



## Procédure de l'OMSA pour l'enregistrement des kits de diagnostic Résumé des études de validation

**Nom du kit de diagnostic :** Innocreate Bioscience WSSV RP Rapid Test Kit (Kit de test rapide Innocreate Bioscience WSSV RP)

**Fabricant :** Innocreate Bioscience Co., Ltd.

**Procédure / Numéro d'approbation :** 082132

**Date d'enregistrement :** mai 2023

**Maladie :** infection par le virus du syndrome des points blancs chez les crevettes

**Agent pathogène :** Whispovirus, virus du syndrome des points blancs

**Type d'épreuve :** Test immunochromatographique à flux latéral

### Objectif du test :

Le kit de test rapide WSSV RP d'Innocreate Bioscience est un kit de détection qualitative de l'infection par le virus du syndrome des points blancs chez les crevettes. Le dispositif d'immunodosage à flux latéral est conçu pour les objectifs suivants :

1. effectuer un diagnostic de confirmation des cas cliniques sur le terrain (qui comprend la confirmation des suspicions de cas et d'une épreuve de dépistage positive) ;
2. estimer la prévalence de l'infection, de manière à faciliter l'analyse des risques dans les élevages de crevettes de systèmes de production afin d'aider aux pratiques de gestion (le kit ne doit pas être utilisé pour estimer la prévalence chez les reproducteurs ou les crevettes post-larvaires dans le cadre d'une analyse des risques avant le transfert vers d'autres élevages ou un déplacement transfrontalier).
3. être utilisé en conjonction avec d'autres tests ou procédures de diagnostic comme aide au diagnostic ou pour d'autres évaluations cliniques ou épidémiologiques.

**Espèces et échantillons :** 2 ou 3 petits fragments de branchie de crevette.

### 1. Informations relatives au kit

Veuillez-vous référer à la notice du kit qui est disponible sur la page web du registre de l'OMSA ou contacter le fabricant sur le site web ou à l'adresse suivante :

**Site web :** <https://www.innocreatebio.com/>

**Courriel :** [info@innocreatebio.com](mailto:info@innocreatebio.com)

### 2. Résumé des études de validation

#### Spécificité analytique

#### Conclusion :

Des crevettes infectées par le *Vibrio parahaemolyticus* responsable de la maladie de nécrose hépatopancréatique aiguë, le virus de la nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse, Infection à *Enterocytozoon hepatopenaei*, le

baculovirus Monodon, le virus de la tête jaune et le virus du syndrome de Taura ont été testées. Les résultats de tous les échantillons infectés ont été négatifs.

### Sensibilité analytique

#### Conclusion :

Une dilution en série de la protéine cible recombinante du virus du syndrome des points blancs avec des tissus homogénéisés de crevettes a été utilisée afin d'évaluer la limite de détection. Ladite limite a été estimée à 0,4 ng / test.

### Répétabilité

#### Conclusion :

La répétabilité intra-série a été évaluée en utilisant six échantillons en quatre exemplaires, présentant différents niveaux d'infection, qui ont été testés par le même opérateur lors de cinq jours différents. La répétabilité inter-séries a été évaluée en procédant à une analyse des six échantillons, effectuée par trois opérateurs différents utilisant trois lots différents de kits, sur cinq jours. Les résultats des épreuves intra et inter-séries se sont révélés reproductibles avec des valeurs du coefficient kappa de 1,0.

### Caractéristiques diagnostiques

Détermination du seuil et estimations de la sensibilité diagnostique (SeD) et de la spécificité diagnostique (SpD) :

#### Détermination du seuil :

Le kit de test rapide WSSV RP d'Inncreate Bioscience est un test immunochromatographique conçu pour la détection qualitative de l'infection par le virus du syndrome des points blancs chez les crevettes. Une bande rose violet doit être observée à la fois au niveau de la ligne de test (T) et de la ligne de contrôle (C) pour révéler que la crevette était infectée par le virus du syndrome des points blancs. Si la bande rose violet n'apparaît que sur la ligne de contrôle (C), ce résultat indique qu'il n'y a pas d'infection par le virus du syndrome des points blancs ou que l'infection est légère et en deçà du seuil de sensibilité du kit. Le seuil est déterminé d'après la sensibilité analytique comme étant de 0,4 ng de la protéine cible.

#### Estimations de la sensibilité diagnostique (SeD) et de la spécificité diagnostique (SpD) :

##### 1. Estimations de la sensibilité diagnostique et de la spécificité diagnostique - avec des animaux de référence donnés

Deux cent cinquante-deux crevettes indemnes d'agents pathogènes spécifiques ont été soit utilisées comme témoins négatifs (n=105), soit soumises à un test de provocation (n=147) consistant en une injection de 100 µl d'hémolymphe infectée par le virus du syndrome des points blancs, afin de déterminer la sensibilité diagnostique et la spécificité diagnostique pour des échantillons prélevés chez des animaux de référence donnés. Sur les 147 échantillons prélevés chez les animaux soumis à l'épreuve de provocation et positifs avec la méthode de l'OMSA par PCR en temps réel utilisant des sondes TaqMan (Durand & Lightner, 2002), les résultats avec le kit de test rapide WSSV RP ont été positifs pour 125 échantillons, tandis que 22 échantillons ont constitué des faux négatifs. Le niveau d'infection de ces 22 échantillons a été considéré comme très léger (nombre de cycle - Ct > 32,5). Parmi les 105 échantillons provenant des animaux témoins n'ayant pas été soumis à un test de provocation et négatifs avec la méthode de l'OMSA par PCR en temps réel utilisant des sondes TaqMan, aucun résultat faux positif n'a été observé.

#### Animal de référence :

| Inncreate Bioscience<br>WSSV RP Rapid Test Kit |     | Espèce cible / Échantillon : branchie                                |                                     |
|--|-----|--|-------------------------------------|
|  |     | Méthode de l'OMSA par PCR en temps réel utilisant des sondes TaqMan® |                                     |
|  |     | Ct < 32,5 est considéré comme positif                                | Ct < 40 est considéré comme positif |
| Sensibilité diagnostique                       | N   | (126)  | (147)                               |
|  | SeD | (99,21 %)  | (85,03 %)                           |
|  | IC  | (99,66 % - 99,98 %)  | (78,22 % - 90,38 %)                 |
| Spécificité diagnostique                       | N   | (105)  | (105)                               |
|  | SpD | (100 %)  | (100 %)                             |
|  | IC  | (96,55-100 %)  | (96,55-100 %)                       |

##### 2. Estimations de la sensibilité diagnostique et de la spécificité diagnostique – avec des crevettes de production:

Un total de 465 crevettes issues de 4 lots de systèmes de production a été testé, dont 45 des 465 crevettes ont été classées comme symptomatiques, et 64 des 465 crevettes ont été classées comme positives (Ct < 40) lors du dépistage par qPCR avec la méthode de l'OMSA par PCR en temps réel utilisant des sondes TaqMan (Durand & Lightner, 2002).

Par rapport à la méthode de l'OMSA par PCR en temps réel utilisant des sondes TaqMan, la SeD globale du test rapide WSSV RP a été de 92,50 % lorsqu'un Ct < 32,50 était considéré comme positif, de 84,00 % lorsqu'un Ct < 36 était considéré comme positif, ou de 65,62 % lorsqu'un Ct < 40 était considéré comme positif ; la SpD a été de 100 %.

S'agissant de la performance diagnostique chez les crevettes symptomatiques élevées dans des systèmes de production, la SeD a été de 93,33 %, et la SpD de 100 % lorsqu'un Ct < 40 était retenu comme seuil. La valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) ont été de 100 % et 99,3 %. Dans le cas des échantillons pour lesquels le Ct était inférieur à 32,5 (infection modérée à élevée,  $\geq 100$  copies), la SeD a été de 92,50 %. La concordance globale entre le kit de test rapide WSSV RP d'Inncreate Bioscience et le diagnostic est élevée.

#### Crevettes de production :

| Inncreate Bioscience WSSV RP Rapid Test Kit |     | Espèce cible / Échantillon : branchie                               |                                       |                                     |                                     |
|---|-----|---|---------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
|   |     | Méthode de l'OMSA par PCR en temps réel utilisant des sondes TaqMan |                                       |                                     |                                     |
|   |     | Symptomatique   | Ct < 32,5 est considéré comme positif | Ct < 36 est considéré comme positif | Ct < 40 est considéré comme positif |
| Sensibilité diagnostique                    | N   | (45)  | (40)                                  | (50)                                | (64)                                |
|   | SeD | (93,33 %)   | (92,50 %)                             | (84,00 %)                           | (65,62 %)                           |
|   | IC  | (95,66 %-99,98 %)   | (79,61 %-98,43 %)                     | (95,66 %-99,98 %)                   | (52,70 %-77,05 %)                   |
| Spécificité diagnostique                    | N   | (420)   | (425)                                 | (415)                               | (401)                               |
|   | SpD | (100 %)   | (100 %)                               | (100 %)                             | (100 %)                             |
|   | IC  | (99,13 %-100 %)   | (99,14 %-100 %)                       | (70,89 %-92,83 %)                   | (99,08 %-100 %)                     |

#### Conclusion :

Le kit de test rapide WSSV RP est apte à l'emploi pour lequel il est prévu, et démontre une sensibilité globale élevée pour l'identification des niveaux modérés et élevés de l'infection par le virus du syndrome des points blancs, ou lorsqu'il est employé pour des échantillons provenant de crevettes manifestant des signes cliniques, et ce test présente une spécificité très élevée. Les VPP et VPN élevées du test et le court délai de réalisation (15-30 minutes sur place vs plus de 4 heures auxquelles s'ajoute le délai d'expédition) en font un outil robuste pour l'identification des foyers potentiels.

Nous recommandons aux utilisateurs de mettre le test en œuvre chez les crevettes qui présentent des modifications du comportement (léthargie, diminution ou absence de consommation d'aliments pour animaux, et comportements natatoires anormaux tels qu'une nage lente, sur le côté, près de la surface de l'eau, ou des regroupements autour des bords des unités d'élevage), soit sur une base régulière, soit lors d'un stress environnemental, tel que des modifications rapides de la salinité, ou lors de suspicion d'un foyer d'infection par le virus du syndrome des points blancs.

#### Reproductibilité

##### Reproductibilité analytique

#### Conclusion :

Deux laboratoires ont procédé à l'évaluation de la reproductibilité analytique. Six échantillons dans lesquels les niveaux d'infection étaient variés (deux avec une infection légère, deux avec une infection modérée, un avec une infection forte et un indemne d'infection), comme établis avec la méthode de l'OMSA par PCR en temps réel utilisant des sondes TaqMan (Durand & Lightner, 2002), ont été sélectionnés et soumis « en aveugle » aux deux laboratoires. Les tests ont été répétés à quatre reprises et une valeur du coefficient Kappa a été calculée à partir des résultats de l'ensemble des 24 tests. Pour l'ensemble des tests, aucune erreur de classification n'a été observée (20 résultats positifs et 4 résultats négatifs) La concordance entre les deux méthodes était de 100 %, et le coefficient Kappa de 1,0.

##### Reproductibilité diagnostique

Cinq laboratoires de Taïwan et de Thaïlande, comprenant un laboratoire de référence de l'OMSA, ont procédé à l'évaluation de la reproductibilité diagnostique. Le panel de tests était constitué de 25 échantillons pour lesquels les niveaux d'infection virale étaient variés, comprenant 5 échantillons dont les caractéristiques étaient connues (3 positifs avec des concentrations de protéines cibles de 1,6 ; 0,8 ou 0,4 ng et 2 négatifs) et 20 échantillons inconnus, traités « à l'aveugle ».

Les laboratoires impliqués ont suivi les procédures décrites dans le manuel d'instructions du kit de test rapide WSSV RP d'Inncreate Bioscience.

**Conclusion :**

Les échantillons ont été analysés par chacun des cinq laboratoires en utilisant le kit de test rapide WSSV RP d'Inncreate Bioscience. Les résultats montrent que la reproductibilité est élevée. La concordance observée dans les cinq laboratoires a été de 100 % pour les cinq échantillons dont les caractéristiques étaient connues. Quatre des cinq laboratoires ont obtenu une concordance de 100 % pour tous les échantillons analysés « à l'aveugle », tandis que les résultats du cinquième laboratoire présentaient une légère divergence pour un échantillon. Un test du khi-deux d'homogénéité a été effectué afin d'analyser les résultats expérimentaux des cinq laboratoires. La valeur p du test du khi-deux d'indépendance est de 0,998 (Hsu *et al.*, 2022).

**Références**

Durand, S., & Lightner, D. V. (2002). Quantitative real time PCR for the measurement of white spot syndrome virus in shrimp. *Journal of Fish Diseases*, 25(7), 381-389.

Hsu, J. C.-K., Hsu, T.-K., Kannan, J., Wang, H.-C., Tassanakajon, A., & Chen, L.-L. (2022). Diagnostic performance of a Rapid Test Kit for white spot syndrome virus (WSSV). *Aquaculture*, 558, 738379. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738379>.