

Introduction

Validation des tests aptes à l'emploi prévu pour les maladies listées par l'OIE dans un monde où les technologies de diagnostic ne cessent d'évoluer

I.A. Gardner* ^(1, 2), A. Colling ^(2, 3), C.G. Caraguel ^(2, 4), J.R. Crowther ⁽⁵⁾, G. Jones ^(2, 6), S.M. Firestone ^(2, 7) & C. Heuer ^(2, 8)

(1) Atlantic Veterinary College, University of Prince Edward Island, 550 University Avenue, Charlottetown, Prince Edward Island, C1A 4P3, Canada

(2) OIE Collaborating Centre for Diagnostic Test Validation Science in the Asia-Pacific Region, CSIRO Newcomb, CSIRO Australian Centre for Disease Preparedness, 5 Portarlington Road, Newcomb, Victoria 3219, Australie

(3) Australian Centre for Disease Preparedness, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, 5 Portarlington Road, East Geelong, Victoria 3219, Australie

(4) School of Animal and Veterinary Sciences, The University of Adelaide, Roseworthy Campus, Roseworthy, South Australia 5371, Australie

(5) Centre mixte Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture /Agence internationale de l'énergie atomique Division des techniques nucléaires dans l'alimentation et l'agriculture, Département des sciences et applications nucléaires, Centre international de Vienne, PO Box 100, A1400 Vienne, Autriche

(6) School of Fundamental Sciences, Massey University, Palmerston North 4410, Nouvelle-Zélande

(7) Melbourne Veterinary School, Faculty of Veterinary and Agricultural Sciences, The University of Melbourne, Victoria 3010, Australie

(8) School of Veterinary Science, Massey University, Tennent Drive, Palmerston North 4410, Nouvelle-Zélande

* Auteur principal : iagardner@upei.ca

Résumé

L'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) a apporté d'importantes contributions dans le domaine de la validation des tests en élaborant des normes et des lignes directrices qui informent sur le processus de validation des tests chez les animaux terrestres et aquatiques. Le *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres* et le *Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques* de l'OIE décrivent le processus de validation des tests dans le contexte de leur aptitude à l'emploi, expliquent l'importance de la sensibilité (DSe) et de la spécificité (DSp) diagnostiques pour mesurer l'exactitude des tests, et désignent d'autres facteurs (ex. coût des tests, capacité de traitement des laboratoires et rapidité d'obtention des résultats des tests) qui influencent le choix d'un test par rapport à un autre ou l'inclusion d'un nouveau test dans un processus de diagnostic composé de multiples tests. Le présent article fournit des exemples pour chacun des six principaux objectifs définis pour les tests figurant dans le *Manuel terrestre* et décrit des mesures supplémentaires, telle la robustesse (aussi bien interne qu'externe), qu'il conviendrait d'inclure dans la validation des tests au point d'intervention. Il aborde également les défis soulevés par les nouvelles technologies et plateformes de diagnostic. Des tests validés accompagnés d'estimations de la DSe et de la DSp sont nécessaires pour mesurer la fiabilité des résultats des tests pour les maladies listées par l'OIE, faciliter les évaluations des risques associés aux mouvements des animaux, estimer le véritable taux de prévalence et certifier l'absence de maladies ; ils sont également indispensables pour les études (des facteurs de risque) épidémiologiques.

Mots clés

Aptitude à l'emploi prévu – Exactitude du diagnostic – Maladies animales – Rapports de vraisemblance – Répétabilité – Reproductibilité – Sensibilité – Spécificité – Validation des tests.

Introduction et perspectives historiques

Au cours des 30 dernières années, l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) a, par le biais de ses Laboratoires de référence et ses Commissions, joué un rôle de premier plan en faisant progresser la validation des tests, notamment en élaborant des normes de validation internationales. Le chapitre intitulé « Principes et méthodes de la validation des épreuves diagnostiques pour les maladies infectieuses » qui figure à la fois dans le *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres* (*Manuel terrestre*) et le *Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques* (*Manuel aquatique*) (1, 2) constitue la norme d'application générale. Il décrit le processus de validation des tests en quatre étapes qui comprend des mesures de l'exactitude des analyses (voir Bowden *et al.*, dans ce numéro [3]), de l'exactitude du diagnostic (voir Cullinane et Garvey [4], et Gifford *et al.* [5], dans ce numéro) et de la reproductibilité des tests (voir Waugh et Clark, dans ce numéro [6]). Les principes décrits dans ce

chapitre s'appliquent aux épreuves réalisées pour les maladies infectieuses animales, que celles-ci figurent ou non sur la Liste de l'OIE. Les modifications apportées afin de résoudre les nombreux problèmes rencontrés lors de la validation des tests pour les maladies infectieuses touchant la faune sauvage sont présentées dans le chapitre 2.2.7. du *Manuel terrestre* (7) ainsi que dans d'autres ouvrages (8, et voir Michel *et al.*, dans ce numéro [9]).

Au cours de cette même période, des progrès ont été réalisés en ce qui concerne les technologies de diagnostic, notamment : l'usage d'épreuves multiplexes et du séquençage de nouvelle génération d'agents pathogènes importants (10, et voir Halpin *et al.*, dans ce numéro [11]) ; le développement accru des tests rapides de terrain (au point d'intervention) pour obtenir dans les plus brefs délais le diagnostic de maladies animales importantes (voir Halpin *et al.*, dans ce numéro [11], et [12]) ; et l'adoption de modèles de classes latentes pour estimer la sensibilité (DSe) et la spécificité (DSp) diagnostiques lorsque l'épreuve ou l'étalon de référence est imparfait (13, et voir Cheung *et al.*, dans ce numéro [14]). Parmi les nouvelles initiatives instaurées, l'OIE a, par exemple, établi un registre des kits de diagnostic qui ont été évalués sur le plan analytique et diagnostique et certifiés par l'organisation comme ayant été « validés » aptes à l'emploi ou aux emplois prévus. Des initiatives similaires ont été mises en place dans plusieurs pays (voir la section de cet article intitulée « Homologation et certification des tests » et Gifford *et al.*, dans ce numéro [5], concernant le Secrétariat pour l'enregistrement des kits de diagnostic [SRDK]). Les responsabilités de l'utilisateur final et du producteur en ce qui concerne la validation des kits ont été décrites dans une publication antérieure (15). En outre, l'OIE a approuvé en 2017 la désignation d'un Centre collaborateur sur la science de la validation des tests de diagnostic pour la région Asie-Pacifique dans le cadre d'une initiative conjointe avec le Centre australien pour la préparation aux maladies (anciennement le Laboratoire australien pour la santé animale) de l'Organisation de la recherche scientifique et industrielle du Commonwealth (CSIRO), la Faculté des sciences vétérinaires et agricoles de l'Université de Melbourne et l'EpiCentre, Institut des sciences vétérinaires et biomédicales de l'Université de Massey en Nouvelle-Zélande. La mission du Centre vise à « générer de nouvelles connaissances et techniques qui améliorent l'emploi et l'interprétation des épreuves de diagnostic utilisées pour la santé tant humaine qu'animale et promouvoir la dissémination de ces connaissances au sein des communautés médicales et vétérinaires » (<https://fvas.unimelb.edu.au/research/centres/oie-dx> ; voir aussi Brown *et al.*, dans ce numéro [16]).

L'objectif de cet article introductif consiste à donner un aperçu des progrès accomplis dans le domaine de la validation des tests pour les maladies de la Liste de l'OIE affectant les animaux terrestres et la faune sauvage, et ce dans le contexte de l'aptitude à l'emploi (voir Cullinane [4], et Michel *et al.* [9], dans ce numéro, pour les animaux terrestres et la faune sauvage respectivement).

Les connaissances sur la pathogénèse des maladies associées à un objectif clairement défini pour les tests guident ensemble la sélection d'animaux appropriés, de prélèvements ciblés et d'objectifs analytiques qui seront inclus dans le processus de validation. En outre, il convient de souligner que les cibles ainsi sélectionnées ont un impact décisif sur l'exactitude de la plupart des épreuves de diagnostic. Ceci vaut également pour les étapes pré-laboratoires, telles que le prélèvement d'échantillons, l'emploi d'agents conservateurs, le temps de transport à destination du laboratoire et le temps nécessaire à la manipulation des prélèvements dans le laboratoire qui les reçoit, au cours desquelles la contamination croisée des échantillons sur le terrain et dans le laboratoire les recevant peut conduire à des résultats faux-positifs (1, 7). Les laboratoires réalisant les tests pour les maladies figurant sur la Liste de l'OIE se doivent d'appliquer un système de gestion de la qualité (17, et voir Newberry et Colling [18], dans ce numéro) et, idéalement, de participer aux essais d'aptitude ou aux essais circulaires pour les maladies transfrontalières suscitant de vives préoccupations au niveau international (voir Waugh and Clark [6], dans ce numéro, et Johnson et Cabuang [19], dans ce numéro). La conception, la mise en œuvre et la diffusion des rapports des études sur la validation des tests sont présentées dans Gardner *et al.* (20) ainsi que dans d'autres chapitres de ce numéro thématique (voir Kostoulas *et al.*[21], et Heuer et Stevenson [22], dans ce numéro).

Validation et aptitude à l'emploi prévu

L'OIE estime qu'un test est « validé » pour un agent pathogène ciblé ou une maladie visée lorsque l'exactitude et la précision analytiques et diagnostiques (répétabilité et reproductibilité) sont considérées comme aptes à l'emploi ou aux emplois prévus chez une espèce cible, sur la base des prélèvements régulièrement utilisés pour réaliser des épreuves et des systèmes de diagnostic dans lesquels les tests sont employés. Ce besoin de validation s'applique également aux épreuves utilisées pour un animal ou une population animale et à la réalisation de tests sur des échantillons groupés provenant de plusieurs animaux. Aucun test n'est parfaitement apte à tous les emplois requis (certains tests sont mieux adaptés à certains emplois spécifiques que d'autres). À titre d'exemple, les tests utilisés chez les animaux sont imparfaits que ce soit pour la DSe, la DSp ou bien les deux paramètres à la fois. Toutefois, les tests n'ont pas besoin d'être parfaits pour être utiles surtout lorsqu'ils peuvent être combinés avec un ou plusieurs autres tests qui ciblent un analyte différent (ex. anticorps sériques versus détection des acides nucléiques). Bien que la DSe, la DSp, la répétabilité et la reproductibilité constituent les principaux critères d'évaluation, d'autres considérations, telles que le coût d'un test, la capacité de traitement d'un laboratoire, le niveau de qualification de l'opérateur et l'équipement à disposition pour réaliser le test de manière fiable ainsi que le temps nécessaire pour obtenir les résultats, présentent également un intérêt pour les utilisateurs finaux. En outre, il convient de considérer l'adéquation d'un test candidat avec les

tests existants dans le cadre d'un processus de diagnostic au moment d'évaluer si un test validé est susceptible d'être utilisé ou non. Bien qu'un test puisse être validé apte à l'emploi prévu par un laboratoire de développement ou un fabricant de kit de test, il convient néanmoins de conduire des études de vérification (voir Kirkland et Newberry [23], dans ce numéro) de l'exactitude et de la précision d'une épreuve validée dans tout nouveau laboratoire qui commence à employer le test.

Les conséquences des erreurs produites par les tests (résultats faux-négatifs ou faux-positifs) peuvent varier de légères à graves en fonction des aspects propres au cadre de la réalisation des tests, notamment l'unité épidémiologique d'intérêt (ex. animal, exploitation, région ou pays en question), la prévalence de la maladie et la disponibilité ou non de mesures d'atténuation efficaces. Un test produisant fréquemment des résultats faux-positifs, par exemple, ne convient pas pour démontrer l'absence d'infection dans une population animale mais est tout à fait acceptable pour sélectionner des animaux individuellement en vue de leur déplacement, à condition que la DSe du test soit proche de la perfection. Pour les résultats de test mesurés sur une échelle quantitative, tels que le test d'immuno-absorption enzymatique (ELISA) et l'amplification en chaîne par polymérase quantitative (qPCR), la valeur limite (seuil) peut être ajustée afin de réduire l'apparition de résultats faux-positifs (c.-à-d., avec une DSp plus élevée) au prix d'une DSe plus basse (24). Parmi les autres solutions possibles figurent l'usage d'un test dont la spécificité individuelle (à savoir >99,9 %) est proche de la perfection ou l'emploi d'au moins deux tests avec l'interprétation en série des résultats (à savoir, tous les résultats des tests doivent être positifs pour considérer un individu positif ; sinon il est considéré comme négatif).

Objectifs définis par l'OIE pour les tests

L'OIE énumère six objectifs généraux pour l'emploi des tests de diagnostic dans son *Manuel terrestre* (Tableau I). Le Registre des tests certifiés par l'OIE (voir Gifford *et al.* [5], dans ce numéro, concernant le SRDK) offre, quant à lui, la possibilité de décrire un objectif avec plus de latitude. En effet, l'option 7 « Autre » peut être cochée, suivie de l'indication de l'emploi spécifique prévu, par exemple : « contrôle de l'infection chez les étalons et les juments au début de la saison de reproduction – test IFAT pour *Taylorella equigenitalis* ». De surcroît, les essais sur les populations de mammifères sauvages sont souvent axés sur des objectifs de gestion de la maladie et de conservation (8). L'emploi d'un test à des fins de pronostic, telle la « prédiction » des conséquences pour la santé (ex. survie ou décès), est important pour la santé de l'homme et des animaux de compagnie mais n'est pas pris en considération dans le cadre de l'OIE.

Il est important de noter qu'un test peut être apte à plus d'un emploi, à condition que des données d'évaluation appropriées soient fournies pour chaque usage identifié. Même si un test n'a qu'un seul emploi prévu (ex. confirmation des cas cliniques suspects), il est essentiel que des

représentants de la population animale source soient correctement échantillonnés afin de tester les tissus et les fluides dans lesquels l'analyte cible est susceptible d'être présent. Lorsque l'objectif visé concerne, par exemple, le déplacement d'animaux vivants, un test très sensible destiné à détecter les animaux infectés ne présentant aucun signe clinique observable s'avère être le meilleur choix. En effet, la probabilité que les animaux montrant des signes cliniques soient déplacés ou fassent l'objet d'échanges commerciaux est considérablement réduite. Pour de nombreuses maladies, la DSe du même test de diagnostic sera plus faible chez les animaux sans signe clinique que chez ceux présentant des signes évocateurs de la maladie concernée. À titre d'exemple, une étude sur l'exactitude du diagnostic d'une RT-qPCR qui détecte le gène codant la protéine majeure VP7 pour le virus de la peste équine a été conduite sur des échantillons sanguins prélevés sur des chevaux présentant des signes cliniques évoquant la peste équine (à savoir, la pyrexie et un autre signe clinique caractéristique de la maladie) ; les résultats ont montré que la DSe était de 97,8 % et la DS_p de 99,9 % (29). À l'époque de l'étude, seuls quelques chevaux infectés de manière subclinique par la peste équine avaient été détectés en Afrique du Sud (ils avaient tous été vaccinés contre le virus de la peste équine). Par conséquent, lors de l'évaluation quantitative ultérieure des risques liés à l'exportation de chevaux vivants provenant d'Afrique du Sud, qui reposait sur la RT-qPCR évaluée par Guthrie *et al.* (29), une DSe réduite d'une médiane de 91,4 % (intervalle de probabilité de 95 %, entre 65,7 et 99,4 %) a été utilisée afin de garantir une fourchette de valeurs réalistes pour la DSe chez les chevaux infectés de manière subclinique lors de l'usage de ce test pour certifier l'absence d'infection par le virus de la peste équine chez les chevaux effectuant des déplacements internationaux (30). Sans validation de l'épreuve chez les chevaux infectés de manière subclinique, la fourchette présumée aurait pu s'avérer bien trop optimiste.

Au cours de la durée de vie d'un test, son emploi peut changer. Au début de la détection de l'influenza aviaire (IA), par exemple, le test PCR quantitatif TaqMan A a été utilisé pour confirmer l'infection par le virus de l'IA chez les oiseaux suspects. Aujourd'hui, ce test est également employé pour détecter l'infection chez les oiseaux apparemment sains. La question est de savoir si le TaqMan A est demeuré apte à son emploi. Par exemple, la fiabilité d'un résultat positif (à savoir, un faible risque d'obtenir un résultat faux-positif) est-elle suffisamment élevée au moment de dépister l'IA chez les oiseaux d'un troupeau présentant une faible ou très faible prévalence ? Dans le cas de cet exemple, la réponse est « oui » car l'épreuve a produit une très faible fréquence de réactions croisées, ce qui a abouti à une absence presque totale de résultats faux-positif, tout en étant capable de réagir à un nombre suffisamment important de souches différentes de l'IA.

Ce numéro thématique présente divers exemples et études de cas, en particulier dans l'articles susmentionnés ainsi que dans un article sur l'application de méthodes sérologiques et moléculaires afin d'étudier les aspects épidémiologiques de la fièvre catarrhale ovine et de la peste équine (voir

Mayo *et al.* [31], dans ce numéro). Les études de cas illustrent les objectifs définis par l'OIE pour les tests et mettent en exergue les paramètres de performance des diagnostics, tels que la DSe, la DSp et les valeurs prédictives positives et négatives (VPP, VPN), au cours des différentes phases précliniques, cliniques et post-cliniques/rétablissement d'un foyer, ce qui implique l'emploi de multiples tests. Les exemples présentent différents moyens de remédier aux résultats non concluants ou indéterminés, notamment : la réalisation de nouveaux tests sur les échantillons et d'un nouvel échantillonnage, comme indiqué/autorisé dans les protocoles des tests de laboratoire ou les procédures opératoires standard lors des analyses de routine des échantillons ; ou la réalisation d'analyses de sensibilité tenant compte de résultats équivoques dans les deux sens, positifs ou négatifs, à l'instar de ce qui a été entrepris récemment lors de l'évaluation des preuves sérologiques pour le virus WPD (wobbly possum disease) touchant les opossums en Australie (32).

Paramètres d'exactitude des tests

La DSe et la DSp (ou les rapports de vraisemblance [LR] qui vont de 0 à l'infini) et les VPN et les VPP, qui dépendent de la prévalence, sont des paramètres qui permettent de déterminer si l'épreuve est apte à l'emploi prévu pour une population ayant une prévalence d'infection « connue » (Encadré 1). Pour les tests mesurés sur une échelle continue, la zone située sous la courbe de la fonction d'efficacité du récepteur (AUC) et les rapports de vraisemblance offrent d'autres mesures de l'exactitude des tests (33, et voir Caraguel et Colling, dans ce numéro [34]).

Les effets de la prévalence sur les valeurs prédictives (VPN et VPP) sont présentés dans l'exemple suivant et dans la Figure 1. Au cours d'une campagne efficace d'éradication de la maladie, on peut s'attendre à observer une baisse progressive de la prévalence de la maladie. Ceci entraîne un risque accru de résultats faux-positifs parmi tous les résultats de test positifs obtenus (à savoir, une baisse de la VPP), ce qui est conforme aux attentes à moins que la DSp ne soit de 100 %. Un test avec une DSp élevée, ou utilisant au moins deux résultats de test interprétés en série (où seuls les individus sont catégorisés comme positifs, si tous les résultats des tests sont positifs), ou encore le recours à d'autres informations (ex. antécédents cliniques) qui augmentent la prévalence escomptée sont utiles pour augmenter la VPP. La VPN correspond au pourcentage de résultats réellement négatifs parmi tous les résultats de test négatifs et sa valeur n'est pas affectée de manière sensible lorsque la prévalence de l'infection est faible (ex. <10 %). Une DSe élevée ou l'usage d'au moins deux résultats de test interprétés en parallèle (lorsque l'individu est considéré positif pour tout résultat de test positif obtenu) peuvent contribuer à la hausse de la VPN. Ces principes qui s'appliquent à un animal seul peuvent s'étendre à de multiples unités épidémiologiques (à savoir, les troupeaux et les groupes de troupeaux situés dans la même zone géographique) (35).

Au niveau individuel pour un animal, l'aptitude d'un test particulier est déterminée par les conséquences d'un résultat faux-positif ou faux-négatif en fonction du contexte de l'emploi prévu. Un pays exportateur, par exemple, s'inquiète davantage des conséquences d'un résultat faux-positif lorsqu'il souhaite démontrer l'absence de la maladie dans sa population animale (Objectif 1a) et favorisera une épreuve de diagnostic ou un algorithme avec une DS_p élevée ou des LR⁺ (c.-à-d., tenter de maximiser la VPP). Les pays importateurs, en revanche, souhaitent minimiser les résultats faux-négatifs (à savoir, maximiser la DS_e). Au niveau de la population, pour prouver et conserver le statut indemne, un test adapté doit faciliter l'obtention d'une importante couverture géographique des populations à risque et être capable de fournir des résultats de manière rapide et rentable. Il est important de noter qu'aucun seuil acceptable pour l'exactitude de ces tests (DS_e, DS_p, LR⁺, LR⁻, VPP et VPN), qui rendrait un test préférable à un autre, n'a été désigné par l'OIE. De plus, il existe une incertitude supplémentaire attribuable à la précision limitée des estimations de la DS_e et de la DS_p émanant d'une seule étude d'évaluation (Tableau I, 20).

Une contrainte fréquemment observée lors de la validation d'un test de diagnostic est l'absence d'échantillons de référence prélevés sur des animaux non infectés ou dont l'infection a été confirmée, en particulier pour les maladies qui surviennent dans une aire géographique délimitée ou qui apparaissent rarement ou encore lorsque l'accès aux animaux et aux prélèvements est réglementé (ex. animaux sauvages menacés). Dès lors, les estimations de la DS_e et de la DS_p ont souvent de larges intervalles de confiance et, par conséquent, présentent une robustesse limitée d'un point de vue statistique. L'OIE définit la « reconnaissance provisoire » comme une épreuve ayant des estimations satisfaisantes pour la sensibilité et la spécificité analytiques (AS_e, AS_p) et la répétabilité ainsi que des estimations préliminaires pour la DS_e, la DS_p et la reproductibilité. À titre d'exemple, l'obtention d'un nombre statistiquement robuste de sérums provenant de chevaux infectés par le virus Hendra (HeV) s'avère problématique car en général les chevaux meurent ou sont euthanasiés avant de développer une réponse des anticorps sériques. Par conséquent, un ELISA de détection des anticorps a été évalué en utilisant le sérum de 19 chevaux infectés et 477 chevaux non infectés (36). En outre, six panels de sérums bien caractérisés ont été analysés afin d'estimer l'AS_e, l'AS_p, la répétabilité et la reproductibilité dans le cadre d'une approche en réseau et les laboratoires du réseau ont fourni des données de bases supplémentaires provenant de chevaux HeV-négatifs, qui ont abouti à l'obtention d'estimations robustes pour la DS_p dans les populations non infectées. Enfin, le test a été homologué par le Sous-comité sur la santé animale et les normes de laboratoire (SCAHLs), le régulateur national en Australie. L'usage de panels de validation ayant recours à des échantillons bien caractérisés dans les laboratoires du réseau fournit également des informations utiles sur l'exactitude et la précision des tests (voir Ludi *et al.* [37], et Watson *et al.* [38], dans ce numéro).

Évaluation et utilisation des tests au point d'intervention et des nouvelles technologies tels les PCR multiplexes, le séquençage de nouvelle génération (NGS) et les marqueurs biologiques (microARN)

Tests au point d'intervention

Généralement, les tests au point d'intervention (point-of-care tests, POCT), également connus sous le nom de tests rapides de terrain, sont déployés sur le terrain dans des conditions de température, d'humidité et de lumière variables en utilisant des prélèvements provenant d'animaux malades ou morts et sont exécutés par des opérateurs dont l'expérience, la formation et les compétences varient considérablement. Par conséquent, en sus des exigences générales applicables à la validation, il convient de définir et d'aborder les paramètres spécifiques aux tests au point d'intervention tels que la robustesse interne et externe (cette dernière étant la capacité du test à résister à l'influence de facteurs externes) (voir Halpin *et al.*, dans ce numéro [11]). Les tests au point d'intervention sont susceptibles d'agir avec un degré plus élevé de variation attribuable tant aux compétences et à l'expérience variées des opérateurs qu'à des échantillons dont la qualité peut s'avérer inférieure à ceux soumis aux laboratoires de diagnostic. À titre d'exemple, si un POCT a été évalué en utilisant des prélèvements d'écouvillons oropharyngés mais l'opérateur ne peut prélever que des écouvillons cloacaux, les résultats pour ce prélèvement ne seront pas fiables. Des problèmes identiques apparaissent en ce qui concerne le prélèvement d'écouvillons pour tester le COVID-19 car de nombreux opérateurs n'ont reçu qu'une formation minimale, les types d'écouvillons employés varient entre les différents pays et juridictions, et la partie soumise à l'écouvillonnage peut différer (ex. zone nasale *versus* zone oropharyngée). De même, les conditions d'entreposage et la durée de vie des réactifs des kits et des plateformes, entretien inclus, peuvent être soumises à une variabilité bien plus élevée que dans un laboratoire agréé. Une autre variable clé, non spécifique aux POCT mais importante et requérant souvent une prise en considération, est le stade de la maladie clinique chez l'animal faisant l'objet de l'examen ou, lorsque les échantillons sont prélevés post-mortem, le temps qui s'est écoulé depuis le décès de l'animal. Ce point est fort bien illustré dans le cas de la validation du test immunochromographique (ICT) pour la fièvre charbonneuse en vue de son utilisation sur le terrain pour guider les décisions à prendre concernant le diagnostic et le contrôle de la maladie en attendant la confirmation du laboratoire. Il a été prouvé que l'ICT pour la fièvre charbonneuse possède une DSe et une DS_p très élevées lorsqu'il est utilisé sur des carcasses dans les 48 heures qui suivent le décès de l'animal. On a observé que la DSe baissait de 93 % sur les échantillons prélevés sur les animaux morts <48h à 56 % sur les échantillons prélevés sur les animaux décédés >48h (39), donnant lieu à des recommandations sur la manière dont le test est employé sur le terrain (40). En résumé, l'irradiation, l'exposition directe au soleil, l'humidité, la température, la poussière, les saletés, les procédures de prélèvements et

toute autre variable physique influente/importante doivent être évaluées lors d'une étude de validation d'un POCT car elles déterminent l'aptitude du kit à l'emploi prévu. Dans l'éventualité où un POCT est utilisé après sa date d'expiration ou sur des échantillons dont la qualité est compromise, il est important de connaître les détails concernant sa robustesse aux changements dans certains paramètres climatiques ou autres, ainsi que les conséquences possibles de ces modifications.

Au cours de la validation du POCT, les variations intra- et inter-opérateurs doivent être évaluées dans diverses conditions réalistes. Les résultats obtenus permettront de déterminer la robustesse (répétabilité) face aux variations internes et le degré de stabilité face aux conditions externes, telles les conditions climatiques et différents niveaux de compétences (reproductibilité). Pour évaluer et suivre la fiabilité, il est important d'inclure des contrôles de qualité internes afin de confirmer le fonctionnement de base du dispositif, par exemple : un échantillon faiblement positif pour confirmer la DSe du dispositif et éviter des résultats faux-négatifs ; un contrôle négatif pour confirmer que les réactifs du test ne sont pas contaminés et ne produisent pas des résultats faux-positifs ; et, dans le cas d'une épreuve de détection des acides nucléiques, un contrôle interne pour évaluer la présence des inhibiteurs de la matrice (12).

Au cours du foyer récent de COVID-19, l'Université Johns Hopkins a créé une page Web contenant des informations sur l'évaluation des POCT de diagnostic. La plupart des kits testés étaient des POCT IgG/IgM combinés avec une validation limitée (en d'autres termes, la performance était comparée aux tests moléculaires établis). La majorité des tests sérologiques ne commençant à réagir que 5–7 jours post-infection, leurs résultats peuvent être négatifs alors que les tests moléculaires sont positifs en raison des différentes cibles pour chaque épreuve. En revanche, on peut s'attendre à observer un nombre élevé de résultats de test sérologique apparemment « faux-positifs » (à savoir, > 2 semaines après le début des signes cliniques) car les tests moléculaires peuvent donner des résultats négatifs même lorsque les tests sérologiques sont positifs. Dans une telle situation, les résultats du test sérologique doivent être considérés comme une preuve de l'exposition au COVID-19. En outre, la description de l'usage et de l'objectif des POCT indique que les utilisateurs potentiels ont des connaissances limitées des principes de diagnostic et de l'épidémiologie du COVID (41).

Autres technologies

Les technologies et les applications, telles que le séquençage de nouvelle génération (NGS), la PCR dans une cartouche, l'amplification isotherme induite par boucle (LAMP), la technologie d'édition génomique (CRISPR), les micro-ARN, etc., sont appelées à rapprocher la recherche et les laboratoires de diagnostic. Il est important de définir leur valeur diagnostique potentielle et

l'objectif des méthodes de diagnostic modernes pour les laboratoires de diagnostic vétérinaire et d'explorer leur compatibilité avec les principes et les méthodes de validation de l'OIE existants. Les paramètres critiques pour l'évaluation et le contrôle qualité (mesures qualitatives) doivent être aptes à l'emploi (10). Nombre de ces technologies modernes ayant une exactitude et précision plus élevées que les méthodes existantes, il n'est pas recommandé d'avoir recours à un étalon de référence pour la validation. Dans ces circonstances, les modèles bayésiens de classes latentes (BLCM) sont plus appropriés car ils ne reposent pas sur un étalon de référence parfait (12, et voir Halpin *et al.* [11], et Cheung *et al.* [14], dans ce numéro).

Homologation et certification des tests

Les organismes de réglementation qui s'occupent des procédures d'enregistrement des kits de diagnostic sont présents au niveau national, régional et mondial. L'OIE, par exemple, possède un processus de validation, de certification et d'enregistrement (procédure opératoire standard) reposant sur des fondements scientifiques qui a permis d'enregistrer 14 kits (voir Gifford *et al.* [5], dans ce numéro). L'utilisation de modèles de validation encourage le suivi des directives, la transparence et l'évaluation objective des données. L'Australie dispose d'un processus similaire d'homologation des tests mais utilise des modèles spécifiques aux tests pour les épreuves moléculaires et sérologiques. Le processus australien a permis d'homologuer 17 tests. L'Institut Friedrich Loeffler en Allemagne utilise des formulaires de demande pour l'homologation de lots de réactifs et de kits de diagnostic (liste de produits certifiés). Compte tenu de l'usage de ces tests dans différents pays ou régions et des écarts en termes d'exigence et de coût, le manque de reconnaissance mutuelle entre les organismes de réglementation pénalise les producteurs de kits. Les exigences réglementaires pour les tests de diagnostic humains et vétérinaires nécessitent une plus grande harmonisation, en particulier pour les maladies zoonotiques (42).

Lorsque des modifications sont apportées à une épreuve (ex. remplacement de réactifs épuisés par un nouveau lot, modifications et améliorations techniques et biologiques), une étude comparative des méthodes peut être requise afin de démontrer que la performance du test ne s'en trouve pas réduite (43). Un kit de test qui a été développé et validé doit être vérifié s'il est utilisé dans un nouveau laboratoire afin de s'assurer que les spécifications sont satisfaites (23).

Références

1. Organisation mondiale de la santé animale (OIE) (2019). – Chapitre 1.1.6. Principles and methods of validation for diagnostic assays for infectious diseases. *In* Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres, 8^e éd. OIE, Paris (France). Disponible en

ligne : www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/1.01.06_VALIDATION.pdf
(consulté le 6 octobre 2020).

2. Organisation mondiale de la santé animale (OIE) (2019). – Chapitre 1.1.2. Principles and methods of validation for diagnostic assays for infectious diseases. *In* Manuel des tests de diagnostic pour les animaux aquatiques, 7^e éd. OIE, Paris (France). Disponible en ligne : www.oie.int/index.php?id=2439&L=0&htmfile=chapitre_validation_diagnostics_assays.htm
(consulté le 6 octobre 2020).

3. Bowden T.R., Crowther J.R. & Wang J. (2021). – Review of critical factors affecting analytical characteristics of serological and molecular assays. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 40 (1), XXX–YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.

4. Cullinane A. & Garvey M. (2021). – A review of diagnostic tests recommended in the World Organisation for Animal Health *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 40 (1), XXX–YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.

5. Gifford G., Szabo M., Hibbard R., Mateo D., Colling A., Gardner I. & Erlacher-Vindel E. (2021). – Validation, certification and registration of certified tests and regulatory control of veterinary diagnostic test kits. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 40 (1), XXX–YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.

6. Waugh C. & Clark G. (2021). – Factors affecting test reproducibility among laboratories. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 40 (1), XXX–YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.

7. Organisation mondiale de la santé animale (OIE) (2019). – Chapitre 2.2.7. Principles and methods for the validation of diagnostic tests for infectious disease applicable to wildlife. *In* Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres, 8^e éd. OIE, Paris (France). Disponible en ligne :

www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.02.07_WILDLIFE.pdf (consulté le 6 octobre 2020).

8. Jia B., Colling A., Stallknecht D.E., Blehert D., Bingham J., Crossley B., Eagles D. & Gardner I.A. (2020). – Validation of laboratory tests for infectious diseases in wild mammals: review and recommendations. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **32** (6), 776–792. doi:10.1177/1040638720920346.
9. Michel A.L., van Heerden H., Prasse D., Rutten V., Al Dahouk S. & Crossley B.M. (2021). – Pathogen detection and disease diagnosis in wildlife: challenges and opportunities. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX–YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.
10. Van Borm S., Wang J., Granberg F. & Colling A. (2016). – Next-generation sequencing workflows in veterinary infection biology: towards validation and quality assurance. *In* Utilisations potentielles de la génomique des agents pathogènes (P.R. Murcia, M. Palmarini & S. Belák, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **35** (1), 67–81. doi:10.20506/rst.35.1.2418.
11. Halpin K., Tribolet L., Hobbs E.C. & Singanallur N.B. (2021). – Perspectives and challenges in validating new diagnostic technologies. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX–YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.
12. Bath C., Scott M. [...] & Rodoni B. (2020). – Further development of a reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for the detection of foot-and-mouth disease virus and validation in the field with use of an internal positive control. *Transbound. Emerg. Dis.*, préimpression, 13 pp. doi:10.1111/tbed.13589.
13. Johnson W.O., Jones G. & Gardner I. (2019). – Gold standards are out and Bayes is in: implementing the cure for imperfect reference tests in diagnostic accuracy studies. *Prev. Vet. Med.*, **167**, 113–127. doi:10.1016/j.prevetmed.2019.01.010.
14. Cheung A., Dufour S., Jones G., Kostoulas P., Stevenson M.A., Singanallur N.B. & Firestone S.M. (2021). – Bayesian latent class analysis when there is an imperfect reference test. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX–YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.

15. Crowther J.R., Unger H. & Viljoen G.J. (2006). – Aspects of kit validation for tests used for the diagnosis and surveillance of livestock diseases: producer and end-user responsibilities. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **25** (3), 913–935. doi:10.20506/rst.25.3.1706.
16. Brown I., Slomka M.J., Cassar C.A., Mcelhinney L.M. & Brouwer A. (2021). – Diagnostic test validation science: a key element for effective detection and control of infectious animal diseases. *In La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses* (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX–YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.
17. Organisation mondiale de la santé animale (OIE) (2019). – Chapitre 1.1.5. Quality management in veterinary testing laboratories. *In Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres*, 8^e éd. OIE, Paris (France). Disponible en ligne : www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/1.01.05_QUALITY_MANAGEMENT.pdf (consulté le 8 octobre 2020).
18. Newberry K. & Colling A. (2021). – Quality standards and guidelines for test validation for infectious diseases in veterinary laboratories. *In La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses* (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX–YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.
19. Johnson P. & Caguang L. (2021). – Proficiency testing and ring trials. *In La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses* (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX–YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.
20. Gardner I.A., Colling A. & Greiner M. (2019). – Design, statistical analysis and reporting standards for test accuracy studies for infectious diseases in animals: Progress, challenges and recommendations. *Prev. Vet. Med.*, **162**, 46–55. doi:10.1016/j.prevetmed.2018.10.023.
21. Kostoulas P., Gardner I.A., Elschner M.C., Denwood M.J., Meletis E. & Nielsen S.S. (2021). – Examples of proper reporting for evaluation (Stage 2 validation) of diagnostic tests for diseases listed by the World Organisation for Animal Health. *In La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses* (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX–YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.

22. Heuer C. & Stevenson M.A. (2021). – Diagnostic test validation studies when there is a perfect reference standard. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX-YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.
23. Kirkland P.D. & Newberry K.M. (2021). – Your assay has changed – is it still ‘fit for purpose’? What evaluation is required? *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX-YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.
24. Caraguel C.G.B., Stryhn H., Gagné N., Dohoo I.R. & Hammell K.L. (2011). – Selection of a cutoff value for real-time polymerase chain reaction results to fit a diagnostic purpose: analytical and epidemiologic approaches. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **23** (1), 2–15. doi:10.1177/104063871102300102.
25. Kirkland P.D. & Delbridge G. (2011). – Use of a blocking ELISA for antibodies to equine influenza virus as a test to distinguish between naturally infected and vaccinated horses: proof of concept studies. *Aust. Vet. J.*, **89** (S1), S45–S46. doi:10.1111/j.1751-0813.2011.00743.x.
26. Roest H., Tilburg J., Van der Hoek W., Vellema P., Van Zijderveld F., Klaassen C. & Raoult D. (2011). – The Q fever epidemic in The Netherlands: history, onset, response and reflection. *Epidemiol. Infect.*, **139** (1), 1–12. doi:10.1017/S0950268810002268.
27. Sellens E., Bosward K.L., Norris J.M., Wood N., Heller J., Graves S. & Gidding H.F. (2020). – *Coxiella burnetii* seroprevalence in unvaccinated veterinary workers in Australia: Evidence to support Q fever vaccination. *Zoonoses Pub. Hlth*, **67** (1), 79–88. doi:10.1111/zph.12658.
28. Muleme M., Campbell A., Stenos J., Devlin J.M., Vincent G., Graves S., Cameron A.R., Wilks C.R. & Firestone S.M. (2017). – A longitudinal study of *Coxiella burnetii* transmission dynamics in intensively-managed kid goats supports early use of vaccines. *Vet. Res.*, **48** (1), 50. doi:10.1186/s13567-017-0452-3
29. Guthrie A.J., Maclachlan N.J., Joone C., Lourens C.W., Weyer C.T., Quan M., Monyai M.S. & Gardner I.A. (2013). – Diagnostic accuracy of a duplex real-time reverse transcription quantitative PCR assay for detection of African horse sickness virus. *J. Virol. Methods*, **189** (1), 30–35. doi:10.1016/j.jviromet.2012.12.014.

30. Sergeant E.S., Grewar J.D., Weyer C.T. & Guthrie A.J. (2016). – Quantitative risk assessment for African horse sickness in live horses exported from South Africa. *PLoS ONE*, **11** (3), e0151757. doi:10.1371/journal.pone.0151757.
31. Mayo C.E., Weyer C.T., Carpenter M.J., Reed K.J., Rodgers C.P., Guthrie A.J., Mullens B.A., Barker C.M., Reisen W.K. & MacLachlan N.J. (2021). – Diagnostic applications of molecular and serological assays for bluetongue and African horse sickness. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX-YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.
32. Tolpinrud A., Firestone S.M., Diaz-Méndez A., Wicker L., Lynch S.E., Dunowska M. & Devlin J.M. (2020). – Serological evidence for the presence of wobbly possum disease virus in Australia. *PLoS ONE*, **15** (8), e0237091. doi:10.1371/journal.pone.0237091.
33. Gardner I.A. & Greiner M. (2006). – Receiver-operating characteristic curves and likelihood ratios: improvements over traditional methods for the evaluation and application of veterinary clinical pathology tests. *Vet. Clin. Pathol.*, **35** (1), 8–17. doi:10.1111/j.1939-165x.2006.tb00082.x.
34. Caraguel C.G.B. & Colling A. (2021). – Diagnostic likelihood ratio – the next-generation of diagnostic test accuracy measurement. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX-YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.
35. Christensen J. & Gardner I.A. (2000). – Herd-level interpretation of test results for epidemiologic studies of animal diseases. *Prev. Vet. Med.*, **45** (1–2), 83–106. doi:10.1016/s0167-5877(00)00118-5.
36. Colling A., Lunt R. [...] & Daniels P. (2018). – A network approach for provisional assay recognition of a Hendra antibody ELISA – test validation with low sample numbers from infected horses. *J. Vet. Diagn. Invest.* **30** (3), 362–396. doi:10.1177/1040638718760102.
37. Ludi A.B., Mioulet V., Bakkali Kassimi L., Lefebvre D.J., De Clercq K., Chitsungo E., Nwankpa N., Vosloo W., Paton D.J. & King D.P. (2021). – Selection and use of reference panels: a case study highlighting current gaps in the materials available for foot and mouth disease. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XX-YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.

38. Watson J., Carlile G.A. & Williams D.T. (2021). – The value of virtual biobanks for transparency purposes with respect to reagents and samples used during test development and validation. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX-YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.
39. Muller J., Gwozdz J., Hodgeman R., Ainsworth C., Kluver P., Czarnecki J., Warner S. & Fegan M. (2015). – Diagnostic performance characteristics of a rapid field test for anthrax in cattle. *Prev. Vet. Med.*, **120** (3–4), 277–282. doi:10.1016/j.prevetmed.2015.03.016.
40. Agriculture Victoria (2020). – Significant disease investigation (SDI) program. Department of Jobs, Precincts and Regions, Victoria (Australie). Disponible en ligne : <https://agriculture.vic.gov.au/biosecurity/animal-diseases/significant-disease-investigation-sdi-program> (consulté le 8 octobre 2020).
41. Center for Health Security (2020). – Serology-based tests for COVID-19. John Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore (États Unis d'Amérique). Disponible en ligne : www.centerforhealthsecurity.org/resources/COVID-19/serology/Serology-based-tests-for-COVID-19.html (consulté le 8 octobre 2020).
42. Stevenson M., Halpin K. & Heuer C. (2021). – Detection of emerging infectious zoonotic diseases. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX-YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.
43. Reising M.M., Tong C., Harris B., Toohey-Kurth K.L., Crossley B., Mulrooney D., Tallmadge R.L., Schumann K.R., Lock A.B. & Loiacono C.M. (2021). – A review of guidelines for evaluating a minor modification to a validated assay. *In* La validation scientifique des tests de diagnostic : une composante essentielle pour une détection et un contrôle efficaces des maladies animales infectieuses (A. Colling & I.A. Gardner, édits). *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **40** (1), XXX-YYY. doi:10.20506/rst.40.1.XXXX.

Tableau I

Exemples d'agents pathogènes listés par l'OIE et de tests utilisés à des fins d'essai

Objectif défini par l'OIE	Exemple
1a) Démontrer l'absence d'infection avec et/ou sans vaccination	<ul style="list-style-type: none"> • Test pour démontrer « l'absence historique », ex. réalisation de tests pour surveiller le virus de la Peste porcine africaine (PPA) dans un pays qui n'a jamais connu de foyer de PPA et dont tous les résultats de tests effectués dans le cadre du programme de surveillance et des enquêtes ont été négatifs. On peut s'attendre à ce que le pays présente également un risque négligeable d'introduction de PPA au cours de cette même période. • Grippe équine – test d'immuno-absorption enzymatique (ELISA) bloquant utilisé en combinaison avec un vaccin spécifiquement sélectionné (vecteur : variole du canari) afin de pouvoir différencier les animaux vaccinés de ceux infectés (DIVA) puis démonstration de l'absence de la maladie suite à une incursion, un foyer important et l'éradication en 200 (25). Cet exemple s'applique aussi au point 1(b). • Examen histopathologique du cerveau des animaux présentant des signes neurologiques pour détecter la protéine modifiée du prion (PrP) qui est présente lors d'une encéphalopathie spongiforme bovine.
1b) Rétablir l'absence d'infection à la suite d'un foyer	<ul style="list-style-type: none"> • Test pour « prouver l'absence » suite à un foyer du virus de la maladie des points blancs (WSSV) chez les crevettes en Australie ; deux épreuves TaqMan ont été développées et évaluées pour dépister le WSSV chez des animaux sains en apparence.
2) Certifier l'absence d'infection ou la présence de l'agent pathogène chez un animal ou dans un produit à des fins de commerce/déplacement	<ul style="list-style-type: none"> • Épreuves sérologiques pour certifier que les chats et les chiens ne sont pas infectés et peuvent voyager à l'international tel le test d'immunofluorescence indirecte (IFAT) pour Ehrlichia canis, l'épreuve de séro-agglutination (SAT) pour Brucella canis et le test de séroneutralisation (SNT) pour le virus Hendra chez les chevaux.

3) Contribuer à l'éradication de la maladie ou l'élimination de l'infection dans des populations définies

4) Confirmer le diagnostic de cas suspects ou cliniques (y compris la confirmation d'un test de dépistage positif)

5) Estimer la prévalence de l'infection ou de l'exposition pour faciliter l'analyse des risques (enquêtes, statut sanitaire des troupeaux, mesures de contrôle de la maladie)

6) Déterminer le statut immunitaire d'un animal ou d'une population (post-vaccination)

- Épreuve sérologique et analyse des cuves à lait pour **Brucella abortus** chez les bovins, test du pli caudal pour **Mycobacterium bovis** chez les espèces ruminantes sensibles, épreuve sérologique pour le **virus de la pseudo-rage** dans les troupeaux de porcs commerciaux, et test sérologique et antigénique des troupeaux de bovins et des cuves à lait par ELISA et la transcription inverse couplée à l'amplification en chaîne par polymérase (RT-PCR) pour éliminer **Mycoplasma bovis** en Nouvelle-Zélande.
- Confirmation de la **fièvre aphteuse** (FA) dans un troupeau de bovins avec certains animaux présentant des signes cliniques tels que vésicules et salivation. Si la FA a été écartée suite à des résultats négatifs, des tests peuvent être réalisés pour d'autres maladies figurant sur une liste de diagnostic différentiel.
- Usage d'un SNT pour le **virus Hendra** afin de confirmer un résultat positif obtenu par ELISA (protéine G soluble du virus Hendra) chez un cheval non vacciné.
- ELISA pour détecter les groupes d'anticorps du **virus de la fièvre catarrhale ovine** (BTV) et analyses ultérieures d'un sérum positif au moyen d'un SNT pour identifier le sérotype.
- Résultats positifs pour le virus de l'**influenza aviaire** (IA) suite au test TaqMan A et tests utilisant des anticorps dirigés contre l'hémagglutinine (HA) et les neuraminidases (NA) (dont pathotypage / séquençage).
- Épreuves sérologiques et moléculaires pour le **virus de la fièvre catarrhale ovine** (BTV), dont séquençage pour estimer la prévalence de l'infection ou de l'exposition et suivi du spectre (sérotypes exotiques) du BTV, dont changements de la distribution géographique pour faciliter l'analyse des risques (National Arbovirus Monitoring Program, NAMP).
- PCR sur les cuves à lait largement utilisée lors du foyer de **fièvre Q** aux Pays-Bas en 2009–2010 pour guider la surveillance et la réponse au foyer (26).
- Analyse des échantillons de sérum prélevés sur des bœufs commerciaux en Australie par test d'immunofluorescence indirecte (IFA) pour prouver sérologiquement l'exposition à **Coxiella burnetii** (27).
- Test de neutralisation virale révélée par les anticorps fluorescents (FAVN) pour évaluer le statut immunitaire des chiens et des chats post-vaccination contre le **virus de la rage** (à savoir pour des voyages

internationaux [test FAVN > 0,5 IU pour être catégorisé comme protégé contre la rage et être autorisé à voyager]).

- Usage des titres SNT chez les chevaux vaccinés contre le **virus Hendra** pour évaluer la réponse immunitaire après la vaccination.
- Test d'inhibition de l'hémagglutination pour un suivi post-vaccination des titres d'anticorps dirigés contre le **virus de la maladie de Newcastle** au niveau du troupeau.
- ELISA utilisant des anticorps dirigés contre l'hémagglutinine pour entrer en compétition avec les anticorps dirigés contre le virus de la **peste des petits ruminants** (PPR) pour estimer la prévalence de l'immunité après la vaccination.
- Épreuve par immunofluorescence pour la métrite contagieuse (infection à **Taylorella equigenitalis**) chez les étalons et les juments au début de la saison de reproduction.
- Recherche épidémiologique sur la dynamique de la maladie, telle une étude longitudinale des réponses sérologiques à **C. burnetii** et excréation lors de la mise bas des chevreaux chez les chèvres des élevages intensifs pour comprendre le moment optimal pour administrer le vaccin (28).

7) « Autre »

Contrôle saisonnier de l'infection et
recherche épidémiologique

Encadré 1

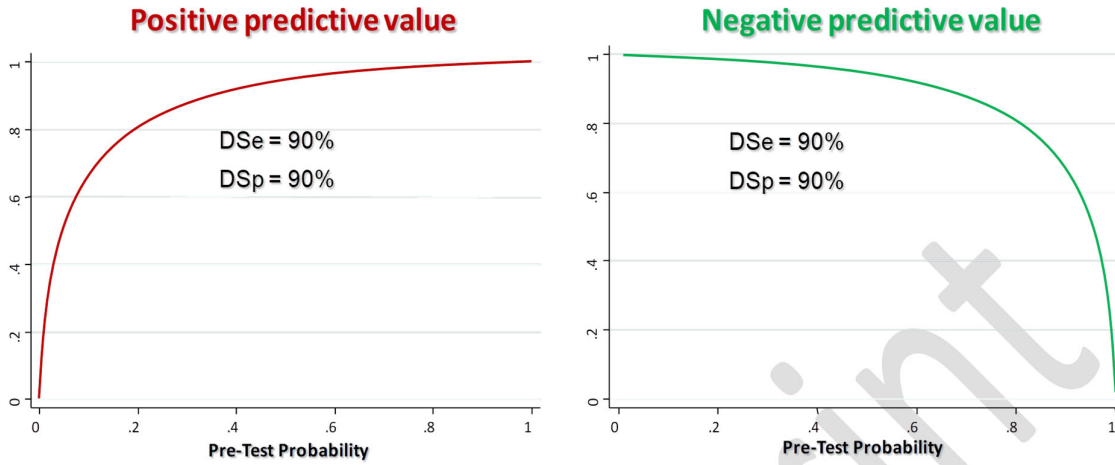
Définitions des paramètres d'exactitude des tests

DSe = pourcentage d'animaux vraiment infectés qui devraient tester positif

DSp = pourcentage d'animaux vraiment infectés qui devraient tester négatif

LR+ = combien de fois un résultat de test positif est-il plus susceptible d'apparaître chez un animal infecté comparé à un animal non infecté :
 $LR+ = DSe/(1-DSp)$

LR- = combien de fois un résultat de test négatif est-il plus susceptible d'apparaître chez un animal infecté comparé à un animal non infecté :
 $LR- = (1-DSe)/DSp$



DSe : sensibilité diagnostique

DSpc : spécificité diagnostique

Fig. 1

Valeurs prédictives positives et négatives pour un test où DSe = DSpc = 90% en tant que fonction de la probabilité pré-test pour un animal (ou prévalence dans la population source si l'on ne possède aucune information sur les facteurs de risque pour cet animal, ex. âge ou signes cliniques, pour distinguer son risque de maladie par rapport à d'autres animaux de la même population)