des troupeaux à échantillonner dans le cadre du programme de surveillance standard (1/5ème des troupeaux non compris ceux qui font l'objet d'un suivi particulier) est établie par l'administration de la santé DGZ/ARSIA et basée sur le code postal ;
- La liste complémentaire des troupeaux qui font l'objet d'un suivi et qui doivent être inclus dans le programme de surveillance est établie par l'AFSCA et communiquée à l'administration de la santé ARSIA /DGZ au plus tard pour le 15 novembre de chaque année.

Sur base des listes de troupeaux à échantillonner/tuberculiner, l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ fournit à chaque vétérinaire une liste de travail. Cette liste de travail mentionnera pour chaque exploitation:

- quels échantillonnages / tuberculinations sont prévus;
- la catégorie d'âge et l'identification des animaux à prélever (sélections individuelles) ou des animaux qui entrent en ligne de compte pour l'échantillonnage (sondage);
- l'identification individuelle des animaux qui doivent être tuberculines (sélections individuelles), le cas échéant;
- tous les formulaires nécessaires qui doivent accompagner les échantillons au laboratoire;
- tous les documents nécessaires pour la lecture et la notification des résultats des tuberculinations réalisées, le cas échéant;
- dans le cas de l'administration de la santé de l'ARSIA, les codes-barres nécessaires à coller sur les échantillons sanguins.
- dans le cas de l'administration de la santé de DGZ, des tubes avec gel à double code-barres sont utilisés, la deuxième partie du code-barres doit être collée sur le formulaire de demande à côté de l'identification de l'animal.

L'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ transmet aux ULC concernées les formulaires pour les prélèvements / tuberculinations des troupeaux sans vétérinaire d'exploitation.

7.4.3.3. **Indemnisation**

Les administrations de la santé ARSIA/DGZ sont indemnisées pour leur travail selon les accords passés dans la convention cadre avec l'AFSCA (sous-conventions 4 et 5)

7.4.4. Instructions aux laboratoires

7.4.4.1. **Généralités**

Pour la première année d'application de l'arrêté royal relatif à la lutte contre la tuberculose bovine (2021) , Sciensano définit le niveau de validation nécessaire pour qu'un laboratoire agréé pour des tests sérologiques en maladies animales, mais non accrédité pour les tests non bactériologiques pour la détection de la tuberculose, puisse effectuer les analyses prévues dans le cadre du présent arrêté.

Un laboratoire qui reçoit des échantillons à examiner dans le cadre de l'AR relatif à la lutte contre la tuberculose bovine peut disposer d'informations pertinentes provenant de SANITEL concernant les bovins et les troupeaux des bovins dont proviennent les échantillons ainsi que pour chaque troupeau, les coordonnées du responsable et du vétérinaire d'exploitation concernés. L'Agence rend cette information provenant de SANITEL disponible à tout laboratoire agréé qui le demande.

Les laboratoires transmettent au gestionnaire du Fonds pour le 1^{er} février 2021, les prix unitaires appliqués pour chaque test non bactériologique (ELISA, Enferplex et IFNg) ainsi que pour les frais logistiques liés au test IFNg.

7.4.4.2. Traitement et conservation des échantillons.

Les échantillons sanguins concernent le sang coagulé (tube sans anticoagulant) pour les tests ELISA ou le sang non coagulé (tube avec anticoagulant) pour les tests IFNg.

Avant de procéder au conditionnement des échantillons, le laboratoire agréé effectue un contrôle qualité des échantillons reçus. Ce contrôle qualité se rapporte:

- au respect de l'ordre de mission, à savoir l'échantillonnage de différentes catégories d'âge suivant le volet de la campagne qui concerne le troupeau;
- au respect par le vétérinaire des instructions administratives : formulaire de demande d'analyse correctement rempli (y compris le motif précis), échantillons correctement identifiés, intervalle de maximum 8 jours/ 8 heures entre le prélèvement et la livraison des échantillons;
- à la qualité physique et aux aspects visuels des échantillons (utilisation du tube mentionné pour le sang avec coagulant (refus de sang prélevé avec coagulant tel que l'EDTA) hémolyse, couleur, odeur, état trouble, présence de caillots dans le tube de sang avec coagulant) ;
- température de transport pour les échantillons IFNg: 16-23°C
- volume suffisant pour permettre les analyses (minimum 5 ml pour le test IFNg et 8 ml pour le test ELISA).

Le laboratoire vérifie la qualité des échantillons lors de leur arrivée.

Lors du conditionnement, à partir de chaque échantillon coagulé, un volume suffisant de sérum est transféré dans un ou plusieurs micro-tubes, afin de pouvoir réaliser les analyses prévues. Le laboratoire détermine lui-même l'ordre des échantillons sur les blocs.

Le tableau suivant précise les types d'échantillons ou de sous-échantillons à conserver par le laboratoire ainsi que la méthode et la durée minimale de conservation, à des fins soit de validation de nouveaux kits d'analyses par le LNR ou de contrôle des profils génétiques par l'Agence :

Type d'échantillons / de sous-échantillon	Mode de conservation	Durée minimale de conservation (mois)
Sérum	Congélation -20°C	3
Plasmas activés (issus de la stimulation PPD)	Congélation -20°C	3
Plasmas activés (issus de toutes les stimulations) à la demande du LNR	Congélation -20°C	A convenir au préalable avec sciensano

7.4.4.3. Echantillons non conformes / Résultats non-conformes

➤ **Un échantillon est non conforme** s'il ne correspond pas aux exigences de qualité requises :

- Problème relevé avant analyse :
 - problème administratif ;
 - erreur de tubes ou manque de mélange et donc formation de caillot.
- Problème relevé pendant l'analyse (caillot). Les échantillons révélés non-conformes pendant l'analyse seront mentionnés sur le rapport d'essai du laboratoire avec 'résultat non conforme'

- **Un résultats est non-conforme** si les cellules sont mortes (le témoin positif qui doit normalement produire beaucoup d'IFNg n'en produit pas). Les tubes n'ont pas été conservés à la bonne température ou ne sont pas arrivés dans le laps de temps préconisé.

Toutefois, pour ce dernier point, il arrive que certains échantillons ne puissent être stimulés avec le pokeweed (témoin positif du test) alors que la qualité de l'échantillon reçu semble correcte. Pour éviter qu'un trop grand nombre de test soit refait aux frais des vétérinaires, une limite de 7% de résultats non conformes a été définie. Au-delà de cette limite, on considère que c'est probablement un défaut dans le prélèvement qui engendre des problèmes dans le laboratoire. Ce pourcentage a été fixé en se basant sur l'expérience des laboratoires et sera actualisé en fonction de l'expérience de terrain.

Tout échantillonnage non conforme **avant** analyse est considéré comme non réalisé en ce qui concerne le dépistage ou la surveillance de la tuberculose bovine. Aucune indemnité n'est payée au vétérinaire pour ces prélèvements. Les frais d'acheminement des échantillons non conformes peuvent être facturés au vétérinaire préleveur par le laboratoire.

Le laboratoire en informe le plus rapidement possible le vétérinaire préleveur. Ce dernier prélève à nouveau les bovins concernés dans les 5 jours ouvrables en respectant les modalités d'échantillonnage définies par le laboratoire.

Les résultats non-conformes seront mentionnés sur le rapport d'essai du laboratoire afin d'informer le vétérinaire et l'ULC .

Le résultat non conforme sera enregistré par le laboratoire, dans la base de donnée centralisée . En fonction des résultats globaux du troupeau et de l'enquête épidémiologique, l'AFSCA pourra demander au vétérinaire d'exploitation de réaliser un nouveau prélèvement, sur les bovins concernés en respectant les modalités d'échantillonnage définies par le laboratoire. S'il y a plus de 7% de résultats non conformes pour ce troupeau, les frais logistiques et d'analyse sont à charge du vétérinaire.

Au cas où le vétérinaire d'exploitation n'applique pas la nouvelle mission sans raison fondée l'ULC rédige un PV et suspend le statut du troupeau.

Notification des résultats non conformes :

- dans le cadre de la surveillance ou d'un test individuel, le laboratoire notifie immédiatement le rapport d'essai par mail suivant la procédure usuelle définie par l'Agence (notification d'un résultat non-conforme) auprès du vétérinaire qui a effectué le prélèvement et de l'ULC. Via le rapport d'essai, le laboratoire mentionne à minima l'identification du troupeau, le vétérinaire et les animaux concernés.
- dans le cadre d'un foyer, le laboratoire notifie ceci à l'ULC concernée de l'AFSCA (voir point 9.4).

7.4.4.4. **Gestion des résultats non concluants**

Il s'agit de résultats obtenus sur un échantillon non altéré et dont la nature est adéquate pour le type d'examen à réaliser mais qui ne donne aucune information pertinente sur l'infection ou l'exposition d'un bovin vis-à-vis de l'agent de la tuberculose. Ce sont des échantillons dont les cellules produisent de l'IFNg en l'absence de stimulation (c'est-à-dire une absence de réactivité mesurée grâce au témoin positif) .

En dehors d'un test individuel, en fonction des autres résultats du troupeau et des besoins de l'enquête épidémiologique, l'AFSCA peut décider que tout résultat non-concluant doit faire l'objet d'un ré-échantillonnage et d'une ré-analyse de l'animal ou des animaux concerné(s).

Lorsqu'un ou plusieurs bovins ayant obtenu un résultat non concluant doit/doivent faire l'objet d'un ré-échantillonnage, l'Agence en informe le vétérinaire préleveur, qui planifie la prise d'échantillons. L'administration de la santé de ARSIA/DGZ fournit au vétérinaire la liste des animaux à re-prélever.

7.4.4.5. Gestion des échantillons à l'arrivée au laboratoire

Phase1 :

- A l'arrivée au laboratoire, les échantillons sont contrôlés visuellement (contrôle administratif, tube correct, la température correcte, absence de caillots, ...) :
 - Soit tous les échantillons sont conformes, ces échantillons passent à l'étape suivante pour être analysés ;
 - Soit tous ou certains échantillons sont non conformes :
 - → **le laboratoire** informe le vétérinaire d'exploitation qui prélève de nouveaux échantillons sur les bovins concernés dès que possible (annexe 3, A7 du AR)
Pour ce nouvel échantillonnage : indemnités payées par le Fonds sauf si à nouveau les échantillons sont non conformes avant analyse.

Phase 2 :

- Les échantillons conformes sont analysés ; **résultats** possibles :
 - **Positif/négatif**
 - **Résultat non conforme** (ex : caillot ou lorsque le contrôle positif de l'échantillon est négatif. Les lymphocytes ne sont pas viables).
L'**ULC** décide (sur la base du motif, des résultats des analyses et de l'enquête épidémiologique) si les animaux ayant un résultat non conforme doivent être rééchantillonnés, Si c'est le cas :
 - < ou = 7 % de résultats non conformes : tous les frais de rééchantillonnage (logistique, analyse, indemnisation visite, indemnisation du prélèvement) sont à charge du Fonds ;
 - > 7% de résultats non conformes : tous les frais de rééchantillonnage (logistique, analyse- visite -prélèvements) sont à charge du vétérinaire qui refait les prélèvements ;
 - **Résultat non concluant** (lorsque le contrôle négatif de l'échantillon est positif, L'interféron gamma est libéré mais les lymphocytes ne sont pas stimulés).
L'**ULC** décide (sur la base du motif, des résultats des analyses et de l'enquête épidémiologique) si les animaux dont le résultat est non-concluant doivent être rééchantillonnés :
 - Indépendamment du nombre de résultats non-concluants, tous les frais d'échantillonnage et d'analyses sont pris en charge par le Fonds.
 - **Résultats non conformes et non concluants** : L'**ULC** décide (sur la base du motif, des résultats des analyses et de l'enquête épidémiologique) si les animaux dont le résultat est non-concluant ou non -conforme doivent être rééchantillonnés :
 - Les frais logistiques sont pris en charge par le Fonds ;
 - Les frais de réanalyse des échantillons ayant donné un résultat non conforme sont à charge du vétérinaire si plus de 7% de résultats non conformes. Les frais de réanalyse des échantillons ayant donné un résultat non concluant ou ayant donnée un résultat non conforme (si = < à 7%) sont pris en charge par le Fonds ;
 - La visite du vétérinaire est indemnisée (car il y a au moins eu un résultat non-concluant) ;
 - Les indemnités de reprélèvement des échantillons ayant donné un résultat non conforme ne sont pas payées au vétérinaire si plus de 7% de résultats non conformes.

Les indemnités de reprélèvement des échantillons ayant donné un résultat non concluant ou ayant donnée un résultat non conforme(si = < à 7%) sont pris en charge par le Fonds .

L'information de facturation des frais logistiques et d'analyses suite à des reprélèvements après résultat non conformes et/ou non concluants doit être mentionnée sur la demande d'analyse éditée par l'administration de la santé ARSIA/DGZ (code, cfr référentiel technique) de sorte que le laboratoire applique correctement la décision.

7.4.4.6. **Gestion des tests IFNg en cas de foyer(s) (exploitations de contact)**

Voir point 7.2.1.

Si la capacité des laboratoires est dépassée, les exploitations de contact qui ne peuvent être testées dans les délais seront testées par tuberculination comparative afin d'éviter un blocage prolongé de l'exploitation de contact.

Laboratoire	Personne à contacter	Adresse e-mail (minimum 2)
Sciensano	David Fretin	David.fretin@sciensano.be Sylvie.Marche@sciensano.be
ARSIA	Christian Quinet Fabien Grégoire	christian.quinet@arsia.be fabien.gregoire@arsia.be
DGZ	Mia Vanrobaeys Ellen Van Driessche	Mia.vanrobaeys@dgz.be labo@dgz.be
AFSCA	Jacqueline Evers	PRI@favv-afscs.be
LAVETAN	Annelies Goolaerts	annelies.goolaerts@lavetan.be sales.dierproductie@lavetan.be

La mission envoyée par l'administration de la santé de DGZ/ARSIA mentionnera le laboratoire que l'éleveur/vétérinaire devra contacter afin de planifier les prélèvements.

7.4.4.7. **Rapportage.**

Les directives suivantes doivent être suivies en ce qui concerne le rapportage des résultats:

- Le rapportage et l'échange de données utiles entre les laboratoires se passent autant que possible par voie électronique;
- Les laboratoires communiquent tous les résultats, sauf les résultats des profils ADN, par voie écrite ou électronique aux vétérinaires concernés et éventuellement aux détenteurs;
- Les laboratoires communiquent les résultats ainsi que les données (voir référentiel technique) à la base de données gérée par les associations ARSIA/DGZ ;
- Les laboratoires notifient les résultats non-négatifs via les canaux habituels de notification obligatoire à l'AFSCA :
 - Un test ELISA positif ;
 - Un test Enferplex positif ;
 - Un test IFNg avec un résultat positif à au moins un des deux tests (PPDB-PPDA et MIX-EC) ;
 - Un résultat non conforme ;
 - Un résultat non concluant.

Le laboratoire reprendra dans AHLICS, les données administratives usuelles de Sanitel et les résultats des analyses effectuées. En ce qui concerne les résultats d'analyses, des résultats quantitatifs sont enregistrés en plus des résultats qualitatifs. Il est ici fait référence à la liste de variables qui a été établie lors d'une concertation entre les laboratoires.

Pour le test IFNg, 3 résultats seront enregistrés :

- le résultat 'tuberculose bovine- IFNg-PPDB' ;
- le résultat 'tuberculose bovine- IFNg – Mix Ag de synthèse' ;
- le résultat 'paratuberculose bovine – IFNg-PPDA'.

En attendant que le système AHLICS soit complètement opérationnel, les laboratoires transmettent leurs données techniques dans le système provisoire mis en place par les associations.

7.4.4.8. **Transfert des échantillons des laboratoires vers sciensano**

En cas d'un test Elisa non négatif, un échantillon du prélèvement est envoyé à Sciensano pour confirmation du test par Enferplex. L'échantillon sera acheminé via la camionnette de Sciensano qui effectue une tournée journalière vers les laboratoires.

7.4.4.9. **Indemnisations.**

Les laboratoires sont indemnisés par le Fonds pour la santé des animaux en fonction des tarifs communiqués au SPF avant le 1/02/2021, pour toutes les analyses non bactériologiques réalisées (ELISA, IFNg et Enferplex) ainsi que pour les frais d'acheminement des échantillons à analyser dans le cadre d'un test IFNg sauf dans le cadre d'examen à l'achat de bovin(s) introduit(s) d'un pays non indemne de tuberculose.

Toutefois :

Il n'y a pas d'indemnisation par le Fonds, pour les **frais logistiques** :

- dans le cas d'un échantillon individuel non-conforme avant analyse pour le test IFNg ou si tous les échantillons sont non-conformes avant analyse. Les frais peuvent être réclamés au vétérinaire préleveur (voir point 7.4.4.3) par le laboratoire ;
-

Il n'y a pas d'indemnisation par le Fonds pour les **frais d'analyse** :

- dans le cadre d'un réexamen de plus de 7% d'échantillons ayant donné un résultat non conforme . Ces frais d'analyse sont à facturer au vétérinaire préleveur.

Le paiement sera effectué sur base de présentation de créances par trimestre avec mention du nombre d'analyses réalisées.

L'administration de la santé ARSIA et DGZ communique au gestionnaire du Fonds un état des lieux mensuel des tests réalisés par laboratoire.

Adresse d'envoi pour le gestionnaire du Fonds : apf.vetserv@health.fgov.be

Communication à mentionner : 'créances laboratoire analyses TUBERCULOSE'.

8. Rôle de Sciensano

Sciensano est le laboratoire national de référence en matière de tuberculose bovine.

Il est responsable des tâches suivantes :

- de définir le niveau de validation nécessaire pour qu'un laboratoire agréé mais non accrédité pour les tests non bactériologiques puisse effectuer les analyses prévues dans le cadre de la lutte contre la tuberculose ;
- de définir le test à utiliser pour la procédure de confirmation ;
- des analyses bactériologiques (PCR/culture) sur les échantillons prélevés sur les bovins morts/abattus ;
- de définir les modalités d'échantillonnage : type de tubes (1 tube pour le test ELISA et un tube pour le test IFNg), conditions de stockage, température de conservation et conditions d'acheminement des échantillons ;
- de valider les kits pour les tests non bactériologiques ;
- de la rédaction d'un courrier 'type' pour les vétérinaires concernant les tests IFNg;
- de la fourniture des tuberculines bovines et aviaires jusqu'au 21 avril 2021 ;
- de la réalisation des tests de confirmation (Enferplex) sur les échantillons de sérums positifs (voir points 7.3.2, *Volet 1 Programme de surveillance standard*)
- de la réalisation des tests sérologiques et des tests IFNg dans les troupeaux où un bovin a été testé positif à la RT-PCR et/ou à la culture:

9. Rôle de l'AFSCA.

9.1. Généralités.

L'AFSCA est responsable des tâches suivantes :

- la préparation, l'accompagnement et la diffusion d'informations générales;
- la communication à l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ des listes des troupeaux à tuberculiner (= troupeaux de contact si les capacités des laboratoires pour les tests IFNg sont dépassées et ne permettent pas d'avoir un résultat d'analyse dans les 30 jours) et à échantillonner en dehors du programme de surveillance standard, (tâche PRI);
- la communication à l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ des « motifs » d'analyses et des numéros de référence en cas de foyers ;
- la notification d'obligation d'échantillonnages complémentaires aux détenteurs et aux vétérinaires;
- le suivi en cas de résultat non-négatif d'une tuberculination ou d'une analyse pour la tuberculose suivant le tableau de décision validé par le groupe de travail LABO;
- l'envoi aux vétérinaires (d'exploitation) « désignés » des formulaires pour les prélèvements et

- tuberculinations des troupeaux sans vétérinaire d'exploitation;
- la notification par écrit (mail) à l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ des missions annulées;
 - la notification par écrit (mail) à l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ en cas d'un changement administratif de vétérinaire d'exploitation d'un troupeau sélectionné pour le programme de surveillance;
 - si l'ULC reçoit une notification d'une tuberculination conforme, l'ULC renvoie un mail/fax au vétérinaire en mentionnant que cette information doit être envoyée à l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ dans le cadre de l'obtention de leur indemnisation ;
 - du financement des doses et de l'envoi de la tuberculine jusqu'au 21 avril 2021 ;
 - de la notification du statut du troupeau à l'éleveur : notification du changement éventuel de statut sanitaire, blocage, levée des mesures, notification d'abattage ;
 - de la gestion de la liste des abattoirs agréés pour les abattages dans le cadre de la tuberculose;
 - de la communication auprès des laiteries afin d'éviter la contamination par *M.bovis* de produits laitiers. (éviter de faire passer le camion dans une ferme positive).

9.2. Suivi des résultats non conformes.

Lorsque des échantillons d'un troupeau donnent un résultat non conforme (voir point 7.4.4.3), le laboratoire notifie ceci au vétérinaire et à l'ULC concernée. Cette notification passe par les points de contact de l'ULC convenus (par mail, voir point 9.4) avec mention de l'identification du troupeau, du vétérinaire et des animaux dont sont issus les échantillons ayant donné un résultat non-conforme ..

En fonction des résultats globaux du troupeau, de l'enquête épidémiologique :

- s'il y a plus de 7% de résultats non conformes pour ce troupeau, l'AFSCA pourra demander au vétérinaire d'exploitation de réaliser un nouveau prélèvement à ses frais, sur les bovins concernés en respectant les modalités d'échantillonnage définies par le laboratoire. Dans ce cas, les frais (logistiques, d'analyse, de visite et de prélèvement) sont à charges du vétérinaire ;
- s'il y a <ou = 7% de résultats non conformes pour ce troupeau, l'AFSCA pourra demander au vétérinaire d'exploitation de réaliser un nouveau prélèvement sur les bovins concernés en respectant les modalités d'échantillonnage définies par le laboratoire. Dans ce cas, les frais (logistique, analyses, prélèvements, visite d'exploitation) sont à charge du Fonds.

L'ULC confirmera la mission par écrit au vétérinaire et en informera l'administration de la santé de ARSA/DGZ en vue d'éditer le nouveau formulaire d'analyse. En cas de test IFNg, le vétérinaire devra convenir d'un nouveau rendez-vous avec le laboratoire concerné.

9.3. Suivi des missions non réalisées.e

Chaque ULC recevra de l'administration de la santé de l'ARSIA/DGZ une liste des missions non réalisées. Pour chacun des troupeaux repris dans cette liste et pour lequel aucune notification de non-possibilité de réalisation de la mission n'a été reçue, l'ULC donnera la suite nécessaire comme prescrite par l'administration centrale de l'AFSCA.

9.4. Données de contact des ULC (secteur production primaire).

ULC	adresse e-mail	N° téléphone	N° fax
Brabant wallon - Namur	pri.bna@afsca.be	081/20.62.00	081/20.62.01
Hainaut	pri.hai@afsca.be	065/40.62.11	065/40.62.10
Liège	pri.lie@afsca.be	04/224.59.11	04/224.59.01
Luxembourg - Namur	pri.lun@afsca.be	061/21.00.60	061/21.00.79
Anvers	pri.ant@favv.be	03/202.27.11	03/202.27.93
Flandre orientale – Brabant flamand	pri.ovb@favv.be	09/210.13.00	09/210.13.31
Brabant flamand Limbourg	pri.vli@favv.be	016/39.01.11	016/39.01.05
Flandre occidentale	pri.wvl@favv.be	050/30.37.10	050/30.37.51

10. Annexes et documents connexes.

Annexe 1: liste pays à risque tuberculose

Annexe 2 : arbres de décisions

Annexe 1 : liste pays à risque tuberculose

PAYS A RISQUE TUBERCULOSE: situation au 01-02-2021

Cette liste contient les Etats membres qui ne sont pas officiellement indemnes de tuberculose pour tout le territoire de l'Etat membre.

	TUBERCULOSE
BG	Bulgarie
CY	Chypre
ES	Espagne
GR	Grèce
IE	Irlande
IT	Italie
PT	Portugal
RO	Roumanie
HR	Croatie

Annexe 2 : arbres de décision