



Organisation  
Mondiale  
de la Santé  
Animale

World  
Organisation  
for Animal  
Health

Organización  
Mundial  
de Sanidad  
Animal

70 SG/12/CS2 B

Original : anglais  
Janvier/février 2002

## RAPPORT DE LA COMMISSION DES NORMES DE L'OIE

Paris, 29 janvier – 1 février 2002

La Commission des normes de l'OIE s'est réunie au siège de l'organisation, du 29 janvier au 1<sup>er</sup> février 2002.

Le Docteur Bernard Vallat, Directeur Général, qui assistait à une réunion de la Représentation régionale de l'OIE pour l'Afrique à Addis Abeba, en Éthiopie, avait adressé ses excuses. Le Professeur Marian Trusczyński a donné lecture d'un courrier dans lequel le Docteur Vallat remerciait la Commission pour la qualité du soutien apporté à l'OIE. Le Docteur Vallat y précisait également que l'OIE chargerait ses différentes commissions de prendre des décisions concernant le bien-être animal, les maladies transmises par les aliments, l'adoption d'un nouveau système de classification des maladies et une méthode d'évaluation du statut des Pays Membres en matière d'ESB<sup>1</sup>. Le Docteur Vallat souhaite par ailleurs qu'une collaboration plus étroite entre les commissions de l'OIE leur permette de gagner en efficacité. Le Docteur James Pearson a informé la Commission des derniers changements de personnel intervenus au Bureau central de l'OIE.

L'ordre du jour et la liste des participants figurent respectivement dans les annexes I et II.

### 1. Laboratoires de référence de l'OIE

#### 1.1. Nouvelles candidatures au statut de Centre collaborateur ou de Laboratoire de référence

La Commission estime nécessaire d'établir un Laboratoire de référence de l'OIE pour la fièvre charbonneuse. Elle invitera les Délégués de l'OIE à faire des propositions dans un courrier annexé au présent rapport.

#### 1.2. Mise à jour de la liste des Laboratoires de référence

La Commission a approuvé la demande du Laboratoire des services vétérinaires nationaux des États-Unis d'Amérique qui souhaite ne plus figurer sur la liste des Laboratoires de référence pour la maladie hémorragique du lapin.

Elle recommande d'ajourner la désignation du Centre de vaccination vétérinaire panafricain (PANVAC) comme Laboratoire de référence pour la PPCB<sup>2</sup> tant que ce centre n'est pas totalement opérationnel.

Les modifications ci-après concernant les experts désignés des Laboratoires de référence de l'OIE ont été proposées à l'Office. La Commission recommande leur acceptation.

---

<sup>1</sup> ESB : Encéphalopathie spongiforme bovine

<sup>2</sup> PPCB : Péripleurésie contagieuse bovine

### *Fièvre aphteuse*

Le Docteur M.G. Mosienyane en remplacement de Monsieur M. Proteau, à l'Institut de vaccination du Botswana, Gaborone, Botswana.

### *Péripleumonie contagieuse bovine*

Le Docteur A. Pini en remplacement du Docteur F.G. Santini, à l'Institut de zooprophyllaxie expérimentale « G. Caporale » des Abruzzes et de la Molise, Teramo, Italie.

### *Fièvre catarrhale du mouton*

Le Docteur P.S. Mellor en remplacement du Docteur J. Anderson, à l'Institut de santé animale de Pirbright, au Royaume-Uni.

### *Rage*

Le Docteur C.A. de Mattos en remplacement du Docteur J. Bingham, à l'Institut vétérinaire d'Onderstepoort, en Afrique du Sud.

## **1.3. Courrier émanant des États-Unis d'Amérique à propos des obligations de notification imposées aux Laboratoires de référence**

La Commission des normes a reçu des propositions de lignes directrices élaborées par le Délégué des États-Unis d'Amérique à propos des obligations de notification imposées aux Laboratoires de référence de l'OIE. La Commission est d'avis que ces suggestions sont les bienvenues et peuvent servir de directives internes aux pays et être appliquées par les Délégués qui le souhaitent. Il a été souligné que les Laboratoires de référence sont désignés par l'OIE et que les Délégués soutiennent leurs activités. La Commission considère que certaines des préoccupations exprimées ont été résolues par les modifications apportées l'an dernier, en vertu desquelles les Laboratoires de référence doivent rapporter les résultats positifs.

## **1.4. Rapports annuels des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs pour 2001**

Cent six Laboratoires de référence sur 116 et 7 Centres collaborateurs sur 8 ont adressé leur rapport. La Commission souligne une fois de plus la diversité impressionnante des activités des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs, à l'appui des objectifs de l'OIE, et souligne le soutien constant qu'apportent les experts à la Commission des normes. L'ensemble des rapports sera transmis aux Pays Membres ainsi qu'à tous les Laboratoires de référence et Centres collaborateurs. Les activités internationales liées aux travaux de l'OIE sont récapitulées ci-après :

Activités générales	Pourcentage de Laboratoires de référence impliqués	Pourcentage de Centres collaborateurs impliqués
1a) Tests de diagnostic	88%	14%
1b) Identification des agents pathogènes	83%	29%
2 Production, contrôle et distribution de réactifs diagnostiques	82%	29%
3 Recherche	84%	29%
<b>Activités spécifiques de l'OIE</b>		
1 Harmonisation/standardisation internationale des méthodes	58%	57%
2 Préparation et fourniture de réactifs de référence internationaux	51%	29%
3 Recueil, analyse et diffusion des données épizootiologiques	49%	43%
4 Mise à disposition de consultants	49%	71%
5 Formation scientifique et technique	56%	86%
6 Organisation de réunions scientifiques internationales	21%	100%
7 Participation à des études scientifiques internationales	55%	71%
8 Publications	81%	100%

## 2. Standardisation internationale des tests de diagnostic et des vaccins

### 2.1. Programmes de standardisation de l'OIE pour les tests de diagnostic

#### MALADIES DE LA LISTE A

*Péripleurmonie contagieuse bovine – Coordinateur : Docteur A. Pini*

Le Docteur Pini indique que les sérums de référence potentiels sont en cours d'évaluation.

*Peste porcine classique – Coordinateur : Docteur S. Edwards*

Le Docteur Steve Edwards présente les données de validation des antisérums de référence (fortement positif, faiblement positif et négatif) pour le test de neutralisation virale appliqué à la peste porcine classique. Après avoir examiné ces données, la Commission recommande que ces sérums soient qualifiés de sérums de référence internationaux OIE pour la peste porcine classique. Ils sont disponibles auprès du Laboratoire de référence de l'OIE rattaché à l'Agence des laboratoires vétérinaires (VLA) de Weybridge, au Royaume-Uni.

#### MALADIES DE LA LISTE B

*Leucose bovine enzootique (PCR<sup>3</sup>) – Coordinateur : Docteur L. Renström*

Le Docteur Renström indique qu'aucun progrès n'a été rapporté dans la standardisation de la PCR et dans la préparation de sérums de référence pour la leucose bovine enzootique. Elle a été encouragée à continuer de faire avancer le projet.

*Grippe équine – Coordinateur : Docteur J. Mumford*

La Commission souhaite que la réunion de septembre du Groupe d'experts chargé de la surveillance de la grippe équine ait lieu au siège de l'OIE et recommande que le Groupe se réunisse juste avant sa propre réunion de manière à présenter à la Commission ses conclusions et recommandations sur les souches virales adaptées au vaccin.

### 2.2. Validation/standardisation des tests pour la fièvre aphteuse

Le Docteur Kris De Clercq, Président de la Commission européenne de lutte contre la fièvre aphteuse, a rejoint la Commission pour discuter du développement de réactifs de référence complémentaires pour la fièvre aphteuse. La nécessité de disposer de sérums de référence spécifiques d'autres sous-types du virus aphteux a été soulignée. Le recours à des techniques ELISA<sup>4</sup> différentielles pour la fièvre aphteuse requiert par ailleurs des sérums de référence provenant d'animaux vaccinés. Il apparaît également nécessaire d'avoir des réactifs de référence pour la PCR.

La Commission soutient fortement l'idée que des sérums de référence complémentaires sont nécessaires pour les tests sérologiques de la fièvre aphteuse compte tenu du risque global élevé d'infection par ce virus. La priorité absolue revient au développement de sérums de référence pour la technique ELISA visant à rechercher les protéines non structurales (ELISA NSP). Un antigène de référence et des protocoles standard doivent être utilisés pour produire ces sérums. La Commission est également d'avis qu'un ensemble de sérums de référence est nécessaire pour répondre à un éventail plus large de sous-types du virus aphteux. Les sérums de référence faiblement positifs existants doivent aussi être évalués dans la technique ELISA NSP pour déterminer s'il est nécessaire de standardiser les critères de différenciation entre résultats négatifs et résultats positifs. Il convient de disposer de sérums spécifiques d'espèce pour la méthode ELISA indirecte, de même que de sérums provenant d'animaux vaccinés. La Commission estime que de nouveaux sérums de référence doivent être examinés par les Laboratoires de référence pour la fièvre aphteuse et par d'autres laboratoires se chargeant du diagnostic sérologique de cette maladie. L'OIE prendra contact avec l'AIEA<sup>5</sup> pour savoir si les laboratoires de cet organisme sont en mesure de produire des sérums pour la méthode ELISA NSP ainsi que des sérums provenant d'animaux vaccinés. La Commission demandera à l'auteur du chapitre consacré à la fièvre aphteuse dans le *Manuel des normes de l'OIE pour les tests de diagnostic et les vaccins* (le *Manuel*) d'ajouter une partie concernant l'absence de NSP dans les vaccins. La Commission

<sup>3</sup> PCR : Amplification en chaîne par polymérase

<sup>4</sup> ELISA : Méthode immuno-enzymatique

<sup>5</sup> AIEA : Agence internationale de l'énergie atomique.

soumettra au laboratoire de Pirbright le problème de la performance des sérums de référence faiblement positifs actuels pour le test ELISA en phase solide appliqué à la fièvre aphteuse.

### **3. Liste des épreuves prescrites et des épreuves de substitution**

#### **3.1. Révision de la définition d'une « épreuve prescrite »**

La Commission recommande que les tests permettant de conclure à l'absence de l'une des quatre maladies pour lesquelles il existe des procédures OIE de reconnaissance officielle des pays indemnes (fièvre aphteuse, peste bovine, PPCB et ESB) soient décrits en tant que tels dans le *Manuel*, sachant qu'ils peuvent ou non être qualifiés d'épreuves prescrites dans le cadre des échanges internationaux.

#### **3.2. Méthode ELISA en phase solide dans la fièvre aphteuse**

La Commission propose que l'épreuve ELISA en phase solide portant sur les protéines structurales soit qualifiée d'épreuve prescrite. Le protocole du test décrit dans le projet de chapitre sur la fièvre aphteuse destiné à l'édition 2004 du *Manuel* a été revu et jugé acceptable sous réserve de modifications mineures (annexe III).

#### **3.3. Méthode ELISA pour la sérologie de la rage**

La Commission propose que la méthode ELISA soit qualifiée d'épreuve prescrite (annexe IV). Elle a demandé la clarification de certains points dans le dossier de validation. L'acceptation de ce test exigera une légère modification du chapitre consacré à la rage dans le *Code zoosanitaire international* (le *Code*). La modification suggérée est la suivante : Article 2.2.5.5 point 4) : « ont été soumis, depuis plus de 3 mois et moins de 24 mois avant leur chargement, à un test de recherche des anticorps tel que décrit dans le Manuel, avec un résultat positif équivalent à au moins 0,5 UI/ml de sérum ; » [à une épreuve de titrage des anticorps neutralisants, et que leur sérum contenait au moins 0,5 UI/ml ;]

#### **3.4. Tests de recherche des protéines non structurales dans la fièvre aphteuse**

La Commission a discuté des tests de recherche des protéines non structurales (NSP) dans la fièvre aphteuse. Elle recommande le développement de sérums de référence OIE y compris de sérums post-vaccinaux provenant d'animaux infectés et non infectés. La Commission a poursuivi la discussion de sa dernière réunion, dont il était ressorti que le test 3ABC était adapté à la détermination du statut des animaux vaccinés au regard de la fièvre aphteuse, à l'échelle des troupeaux. La Commission approuve les procédures de recherche des NSP, soumises pour publication dans l'édition 2004 du *Manuel*, y compris la méthode ELISA (annexe V). À la lumière des décisions de la Commission pour la fièvre aphteuse et autres épizooties, la Commission des normes a modifié comme suit les conclusions issues de sa réunion de septembre 2001 sur l'utilisation des tests de recherche des NSP.

L'épreuve ELISA NSP peut être utilisée par les pays initialement « indemnes sans vaccination » qui demandent à recouvrer ce statut, dans le cadre d'un programme de sérosurveillance visant à déterminer l'absence d'infection dans le reste de la population vaccinée.

La méthode ELISA NSP peut être utilisée lors d'une enquête sérologique dans « un pays ou une zone indemne de fièvre aphteuse où la vaccination est pratiquée » afin de recouvrer ce statut.

#### **3.5. Anaplasmose bovine (suite de la réunion de septembre 2001)**

La Commission a consulté des experts à propos du test de fixation du complément dans l'anaplasmose bovine. Il a été recommandé de conserver ce test comme épreuve de substitution dans le *Manuel*.

#### **3.6. Autres modifications proposées à la liste des épreuves prescrites et des épreuves de substitution**

La Commission recommande que la méthode ELISA soit approuvée comme épreuve prescrite pour la brucellose porcine et que l'épreuve à l'antigène tamponné pour *Brucella* (BBAT) soit transférée vers la liste des épreuves de substitution. Elle recommande également que la PCR pour la leucose bovine enzootique soit mentionnée en tant qu'épreuve de substitution (l'annexe VI contient toutes les modifications proposées à la liste des épreuves prescrites).

#### **4. Questionnaire sur la tuberculose bovine**

La Commission a discuté des résultats du questionnaire adressé aux Délégués à propos de l'utilisation et de la fabrication de la tuberculine dans les pays. La Commission adressera un questionnaire aux fabricants de tuberculine en les interrogeant sur les protocoles utilisés pour la fabrication et les contrôles. Le Laboratoire de référence de l'OIE rattaché à l'Agence des laboratoires vétérinaires (VLA) de Weybridge, au Royaume-Uni, évalue actuellement différents aspects de la fabrication et de la standardisation des tuberculines et transmettra les résultats à la Commission.

#### **5. Manuel des normes de l'OIE pour les tests de diagnostic et les vaccins**

##### **5.1. Commentaires des Pays Membres sur la quatrième édition du Manuel**

Le Docteur Anthony Cullen a participé à l'examen des commentaires des Pays Membres sur la quatrième édition du *Manuel*. Afin d'actualiser les données du *Manuel*, la Commission diffusera sur son futur site Web les informations nouvelles et pertinentes, y compris les protocoles des nouvelles épreuves prescrites. L'édition 2000 du *Manuel* devrait être publiée en français.

##### **5.2. Cinquième édition du Manuel**

La Commission a discuté de la nécessité de trouver des auteurs pour plusieurs nouveaux chapitres portant sur des maladies bactériennes. Une liste de personnes à contacter a été établie. La Commission a revu la liste des chapitres, des auteurs et des relecteurs.

#### **6. Préparation d'une brochure de lignes directrices**

La Commission a finalisé le contenu de cette brochure qui inclura la norme OIE établissant les prescriptions administratives et techniques applicables aux laboratoires effectuant des analyses portant sur des maladies animales infectieuses, les lignes directrices de l'OIE sur la validation des méthodes de diagnostic des maladies infectieuses, les lignes directrices de l'OIE applicables aux réactifs de référence internationaux destinés au titrage des anticorps ainsi que les lignes directrices de l'OIE relatives au contrôle de compétences des laboratoires.

##### **6.1. Remise en forme pour la brochure de l'article sur la validation des analyses paru dans la Revue**

La Commission a accepté la nouvelle version du texte concernant la validation par l'OIE des méthodes de diagnostic des maladies infectieuses (annexe VII).

##### **6.2. Droits de reproduction de la norme OIE**

L'OIE règlera à l'ISO<sup>6</sup> les droits de reproduction liés à la publication de la norme OIE et ces droits seront répercutés sur le prix de vente. Il conviendrait que la préface incite vivement les laboratoires qui pratiquent des analyses dans le cadre des échanges internationaux à respecter la norme ISO 17025.

#### **7. Relations avec les autres Commissions**

- **COMMISSION DU CODE**

##### **7.1. Proposition de suppression de la rhinite atrophique du porc de la Liste B**

La Commission interrogera des experts sur les problèmes liés à la rhinite atrophique dans le cadre des échanges internationaux.

##### **7.2. Adénomatose pulmonaire ovine**

La Commission du Code a accepté la recommandation de la Commission des normes qui ne souhaite pas encore inclure l'adénomatose pulmonaire ovine dans le *Code* en raison du manque d'épreuves diagnostiques adaptées.

---

<sup>6</sup> ISO : Organisation internationale de normalisation

- **COMMISSION POUR LES MALADIES DES POISSONS**

### **7.3. Réglementations relatives au conditionnement et à l'expédition des matériels infectieux**

La Commission estime que les réglementations UN602 de l'IATA<sup>7</sup> doivent être respectées tel que spécifié dans le *Code, le Code sanitaire international pour les animaux aquatiques* et le *Manuel*.

### **7.4. Défraiement des Laboratoires de référence pour la fourniture de réactifs et d'étalons, les analyses, etc.**

La Commission a proposé de modifier le mandat des Laboratoires de référence de l'OIE afin d'inclure une clause leur permettant de facturer leurs services et d'y ajouter l'obligation de notification des maladies des animaux aquatiques à déclaration obligatoire (voir annexe VIII).

## **8. Suite donnée à la Session générale de mai 2001**

### **8.1. Résolution n° XXV, paragraphe 2a sur la résistance aux antimicrobiens**

La Commission a pris connaissance du rapport du Groupe ad hoc de l'OIE sur la résistance aux antimicrobiens, publié dans la *Revue scientifique et technique*. Les participants ont salué la qualité du rapport du Groupe ad hoc. La Commission se chargera d'obtenir une nouvelle présentation afin que le texte puisse être soumis aux Pays Membres et au Comité international pour approbation en tant que ligne directrice de l'OIE, reconnue par l'accord SPS<sup>8</sup>.

### **8.2. Résolution n° XX sur les maladies émergentes**

La Commission a discuté des moyens possibles pour diffuser aux Pays Membres des informations sur les procédures de diagnostic des maladies émergentes. Il a été décidé d'utiliser à cette fin la page Web de la Commission des normes. Les membres de la Commission aideront le Bureau central à identifier les maladies émergentes à retenir.

La Commission recommande également que des prélèvements soient soumis au laboratoire de référence national en cas de suspicion d'une maladie émergente. Si ce laboratoire n'est pas en mesure de se prononcer sur la maladie concernée, il est souhaitable que le directeur des Services vétérinaires se fasse assister de l'un des Laboratoires de référence ou Centres collaborateurs de l'OIE compétents en matière de diagnostic des maladies émergentes dans l'espèce concernée.

## **9. Questions diverses**

### **9.1. Symposium international sur les contrôles de qualité des vaccins contre la grippe équine**

Cette réunion a été parrainée par la Direction européenne pour la qualité des médicaments et par l'OIE. Elle s'est tenue à Budapest (Hongrie), les 10 et 11 décembre 2001. Les modifications nécessaires pour améliorer les normes de l'Union européenne et de l'OIE sur l'évaluation de l'efficacité des vaccins ont été discutées et le chapitre du *Manuel* sera modifié en conséquence. Il a été recommandé par ailleurs que les Laboratoires de référence de l'OIE améliorent leurs procédures de surveillance et de notification afin d'intégrer plus rapidement aux vaccins les nouvelles souches appropriées.

### **9.2. Syndrome cachectique multisystémique du post-sevrage chez le porc**

La Commission a pris note de l'importance économique du syndrome cachectique multisystémique du post-sevrage chez le porc. Elle ne recommanderait cependant pas l'établissement de normes applicables aux échanges internationaux pour ce syndrome en raison de sa nature multifactorielle.

---

<sup>7</sup> IATA : Association du transport aérien international

<sup>8</sup> SPS : Accord sur les mesures sanitaires et phytosanitaires de l'Organisation mondiale du commerce

### 9.3. Standardisation des analyses moléculaires

La Commission reconnaît la nécessité de standardiser les analyses moléculaires et demandera à un expert d'assister à sa réunion de septembre prochain afin de discuter de ce problème important. Un expert a également été invité à préparer un chapitre sur la validation des analyses moléculaires pour la cinquième édition du *Manuel*.

### 9.4. Progrès des recherches sur la caractérisation des prions

La Commission a pris note des évolutions intervenues dans ce domaine important.

### 9.5. Page Web de la Commission des normes

La Commission a discuté de la présentation de sa nouvelle page Web. Il a été décidé d'utiliser ce moyen pour diffuser les nouvelles informations qui seront ultérieurement incluses dans le *Manuel* après accord du Comité international, telles que les techniques applicables aux maladies émergentes. Cette page comportera également des liens vers le *Manuel*, la liste des Laboratoires de référence, les réactifs de référence internationaux disponibles et approuvés par l'OIE et les rapports des réunions de la Commission.

### 9.6. Proposition préliminaire dans le cadre d'un programme du CGIAR<sup>9</sup>

La Commission a discuté avec le Docteur Vallat des domaines de recherche possibles dans le cadre de ce programme. Il en est ressorti que de toutes les maladies animales, c'est la fièvre aphteuse qui a les plus grandes répercussions sur les échanges commerciaux des pays en développement dans le monde. Presque tous les pays sous-développés sont infectés et subissent des restrictions commerciales sévères dues à cette maladie. Étant donné que l'objectif global du programme est le recul de la pauvreté, il a été décidé de retenir principalement l'Afrique dans ce cadre. La peste porcine africaine, qui s'est récemment propagée à de nouveaux pays africains et dont les répercussions commerciales sont significatives, arrive en seconde place, d'autant plus que la prophylaxie est difficile et onéreuse et qu'il n'existe aucun vaccin. Deux autres maladies animales sont également prioritaires : la fièvre de la vallée du Rift qui a eu un impact important sur les échanges en Afrique et la maladie de Newcastle qui s'est traduite par certaines restrictions commerciales et des effets importants sur la production de protéines animales peu coûteuses pour les pays en développement.

Les priorités de recherche pour ces maladies sont les suivantes :

- développement et mise en oeuvre de tests de diagnostic rapides, robustes et peu coûteux, afin que des programmes de prophylaxie efficaces puissent être mis en place,
- développement de vaccins améliorés et peu coûteux, y compris de produits qui n'exigent pas le maintien de la chaîne du froid,
- développement d'une infrastructure de surveillance permettant aux pays de démontrer l'existence de zones indemnes.

La Commission a avancé l'idée d'un partenariat entre une unité de recherche située dans un pays développé et une unité appartenant à un pays en développement, afin que ces recherches puissent être menées et appliquées dans ce dernier pays. L'un des objectifs principaux de cette initiative devrait être la création de compétences dans l'unité de recherche du pays en développement afin d'assurer des résultats durables et de conserver les marchés nouvellement ouverts. Les Laboratoires de référence de l'OIE et de la FAO<sup>10</sup> ainsi que les Centres collaborateurs de l'OIE qui, en collaboration avec les laboratoires des pays en développement, ont les compétences nécessaires pour traiter de ces maladies, devraient contribuer grandement à cette initiative.

Une résolution sera proposée au Comité international à la suite d'une réunion qui se tiendra en mars 2002 au siège de l'OIE avec les bailleurs de fonds et le CGIAR.

---

<sup>9</sup> CGIAR : Groupe consultatif sur la recherche agronomique internationale

<sup>10</sup> FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

### **9.7. Symposium commun OIE/WAVLD<sup>11</sup> prévu en Thaïlande en 2003**

La Commission est favorable au thème proposé sur les trousse de diagnostic à utiliser parallèlement à des vaccins marqueurs. Il a été proposé de contacter des intervenants pour les sujets suivants : fièvre aphteuse, peste porcine classique, herpèsvirus, brucellose, revue générale des stratégies d'utilisation des vaccins marqueurs et potentiel de ces vaccins dans d'autres maladies.

### **9.8. Réunion de l'OIE sur la fièvre catarrhale du mouton**

La Troisième Conférence internationale sur la fièvre catarrhale du mouton, la peste équine et les orbivirus apparentés est prévue pour l'automne 2002 ou le printemps 2003 et se tiendra en Italie.

### **9.9. Dates des prochaines réunions de la Commission des normes**

Les dates suivantes ont été arrêtées pour les prochaines réunions : 25-27 septembre 2002 et début janvier 2003.

---

.../Annexes

---

<sup>11</sup> WAVLD : Association mondiale des spécialistes des laboratoires de diagnostic vétérinaire



Organisation  
Mondiale  
de la Santé  
Animale

World  
Organisation  
for Animal  
Health

Organización  
Mundial  
de Sanidad  
Animal Annexe I

## RÉUNION DE LA COMMISSION DES NORMES DE L'OIE

Paris, 29 janvier – 1<sup>er</sup> février 2002

---

### Ordre du jour

1. Laboratoires de référence de l'OIE
  2. Standardisation internationale des tests de diagnostic et des vaccins
  3. Liste des épreuves prescrites et des épreuves de substitution
  4. Questionnaire sur la tuberculose bovine
  5. *Manuel des normes de l'OIE pour les tests de diagnostic et les vaccins*
  6. Préparation d'une brochure de lignes directrices
  7. Relations avec les autres Commissions
  8. Suite donnée à la Session générale de mai 2001
  9. Questions diverses
-





Organisation  
Mondiale  
de la Santé  
Animale

World  
Organisation  
for Animal  
Health

Organización  
Mundial  
de Sanidad  
Animal

Annexe II

## RÉUNION DE LA COMMISSION DES NORMES DE L'OIE

Paris, 29 janvier – 1<sup>er</sup> février 2002

### Liste des participants

#### MEMBRES

---

**Prof. Marian Trusczyński** (*Président*)

National Veterinary Research Institute  
57 Partyzantow St., 24-100 Pulawy  
POLOGNE  
Tél. : (48-81) 886.32.70  
Telex : 642401  
Fax : (48-81) 887.71.00.  
Email : mtruszcz@esterka.piwet.pulawy.pl

**Docteur Steve Edwards** (*Vice-Président*)

VLA Weybridge  
New Haw, Addlestone  
Surrey KT15 3NB  
ROYAUME-UNI  
Tél. : (44-1932) 34.11.11  
Fax : (44-1932) 34.70.46  
Email : s.edwards@vla.defra.gsi.gov.uk

**Docteur Beverly Schmitt**

(*Secrétaire général*)  
National Veterinary Services  
Laboratories, Diagnostic Virology  
Laboratory, P.O. Box 844, Ames  
IA 50010  
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE  
Tél. : (1-515) 663.75.51  
Fax : (1-515) 663.73.48  
Email : beverly.j.schmitt@aphis.usda.gov

#### AUTRES PARTICIPANTS

---

**Docteur Peter Wright**

Canadian Food Inspection Agency, National Centre for  
Foreign Animal Disease, 1015 Arlington Street  
Winnipeg, Manitoba R3E 3M4  
CANADA  
Tél. : (1-204) 789.20.09  
Fax : (1-204) 789.20.38  
Email : pwright@inspection.gc.ca

#### BUREAU CENTRAL DE L'OIE

---

**Docteur Bernard Vallat**

Directeur général,  
OIE 12 rue de Prony,  
75017 Paris  
FRANCE  
Tél. : (33-1) 44.15.18.88  
Fax : (33-1) 42.67.09.87  
Email : oie@oie.int

**Docteur James E. Pearson**

Chef du Service scientifique et technique  
Email : je.pearson@oie.int

**Docteur Dewan Sibartie**

Adjoint au chef du Service scientifique et technique  
d.sibartie@oie.int

**Ms Sara Linnane**

Rédacteur en chef scientifique, Sce scientifique et technique  
Email : s.linnane@oie.int

#### INVITÉS

---

**Docteur Kris De Clercq**

Département de virologie  
Section des maladies épizootiques  
CODA-CERVA-VAR  
Groeselenberg 99  
B-1180 Ukkel  
BELGIQUE  
Tél. : (32-2) 37.90.512  
Fax : (32-2) 37.90.666  
Email : kris.de.clercq@var.fgov.be

**Docteur G. Anthony Cullen**

2, Muirfield Road  
Woking, Surrey GU21 3PW  
ROYAUME-UNI  
Tél. : (44-1483) 76.03.15  
Fax : (44-1483) 72.38.30  
Email : anthony.cullen@btinternet.com





## PROTOCOLE DE LA NOUVELLE METHODE PRESCRITE PROPOSEE POUR LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE DE LA FIEVRE APHTEUSE

### Dosage immuno-enzymatique compétitif en phase solide

Un antiserum de lapin dirigé contre l'antigène 146S de l'un des sept types de virus aphteux est utilisé comme anticorps piègeur, à une concentration optimale prédéterminée<sup>12</sup> dans un tampon carbonate/bicarbonate de pH 9,6.

Les antigènes sont préparés par inactivation à l'éthylène imine de virus propagés sur culture cellulaire, en suivant les procédures décrites pour la fabrication des vaccins. La dilution finale choisie est celle qui, après addition d'un volume égal de diluant, donne lieu à une absorbance correspondant à la partie supérieure de la région linéaire de la courbe d'étalonnage (densité optique d'environ 1,5). On utilise comme diluant un tampon PBS contenant 0,05% de Tween 20 (PBST) ainsi qu'un indicateur coloré, le rouge de phénol.

Un antiserum de cobaye, obtenu en inoculant à des cobayes l'antigène 146S de l'un des sept sérotypes et pré-inhibé à l'aide de sérum bovin normal, est utilisé comme anticorps détecteur. Les concentrations optimales prédéterminées sont préparées dans du PBS contenant 0,05% de Tween 20 et 5% de lait écrémé en poudre (PBSTL).

Des immunoglobulines de lapin (ou de mouton) anti-cobaye, conjuguées à de la peroxydase de raifort et pré-inhibées à l'aide de sérum bovin normal, sont utilisées à une concentration optimale prédéterminée dans du PBSTL.

Les sérums à analyser sont dilués dans du PBST.

Des études coopératives ont montré que ce test est plus spécifique et aussi sensible que la méthode ELISA de blocage en phase liquide (1).

#### • Mode opératoire

- i) Saturer des plaques ELISA en déposant dans chaque puits 50 µl d'antigène de lapin dirigé contre le virus aphteux, dilué dans un tampon carbonate/bicarbonate de pH 9,6, puis laisser reposer pendant une nuit dans une chambre humide à 4°C.
- ii) Laver à cinq reprises les plaques ELISA avec du PBS.
- iii) Ajouter dans chaque puits des plaques ELISA 50 µl de l'antigène viral dilué dans du tampon bloquant, couvrir et placer sur un agitateur orbital à 37°C pendant 1 heure, en agitant en permanence.
- iv) Après avoir lavé à cinq reprises avec du PBS, ajouter 40 µl de tampon bloquant dans chaque puits, puis 10 µl du sérum à analyser (ou du sérum témoin), ce qui donne une dilution sérique initiale de 1/5.
- v) Ajouter immédiatement 50 µl d'antisérum de cobaye anti-virus aphteux, dilué dans du tampon bloquant, ce qui donne une dilution sérique finale de 1/10.
- vi) Couvrir les plaques et mettre à incuber sur un agitateur orbital à 37°C pendant 1 heure.
- vii) Après avoir lavé à cinq reprises avec du PBS, ajouter 50 µl d'immunoglobulines anti-cobaye conjuguées, diluées dans du tampon bloquant, couvrir et mettre à incuber pendant 1 heure à 37°C sur un agitateur orbital.
- viii) Après avoir lavé à cinq reprises avec du PBS, ajouter dans chaque puits 50 µl d'orthophénylène diamine contenant 0,05% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%, M/V).
- ix) Interrompre la réaction au bout de 10 minutes en ajoutant 50 µl d'acide sulfurique 2 M. Lire les plaques à 492 nm à l'aide d'un spectrophotomètre relié à un micro-ordinateur.
- x) Témoins : sur chaque plaque, deux puits sont utilisés pour le conjugué témoin (pas de sérum de cobaye), quatre pour un sérum fortement positif, quatre pour un sérum faiblement positif, deux pour un sérum négatif et quatre pour une compétition à 0% (pas de sérum à analyser).
- xi) Interprétation des résultats : un pourcentage d'inhibition est calculé pour chaque puits, soit visuellement, soit à l'aide d'un programme informatique adapté (100 - [densité optique de chaque valeur test ou témoin/densité

<sup>12</sup> On effectue un titrage en échiquier de l'antisérum piègeur de lapin, de l'antisérum de cobaye et de l'antisérum anti-cobaye. Avant d'utiliser la méthode ELISA à piégeage d'antigène ou ELISA de blocage en phase liquide, tous ces réactifs sont titrés l'un par rapport à l'autre, le troisième étant maintenu à une concentration fixe. On peut ainsi déterminer les dilutions optimales (pour une couleur positive et une faible couleur de fond). Ces dilutions « prédéterminées » sont alors utilisées pour tous les tests futurs utilisant ces lots particuliers de réactifs.

### Annexe III (suite)

optique moyenne de la compétition à 0%] x 100%), ce qui représente la compétition pour l'antigène viral sur la plaque ELISA entre le sérum à analyser et l'antisérum de cobaye anti-virus apteux. Une inhibition supérieure à 60% est considérée comme positive (N.B. tampon bloquant : 0,05% [M/V] de Tween 20, 10% [V/V] de sérum bovin normal, 5% [V/V] de sérum de lapin normal).

### **Bibliographie**

1. MACKAY D.K.J., BULUT A.N., RENDLE T., DAVIDSON F. & FERRIS N.P. (2001). A solid-phase competition ELISA for measuring antibody to foot-and-mouth disease virus. *J. Virol. Methods*, 97 (1–2), 33–48.

---



## PROTOCOLE DE LA NOUVELLE EPREUVE ELISA PRESCRITE PROPOSEE POUR LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE DE LA RAGE

### Dosage immuno-enzymatique

Ce dosage immuno-enzymatique (ELISA) indirect permet la détection quantitative des anticorps de la rage dans des échantillons sériques individuels de chiens ou de chats. Un minimum de 0,5 unité internationale (UI) d'anticorps antirabique par ml est nécessaire pour protéger contre une infection par la rage, conformément à la recommandation de l'Organisation mondiale de la santé (OMS 1992. Comité d'experts sur la rage, huitième rapport. Organisation mondiale de la santé, Genève, Série des Rapports Techniques n° 824).

La réaction comporte trois étapes :

1. Chaque échantillon sérique est placé dans un puits sensibilisé avec des antigènes de virus rabique inactivés. Les anticorps présents dans l'échantillon se fixent aux antigènes viraux déposés au fond du puits.
2. Après une étape de lavage, on ajoute un conjugué de protéine A/peroxydase qui se fixe aux immunoglobulines (anticorps) préalablement capturées, formant un complexe (antigène rabique) – (anticorps antirabique) – protéine A/peroxydase).
3. Le conjugué en excès est éliminé par une étape de lavage. L'enzyme liée au complexe est révélée par l'addition d'un substrat qui se colore. Après interruption de la réaction, on mesure les densités optiques.

#### • Préparation de l'antigène

La souche G52 du virus de la rage (dérivé obtenu auprès de l'Institut Pasteur) est mise en culture sur des cellules NIL2 ou une lignée cellulaire d'embryon de hamster à passages réduits. Les virus recueillis sont clarifiés pour éliminer les débris cellulaires par filtration sur gel et la suspension virale est inactivée à l'aide de bêta-propiolactone.

#### • Réactifs<sup>13</sup>

Microplaque contenant 6 bandes de 16 puits sensibilisés avec des antigènes rabiques. À utiliser dans les quatre semaines suivant l'ouverture du sachet. Celui-ci doit être refermé après chaque utilisation.

Conjugué (CJ) : protéine A/peroxydase, concentré 10 fois. Diluer au 1/10 dans le diluant du conjugué (DC) et utiliser dans les 24 heures suivant la dilution.

Substrat peroxydase tamponné (SP) ; 3,3', 5,5'-tétraméthylbenzidine.

Sérum témoin négatif (N), sérums exempts de certains agents pathogènes spécifiques, dilués dans du Stabilzyme, un stabilisant commercialisé fourni par Surmodics Inc, MN 55344-3523, États-Unis d'Amérique.

Sérum témoin positif (P), sérums hyperimmuns provenant de chiens vaccinés, dilués dans du Stabilzyme, un stabilisant commercialisé fourni par Surmodics Inc, MN 55344-3523, États-Unis d'Amérique.

Diluant de l'échantillon (DE), tampon PBS, pH 7,8, contenant 0,28% M/V de caséine et 0,055% V/V de Triton X100, 0,55% M/V de PEG, 0,056% M/V de SDS, 1% M/V de PVP, 0,42% M/V de Tetronic et 1% V/V de sérum bovin inactivé par la chaleur.

Solution de lavage (L), tampon Tris/NaCl, pH 7,5, contenant 1% de Tween 20.

Diluant du conjugué (DC), tampon Tris, pH 8.

Solution d'arrêt (A), solution d'acide sulfurique 4N.

Les réactifs dilués doivent être conservés à  $5 \pm 3^\circ\text{C}$ . Placer tous les réactifs à la température du laboratoire une heure au moins avant l'utilisation.

<sup>13</sup> Disponible auprès de Synbiotics Europe S.A.S., 2 rue Alexander Fleming, 69367 LYON CEDEX 07

• **Échantillons**

Effectuer la réaction sur un échantillon sérique individuel inactivé par la chaleur (30 mn à 56°C) et dilué au 1/100. Tester la série de dilutions appropriée du sérum de référence international OIE pour la rage contenant 6,7 UI/ml (disponible auprès du Laboratoire de référence de l'OIE pour la rage à Nancy, France).

Les échantillons sériques doivent être conservés à  $5 \pm 3^\circ\text{C}$ . En cas de stockage prolongé, ils doivent être congelés à  $-20^\circ\text{C}$ .

• **Étapes de prédilution préliminaire**

Respecter rigoureusement la procédure décrite ci-après. Utiliser des témoins négatifs et positifs en double pour chaque séquence analytique et/ou chaque plaque.

- i) Organiser soigneusement la distribution et l'identification des témoins et des échantillons en utilisant les plans ci-après.
- ii) Préparer les sérums à analyser. Les dilutions sont effectuées avec le diluant de l'échantillon (DE) comme suit : les échantillons sont en premier lieu prédilués au 1/10 dans une microplaque utilisée comme blanc (10 µl de l'échantillon dans 90 µl de DE).
- iii) Pour le titrage sérique, une série de six dilutions du sérum de référence OIE doit être effectuée soit dans des tubes, soit sur une microplaque utilisée comme blanc, en commençant par la dilution initiale de 1/10, puis en poursuivant avec 1/30, 1/100, 1/300 et 1/1000 jusqu'à la dilution finale de 1/3000. Cette série de dilutions du sérum de référence OIE doit être incluse dans chaque séquence analytique et/ou sur les microplaques avec une dilution initiale de 1/10, 1/30, 1/100, 1/300, 1/1000 et 1/3000.

La procédure suivante est recommandée pour préparer la série de dilutions appropriée :

Dilution OIE	Préparation
1/10	10 µl du sérum de référence international OIE pour la rage + 90 µl du diluant de l'échantillon
1/30	10 µl du sérum de référence international OIE pour la rage + 290 µl du diluant de l'échantillon
1/100	10 µl de la dilution au 1/10 + 90 µl du diluant de l'échantillon
1/300	10 µl de la dilution au 1/30 + 90 µl du diluant de l'échantillon
1/1000	10 µl de la dilution au 1/100 + 90 µl du diluant de l'échantillon
1/3000	10 µl de la dilution au 1/300 + 90 µl du diluant de l'échantillon

Cette fourchette de dilutions du sérum de référence OIE doit être présente sur toutes les plaques.

• **Mode opératoire**

- i) *Distribution des témoins* : verser 90 µl de diluant de l'échantillon et ajouter 10 µl du témoin négatif dans les puits A1 et A2 et 10 µl du témoin positif dans les puits B1 et B2.
- ii) *Distribution des échantillons et des dilutions du sérum de référence OIE* : verser 90 µl du diluant de l'échantillon, ajouter dans les puits soit 10 µl d'une prédilution au 1/10 de l'échantillon, soit 10 µl de chaque dilution du sérum OIE, allant de 1/10 à 1/3000, et mélanger soigneusement.

Les échantillons et les dilutions du sérum de référence OIE doivent être analysés en double. Les plans de distribution suivants sont recommandés (indication des dilutions finales) :

**Quantification des anticorps (dilution finale)**

	1	2	3	4
A	N 1/10	N 1/10	E1 1/100	E1 1/100
B	P 1/10	P 1/10	E2 1/100	E2 1/100
C	OIE 1/100	OIE 1/100	E3 1/100	E3 1/100
D	OIE 1/300	OIE 1/300	E4 1/100	E4 1/100
E	OIE1/1000	OIE1/1000	E5 1/100	E5 1/100
F	OIE 1/3000	OIE 1/3000	E6 1/100	E6 1/100
G	OIE 1/10000	OIE 1/10000	E7 1/100	E7 1/100
H	OIE 1/30000	OIE 1/30000	E8 1/100	E8 1/100

Les bandes doivent dans tous les cas être placées sur le cadre de manière à convenir à la fois au lavage et à la lecture. Couvrir les puits à l'aide d'un film adhésif, couper à la longueur voulue selon le nombre de bandes utilisées. Mélanger en agitant doucement la plaque manuellement ou en utilisant un agitateur de plaques.

iii) Mettre à incuber les échantillons pendant 1 heure  $\pm$  5 minutes à  $37 \pm 3^\circ\text{C}$ .

iv) *Dilution des réactifs :*

*Tampon de lavage :* diluer au 1/10 la solution de lavage concentrée (L) dans de l'eau distillée ou déminéralisée.

*Conjugué :* diluer au 1/10 le concentré (CJ) dans le diluant du conjugué (DC) ; 2 ml sont nécessaires pour une bande, c'est-à-dire 20  $\mu\text{l}$  de CJ dans 1,88 ml de DC.

v) Retirer avec précaution le film adhésif et laver à quatre reprises.

vi) Ajouter 100  $\mu\text{l}$  de conjugué dilué dans tous les puits et couvrir avec un nouveau film adhésif.

vii) Mettre à incuber le conjugué pendant 1 heure  $\pm$  5 minutes à  $37 \pm 3^\circ\text{C}$ .

viii) Retirer soigneusement le film adhésif et laver à quatre reprises.

ix) Ajouter 100  $\mu\text{l}$  de substrat peroxydase tamponné (SP) par puits. Ne pas recouvrir de film adhésif à ce stade. Mélanger en agitant doucement la plaque manuellement ou utiliser un agitateur de plaques pour obtenir une homogénéisation correcte.

x) Mettre à incuber pendant  $30 \pm 5$  minutes à la température du laboratoire ( $20 \pm 5^\circ\text{C}$ ), à l'abri de la lumière.

xi) Ajouter dans chaque puits 50  $\mu\text{l}$  de la solution d'arrêt (A). Mélanger en agitant doucement la plaque manuellement ou en utilisant un agitateur de plaques. S'assurer de l'absence de bulles dans les puits. Essuyer soigneusement le fond des puits.

xii) Mesurer la densité optique (DO) en lumière bichromatique à 450 et 630 nm ou en lumière monochromatique à 450 nm (dans la bande jaune).

• **Quantification des anticorps : expression et interprétation des résultats**

Calcul du titre à l'aide de la courbe de régression :

i) Calculer la DO moyenne pour chaque échantillon analysé et chaque dilution du sérum OIE.

ii) Calculer le logarithme naturel ( $\ln$ ) de chaque DO moyenne ainsi que le  $\ln$  de la concentration d'anticorps antirabiques pour chaque dilution OIE (de 6,7 à 0,0223 UI/ml sans tenir compte du facteur de dilution de 1/100 de l'analyse).

- iii) Représenter graphiquement le  $\ln$  de la DO (axe des y) en fonction du  $\ln$  de la concentration des anticorps antirabiques (axe des x) afin d'établir la courbe de référence pour le sérum de référence OIE.
- iv) En utilisant tous les résultats individuels obtenus pour les dilutions du sérum de référence OIE, effectuer une régression linéaire entre le  $\ln$  des concentrations d'anticorps antirabiques (exprimées en unités ELISA (UE) par ml) et le  $\ln$  de la DO afin d'obtenir le modèle mathématique correspondant :

$$\ln \text{ de la concentration d'anticorps antirabiques (UE/ml)} = a + b \times \ln \text{ de la DO.}$$

- v) Pour chaque échantillon testé, calculer la DO moyenne puis la concentration d'anticorps antirabiques dans l'échantillon, exprimée en « unités équivalentes par ml (ue/ml) » à partir du modèle établi suivant :

$$\text{concentration d'anticorps antirabiques dans l'échantillon (ue/ml)} = e (a + b \times \ln \text{ de la DO}).$$

- **Validation des tests**

Les résultats de chaque séquence analytique (ou de chaque plaque) sont valides :

- si la densité optique obtenue avec le témoin positif (DO P) est supérieure ou égale à 0,300 et
- si la densité optique obtenue avec le témoin négatif (DO N) est inférieure à  $0,50 \times \text{DO P}$  ;
- si le coefficient de corrélation entre le  $\ln$  des DO et le  $\ln$  des concentrations d'anticorps antirabiques pour le sérum standard OIE est supérieur à 0,95.

- **Exemples**

*Témoin positif :*

$$\text{DO puits } B_1 = 0,610 \quad \text{DO puits } B_2 = 0,690 \quad \Rightarrow \quad \text{DO P} = 0,650$$

*Témoin négatif :*

$$\text{DO puits } A_1 = 0,190 \quad \text{DO puits } A_2 = 0,210 \quad \Rightarrow \quad \text{DO N} = 0,200$$

$$\text{Échantillon 1 :} \quad \text{DO puits 1} = 1,790 \quad \text{DO puits 2} = 1,750 \quad \Rightarrow \quad \text{DO} = 1,770$$

$$\text{Échantillon 2 :} \quad \text{DO puits 1} = 0,350 \quad \text{DO puits 2} = 0,390 \quad \Rightarrow \quad \text{DO} = 0,370$$

*Validation du test*

$\text{DO P} = 0,650 > 0,300$  et  $\text{DO N} = 0,200 < 0,50 \times 0,650 = 0,325$ , ce qui indique que l'analyse est valide.

- **Résultats et interprétation (titrage quantitatif des anticorps)**

Si le titre calculé est  $\geq 0,6$ , l'animal est considéré comme protégé.

Si le titre calculé est  $< 0,6$ , l'animal est considéré comme potentiellement non protégé. Étant donné que la méthode ELISA est destinée à un test de dépistage, un test de confirmation par neutralisation virale avec anticorps fluorescents [FAVN] peut être effectué.

## PROTOCOLE DE RECHERCHE DES PROTEINES NON STRUCTURALES EN VUE DE LA DETERMINATION DU STATUT DES ANIMAUX VACCINES AU REGARD DE LA FIEVRE APHTEUSE, A L'ECHELLE DES TROUPEAUX

### Tests de recherche des anticorps dirigés contre les protéines non structurales

Les anticorps dirigés contre les protéines non structurales recombinantes exprimées du virus aphteux peuvent être titrés par la méthode ELISA ou par immuno-empreinte. Une technique ELISA à piégeage d'anticorps monoclonaux permettant de détecter les anticorps anti-3ABC (2) et des techniques ELISA de blocage caractérisant les anticorps anti-3AB ou anti-3ABC (5) se sont révélées sensibles, spécifiques et fiables dans un certain nombre de laboratoires. La détection simultanée des anticorps dirigés contre plusieurs protéines non structurales par un seul test reposant sur la méthode ELISA (3, 5) ou l'EITB<sup>14</sup>, qui est un type de « Western blot » (1), est utile pour confirmer les animaux porteurs d'anticorps anti-3AB ou anti-3ABC. Il n'existe actuellement aucune référence internationale reconnue pour les anticorps dirigés contre les protéines non structurales du virus aphteux mais une application de ces tests est détaillée ci-après.

- **Méthode ELISA indirecte**

#### *Préparation des antigènes recombinants*

- i) Les cinq protéines non structurales du virus aphteux (3A, 3B, 2C, 3D et 3ABC) sont exprimées dans *E. coli* C600 par thermo-induction. Le polypeptide 3D est exprimé sous sa forme complète (4) tandis que les autres protéines sont obtenues sous forme fusionnée avec la partie N-terminale du gène MS-2 polymérase (6).
- ii) La polymérase exprimée est purifiée sur de la phosphocellulose, puis sur des colonnes de poly(U) Sepharose. Les protéines 3A, 3B, 2C et 3ABC fusionnées sont purifiées par extraction séquentielle des extraits bactériens avec des concentrations croissantes d'urée. La fraction 7M contenant les protéines de fusion subit une nouvelle purification par électrophorèse préparative sur gel de polyacrylamide au dodécylsulfate de sodium à 10% (SDS/PAGE). La bande correspondant aux protéines de fusion est excisée du gel et électroéluée (4).
- iii) Un mélange contenant 20 ng/ml de chacun des polypeptides recombinants purifiés est séparé par SDS/PAGE (à 12,5%) et transféré sur de la nitrocellulose par électrophorèse (4).

- **Mode opératoire**

- i) Des microplaques sont saturées avec 1 µg/ml de l'antigène de fusion 3ABC dans un tampon carbonate/bicarbonate, pH 9,6 (100 µl par puits) et laissées pendant une nuit à 4°C. L'antigène 3ABC a auparavant été exprimé et purifié comme indiqué pour les tests EITB (4).
- ii) Les plaques sont lavées à six reprises avec du PBS, pH 7,2, additionné de 0,05% de Tween 20.
- iii) Les sérums à analyser (100 µl par puits) sont ajoutés à une dilution de 1/20 dans du tampon bloquant composé de PBS, 0,05% de Tween 20, 5% de lait en poudre écrémé, 10% de sérum équien et 0,1% de lysat d'*Escherichia coli*. Chaque plaque inclut un ensemble de sérums de référence tels que définis pour le test EITB.
- iv) Les plaques sont mises à incuber pendant 30 minutes à 37°C et lavées à six reprises dans du PBS additionné de Tween.
- v) Des IgG de lapin anti-espèce, conjuguées à de la peroxydase de raifort, sont diluées en concentrations optimales dans le tampon bloquant et ajoutées à raison de 100 µl par puits. La plaque est alors mise à incuber pendant 30 minutes à 37°C.
- vi) Après six lavages, chaque puits est rempli avec 100 µl de 3,3', 5,5'-tétraméthylbenzidine + 0,004% (M/V) de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans un tampon phosphate/citrate, pH 5,5.
- vii) La réaction est interrompue au bout de 15 minutes d'incubation à température ambiante par l'addition de 100 µl de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M. L'absorbance est lue à 450 nm et à 620 nm pour permettre la correction du bruit de fond.

---

<sup>14</sup> EITB : Enzyme-linked immuno-electrotransfer blot

- **Interprétation des résultats**

Pour que ce système de test soit valable, il convient de retenir les critères de performance suivants : l'absorbance des témoins négatifs doit être  $< 0,10$  après correction pour tenir compte de l'absorbance des puits utilisés comme blancs. Le sérum limite obtenu comme décrit dans le test EITB devrait donner des valeurs d'absorbance de 0,15-0,40. Les résultats sont exprimés sous forme d'indice, obtenu en divisant l'absorbance du sérum analysé par celle du témoin limite. Le rapport entre le témoin faiblement positif et le témoin limite devrait être de 2,5, avec un coefficient de variation  $< 20\%$ . Les sérums analysés correspondant à un rapport  $> 0,8$  sont considérés comme suspects ou positifs et sont retestés par EITB. Les plaques saturées et les sérums de référence secondaires sont disponibles sur demande auprès du Centre PANAF-TOSA<sup>15</sup>.

### Bibliographie

1. BERGMANN I.E., DE MELLO P.A., NEITZERT E., BECK & GOMEZ, I. (1993). Diagnosis of persistent aphthovirus infection and its differentiation from vaccination response in cattle by use of enzyme-linked immunoelectrotransfer blot analysis with bioengineered non-structural viral antigens. *Am. J. Vet. Res.*, **54**, 825–831.
2. DE DIEGO M., BROCCI E., MACKAY D. & DE SIMONE F. (1997). The use of the non-structural polyprotein 3ABC of FMD virus as a diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle. *Arch. Virol.*, **142**, 2021–2033.
3. MACKAY D.K.J, FORSYTH M.A., DAVIES P.R., BERLINZANI, A., BELSHAM G.J., FLINT M. & RYAN M.D. (1997). Differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease using a panel of recombinant, non-structural proteins in ELISA. *Vaccine*, **16**, 446–459.
4. NEITZERT E., BECK E., AUGE DE MELLO P., GOMES I. & BERGMANN I.E. (1991). Expression of the aphthovirus RNA polymerase gene in *Escherichia coli* and its use together with other bioengineered non-structural antigens in detection of late persistent infections. *Virology*, **184**, 799–804.
5. SORENSEN K.J., MADSEN K.G., MADSEN E.S., SALT J.S., NQUINDI J. & MACKAY D.K.J. (1998). Differentiation of infection from vaccination in foot-and-mouth disease by the detection of antibodies to the non-structural proteins 3D, 3AB and 3ABC in ELISA using antigens expressed in baculovirus. *Arch. Virol.*, **143**, 1461–1476.
6. STREBEL K., BECK E., STROHMAIER D. & SCHALLER H. (1986). Characterisation of foot-and-mouth disease virus gene products with antisera against bacterially synthesised fusion proteins. *J. Virol.*, **57**, 983–991.

---

<sup>15</sup> Centre panaméricain pour la fièvre aphteuse, Caixa Postal 589, 20001-970 Rio de Janeiro, Brésil. (dir@aftosa.ops-oms.org)

**MANUEL DES NORMES DE L'OIE POUR LES TESTS DE DIAGNOSTIC ET LES VACCINS****Modifications proposées à la liste des épreuves prescrites et des épreuves de substitution**

Réf. N°	Maladie	Épreuves prescrites	Épreuves de substitution
A010	Fièvre aphteuse	ELISA*, VN	CF
B058	Rage	<u>ELISA</u> , VN	–
B108	Leucose bovine enzootique	AGID, ELISA,	<u>PCR</u>
B253	Brucellose porcine	[BBAT] <u>ELISA</u>	<u>BBAT [ELISA], FPA</u>

\* Voir la méthode prescrite dans les chapitres correspondants du *Manuel* .

- AGID = Immunodiffusion en gélose (agar gel immunodiffusion)  
 BBAT = Épreuve à l'antigène tamponné pour *Brucella* (buffered *Brucella* antigen test)  
 CF = Fixation du complément (complement fixation)  
 ELISA = Méthode immunoenzymatique (enzyme-linked immunosorbent assay)  
 FPA = Test de polarisation en fluorescence (fluorescence polarisation assay)  
 PCR = Amplification en chaîne par polymérase (polymerase chain reaction)  
 VN = Neutralisation virale (virus neutralisation)

Texte souligné d'un double trait = nouvelle proposition.

Texte entre crochets et en petits caractères = proposition de suppression



## LIGNES DIRECTRICES DE L'OIE POUR LA VALIDATION DES METHODES DE DIAGNOSTIC DES MALADIES INFECTIEUSES

### 1. Introduction

#### 1.1. Objet

Le présent document contient des lignes directrices pour la validation des méthodes de diagnostic des maladies infectieuses. Il s'agit d'un complément au chapitre I.1.3, « Principles of Validation of Diagnostic Assays for Infectious Diseases » (principes de validation des méthodes de diagnostic des maladies infectieuses), *Manuel des normes de l'OIE pour les tests de diagnostic et les vaccins*, 2000 et Jacobson R.H. (1998) - Validation des tests sérologiques utilisées pour le diagnostic des maladies infectieuses. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **17** (2), 469–486.

#### 1.2. Champ d'application

Ces lignes directrices sont destinées à être utilisées par les Pays Membres de l'OIE pour déterminer et vérifier les caractéristiques de performance des analyses en général et valider les techniques propres à chaque laboratoire, telles que visées dans la norme OIE établissant les prescriptions administratives et techniques applicables aux laboratoires effectuant des analyses portant sur des maladies animales infectieuses.

#### 1.3. Analyses validées

Une analyse validée fournit des résultats qui identifient un animal comme étant systématiquement positif ou négatif pour une substance particulière recherchée (anticorps ou antigène par exemple) ou une réaction donnée (induration au site d'un test cutané par exemple), ce qui permet par inférence de prédire exactement le statut infectieux de l'animal avec un degré prédéterminé de certitude statistique.

#### 1.4. Étapes du développement et de la validation d'une analyse

Le développement et la validation d'une analyse est un processus constitué au minimum de cinq étapes. Il est important de comprendre toutes les étapes du développement car les tout premiers stades peuvent peser lourdement sur la capacité de l'analyse à fournir des résultats exacts et fiables.

Ces stades comportent :

- a) les études de faisabilité,
- b) le développement et la standardisation,
- c) la caractérisation des performances de l'analyse,
- d) la validité des résultats (valeur prédictive),
- e) la surveillance et l'amélioration des critères de validation.

### 2. Études de faisabilité

#### 2.1. Adéquation

Un test de diagnostic ne doit être développé qu'au terme d'études de faisabilité. Une nouvelle analyse doit avant tout être conçue pour des applications diagnostiques spécifiques (importation/exportation, surveillance, prophylaxie, etc.).

La sensibilité analytique (définie ci-après) par rapport à la nature et à la concentration de la substance à analyser ou à l'importance de la réaction à détecter ainsi que la spécificité analytique par rapport au micro-organisme concerné doivent être adaptées à l'application prévue.

L'application elle-même doit dicter les exigences minimales acceptables en matière de sensibilité et de spécificité diagnostiques.

Les facteurs liés à l'hôte doivent être considérés par rapport à l'espèce cible et doivent inclure les effets de l'âge, du sexe, de la race, de l'état nutritionnel, de la gravité et de la réactivité immunologique.

Le protocole doit être adapté quant aux aspects suivants : intégration aux tests diagnostiques de routine, exigences concernant les réactifs et les prélèvements à tester, contrôles de qualité, répétabilité et expression des résultats.

## **2.2. Coût et disponibilité du matériel nécessaire**

Le coût et la disponibilité des équipements et services spécialisés, des produits chimiques, des matériels de laboratoire, y compris des matériels en matière plastique ainsi que des réactifs biologiques tels qu'anticorps monoclonaux et antigènes recombinants ne doivent pas être des facteurs limitants.

## **3. Développement et standardisation**

### **3.1. Standardisation des paramètres du protocole et concentrations optimales des réactifs**

Tous les paramètres physico-chimiques de l'analyse doivent être standardisés et définis dans un protocole écrit. Les points de contrôle critiques doivent être identifiés.

Tous les réactifs biologiques (antigènes, anticorps, témoins, systèmes d'enzymes/substrats, etc.) ainsi que les conditions de stockage et le mode de préparation doivent être décrits ou référencés dans le protocole. Les procédures de dosage des réactifs et d'étalonnage par rapport à des étalons internationaux s'il y a lieu doivent également être incluses.

Les critères d'acceptation et de rejet d'une séquence analytique (reposant sur des étalons internes) ou des résultats individuels des prélèvements testés doivent également être décrits en détail. La standardisation et l'expression des résultats ainsi que leur interprétation doivent aussi être prévues.

### **3.2. Estimations de la répétabilité**

Des estimations préliminaires de la répétabilité doivent être effectuées. Le degré de concordance entre les tests effectués en double, à l'intérieur d'une même séquence analytique ou d'une séquence à l'autre, doit être compatible avec la variabilité inhérente au type d'analyse concerné. Toute variabilité excessive doit être étudiée et corrigée avant de poursuivre le développement.

### **3.3. Sensibilité et spécificité analytiques**

La sensibilité analytique représente la plus petite quantité de substance caractérisable ou la plus faible réaction décelable. Pour déterminer la sensibilité analytique en termes absolus, il est nécessaire d'utiliser des substances purifiées. Avec des systèmes biologiques complexes tels qu'antigène-anticorps, cela est souvent impossible. Une mesure indirecte de la sensibilité analytique peut être obtenue par exemple par titrage des substances de référence en dilution limite.

La spécificité analytique peut être évaluée en analysant des ensembles de prélèvements provenant d'animaux ayant été infectés par des microorganismes apparentés. Plus la réactivité croisée est faible, plus la spécificité analytique est élevée. Selon l'application prévue de l'analyse, le niveau approprié de spécificité analytique peut être une spécificité d'espèce, de groupe ou de sous-groupe.

## **4. Détermination des caractéristiques de performance de l'analyse**

### **4.1. Estimations de la sensibilité et de la spécificité diagnostiques**

Les estimations de la sensibilité et de la spécificité diagnostiques servent de base aux calculs des autres paramètres dont seront tirées des inférences sur les résultats. Aussi est-il essentiel que ces estimations soient aussi exactes que possible.

Dans les conditions idéales, ces estimations doivent être issues de l'analyse d'un ensemble de prélèvements provenant d'animaux de référence dont les antécédents et le statut infectieux sont connus. Il est cependant souvent difficile de réunir des ensembles de prélèvements provenant d'animaux chez qui une infection est connue. L'infection ne peut être prouvée qu'en isolant le micro-organisme ou en utilisant des critères histopathologiques pathognomoniques. Dans certains cas, il peut être nécessaire d'immuniser ou d'infecter expérimentalement un groupe d'animaux et de recueillir des prélèvements en série au cours du développement de la réponse immunitaire ou de l'infection. Il peut aussi être difficile de réunir des ensembles d'échantillons provenant d'animaux connus pour être exempts d'infection. Cela est particulièrement vrai dans les zones où la maladie est endémique. Dans certains cas, il peut être nécessaire de tester des groupes d'animaux non infectés très éloignés de la population cible.

La sensibilité diagnostique ( $S_n$ ) est la proportion d'animaux infectés présentant un résultat positif à

l'analyse. Les animaux infectés chez qui le résultat est négatif sont considérés comme des faux négatifs.

La spécificité diagnostique (Sp) est la proportion d'animaux non infectés présentant des résultats négatifs à l'analyse. Les animaux non infectés chez qui le résultat est positif sont considérés comme des faux positifs.

Le nombre d'échantillons de référence requis pour estimer Sn et Sp peut être calculé. Une prédiction raisonnable de Sn et de Sp doit être utilisée à cet effet. Une erreur acceptable doit être choisie pour l'estimation de ces deux valeurs. Enfin, le degré de confiance désiré pour l'estimation doit être intégré aux facteurs de l'équation (en principe 95%).

Aucune formule ne permet cependant de prendre en compte les nombreux facteurs liés à l'hôte ou au micro-organisme et susceptibles de se répercuter sur les résultats de l'analyse. Une règle générale de bon sens consiste à tester au moins 300 animaux infectés et au moins 1 000 animaux non infectés pour obtenir respectivement une estimation de Sn et de Sp.

#### 4.2. Sélection des critères de différenciation entre résultats positifs et résultats négatifs

Pour estimer la sensibilité et la spécificité diagnostiques, les données doivent être classées en résultats positifs et résultats négatifs. Quel que soit le type d'analyse (qualitatif, semi-quantitatif ou quantitatif), il est indispensable de définir sans ambiguïté les critères de différenciation entre les résultats positifs et négatifs.

De nombreuses méthodes ont été utilisées pour définir ces limites. Aucune n'est infaillible et il peut souvent être utile de choisir plusieurs critères pour affiner et confirmer le résultat.

#### 4.3. Calcul de la sensibilité et de la spécificité diagnostiques

Il est possible d'estimer la sensibilité et la spécificité diagnostiques à condition d'avoir réuni et analysé les ensembles voulus d'échantillons provenant de sujets de référence infectés et non infectés et d'avoir choisi un critère de différenciation.

Résultat de l'analyse	Statut infectieux	
	Infecté	Non infecté
Positif	VP	FP
Négatif	FN	VN

$$\text{Sensibilité diagnostique} = \text{VP} / (\text{VP} + \text{FN})$$

$$\text{Spécificité diagnostique} = \text{VN} / (\text{VN} + \text{FP})$$

où VP signifie vrai positif, VN vrai négatif, FP faux positif et FN faux négatif, d'après la comparaison du résultat de l'analyse au statut infectieux.

Pour comparer la sensibilité et la spécificité diagnostiques d'un test à celles d'un autre, il est obligatoire d'analyser exactement les mêmes échantillons de référence infectés et non infectés, faute de quoi la comparaison ne serait pas valable.

#### 4.4. Autres référentiels

Les nouvelles analyses sont fréquemment comparées à un test standard existant. Il s'agit souvent du test reconnu comme étant doté de la plus grande sensibilité et/ou spécificité diagnostique parmi tous les tests couramment utilisés. Une nouvelle analyse peut être comparée à un test standard existant en termes de sensibilité et de spécificité « relatives ». Cette approche postule cependant que les résultats du test standard reflètent avec exactitude le statut infectieux véritable de l'animal.

	Résultat du test standard	
Résultat de l'analyse	Positif	Négatif
Positif	VP	FP
Négatif	FN	VN

$$\text{Sensibilité diagnostique} = \text{VP} / (\text{VP} + \text{FN})$$

$$\text{Spécificité diagnostique} = \text{VN} / (\text{VN} + \text{FP})$$

où VP signifie vrai positif, VN vrai négatif, FP faux positif et FN faux négatif, par rapport au résultat du test standard retenu pour la comparaison.

Le problème inhérent à ce type de comparaison est la difficulté à expliquer toute discordance sans un suivi détaillé des animaux pour en déterminer le statut infectieux véritable. Une autre approche consiste à calculer la concordance totale comme étant égale à  $(\text{VP} + \text{VN}) / (\text{VP} + \text{FN} + \text{VN} + \text{FP})$  mais, là encore, il est difficile d'expliquer toute discordance.

Afin de réduire les biais introduits par les taux de FP et de FN inhérents au test standard dans la comparaison qui précède, il serait préférable d'utiliser une batterie de tests pour définir la réactivité des échantillons de référence.

#### 4.5. Répétabilité et reproductibilité

La précision est une mesure de la dispersion des résultats correspondant à un échantillon analysé à plusieurs reprises. L'exactitude est une mesure de la concordance entre un résultat d'analyse et la valeur attendue pour une substance de référence de titre ou de concentration connus.

La répétabilité doit être déterminée au sein d'un laboratoire donné. Le degré de variabilité doit être évalué d'après des analyses répétées portant sur les échantillons témoins, aussi bien à l'intérieur de chaque séquence analytique que parmi plusieurs séquences. Les limites supérieure et inférieure doivent être établies pour chacun des témoins positifs et négatifs, ce qui donne la précision de l'analyse. Ces limites permettront de déterminer si une séquence analytique est valide ou doit être rejetée.

Si l'un des témoins positifs sert également de solution de référence, chaque séquence analytique devient également une mesure de l'exactitude.

Les échantillons analysés doivent également être examinés en fonction de la concordance entre les tests répétés. Une variabilité excessive entre celles-ci, notamment aux alentours de la valeur limite entre résultats négatifs et résultats positifs, se répercutera négativement sur la pertinence diagnostique en matière de statut infectieux.

L'analyse d'un ensemble d'échantillons de réactivité connue par plusieurs laboratoires utilisant des protocoles et des réactifs identiques permet de déterminer la reproductibilité. L'écart entre les résultats collectifs sur chaque échantillon et la valeur attendue est un indicateur de la reproductibilité de l'analyse et donne une mesure de la précision et de l'exactitude au sein des laboratoires.

Dans certains cas, il n'est pas toujours approprié de déterminer à l'avance le résultat attendu mais il est préférable d'établir statistiquement des limites supérieure et inférieure acceptables, sur la base des résultats concordants provenant des laboratoires participants. Cela est particulièrement important lors de l'élaboration de normes internationales.

### 5. Validité des résultats d'une analyse : valeur prédictive

La valeur prédictive d'un test positif (VP+) est la proportion de résultats positifs de l'analyse qui identifient correctement les animaux infectés.

La valeur prédictive d'un test négatif (VP-) est la proportion de résultats négatifs de l'analyse qui identifient correctement les animaux non infectés.

Les valeurs prédictives d'une analyse dépendent à la fois de la sensibilité et de la spécificité diagnostiques estimées et de la prévalence de la maladie dans la population cible.

La prévalence de la maladie dans la population cible a un impact considérable sur la valeur prédictive, à sensibilité et spécificité diagnostiques estimées constantes. Les résultats diagnostiques ne peuvent être interprétés uniquement dans l'absolu sans connaissance de la prévalence de la maladie. Aussi, la validité des résultats d'une analyse n'est-elle pas uniquement fonction des caractéristiques de performance de cette dernière.

## **6. Surveillance et amélioration des critères de validation**

Une analyse validée nécessite une surveillance et un suivi constants pour en garantir la fiabilité. Les résultats des contrôles de qualité internes doivent être examinés régulièrement pour mesurer la précision et l'exactitude au sein du laboratoire.

Un ensemble d'échantillons correspondant à l'éventail complet des réponses anticipées dans la population cible doit être utilisé pour évaluer tous les nouveaux lots de réactifs et s'assurer de l'uniformité de leur qualité.

Toute modification des protocoles de production ou des paramètres de l'analyse doit être soumise à évaluation pour déterminer si les caractéristiques de performance de l'analyse ont varié. Les modifications mineures destinées à améliorer la répétabilité et la reproductibilité sans agir sur les performances analytiques n'appellent pas nécessairement une réévaluation complète de la sensibilité et de la spécificité diagnostiques.

Toute modification majeure de l'analyse telle que l'introduction d'un protocole de production ou d'un réactif totalement nouveau appelle une réévaluation complète des caractéristiques de performance de l'analyse et une comparaison au protocole initial. Les comparaisons avec d'autres analyses ne sont pas nécessairement obligatoires sauf si la sensibilité ou la spécificité analytique a été radicalement modifiée.

Dans la mesure où les données sont tirées de l'analyse d'échantillons prélevés sur le terrain, il convient de mettre à jour les estimations de la sensibilité et de la spécificité diagnostiques. Plus le nombre d'échantillons retenus pour produire ces chiffres est important, plus le niveau de confiance des valeurs estimées sera élevé.

En cas de diminution de la prévalence de la maladie, de tendances saisonnières, d'apparition de micro-organismes apparentés ou de changements dans les pratiques vaccinales, il peut être nécessaire de réévaluer les caractéristiques de performance diagnostiques pour vérifier si l'analyse est toujours adaptée à l'objectif prévu.

---



## LABORATOIRES DE RÉFÉRENCE

### MANDAT

Les Laboratoires de référence de l'Office international des épizooties ont pour mandat principal :

- de jouer le rôle de centre d'expertise et de standardisation pour une ou plusieurs maladies précises ou certains domaines particuliers [des méthodologies applicables dans les domaines de leur spécialité] ;
- de conserver et distribuer des produits de référence biologiques ou tous autres réactifs utiles au diagnostic et au contrôle de cette ou ces maladies ou en rapport avec ces domaines [des maladies animales des Listes A et B] ;
- de développer de nouvelles méthodes de diagnostic et de contrôle de cette ou ces maladies ou en rapport avec ces domaines [ces maladies] ;
- de recueillir, traiter, analyser et diffuser les données épizootiologiques relevant de leur spécialité ;
- de mettre à disposition de l'Office international des épizooties des consultants experts.

Ils peuvent également contribuer à :

- assurer la formation scientifique et technique de personnels appartenant aux Pays Membres de l'Office ;
- mettre des services de diagnostic à disposition des Pays Membres ; En cas de résultat positif pour une maladie à déclaration obligatoire auprès de l'OIE, le Laboratoire de référence devra en informer immédiatement le Délégué du Pays Membre dont proviennent les prélèvements ;
- organiser des réunions scientifiques pour le compte de l'Office ;
- coordonner des études scientifiques et techniques en collaboration avec d'autres laboratoires ou organisations ;
- publier et diffuser toutes informations de leur domaine de compétence qui soient utiles aux Pays Membres de l'Office.

Les Laboratoires de référence de l'OIE pourraient être rémunérés pour les services qu'ils fournissent.

# LABORATOIRES DE RÉFÉRENCE

## RÈGLEMENT INTÉRIEUR

### *Article 1*

Les candidatures au titre de Laboratoire de référence de l'Office international des épizooties peuvent être adressées au Directeur général par le Délégué du Pays Membre auquel appartient ce Laboratoire ou par la Commission régionale correspondante.

### *Article 2*

Les candidatures reçues sont présentées par le Directeur général à la Commission administrative lors de ses réunions annuelles, après concertation avec la Commission des normes ou la Commission pour les maladies des poissons selon le cas [à la Commission des normes à l'occasion de ses réunions]. Les candidatures sont sélectionnées sur la base de la seule compétence scientifique et technique des experts proposés par les Laboratoires.

### *Article 3*

Les candidatures retenues sont présentées à l'approbation du Comité.

### *Article 4*

Le Directeur général notifie aux Laboratoires retenus leur désignation en qualité de « Laboratoire de référence de l'OIE ».

### *Article 5*

Cette notification entraîne le droit, pour le Laboratoire, d'utiliser le titre de "Laboratoire de référence de l'OIE" et l'emblème de l'OIE sur tous documents établis ès qualités par lui, et le droit pour le spécialiste désigné dans le Laboratoire de porter le titre d'expert de l'OIE.

### *Article 6*

Les experts de l'OIE exercent leurs activités dans le cadre du règlement applicable aux experts de l'OIE.

### *Article 7*

En contrepartie des droits cités à l'article 5, le Laboratoire et l'expert s'engagent à remplir avec conscience le mandat de Laboratoire de référence de l'OIE, dans la mesure des moyens dont ils disposent, et de fournir un rapport d'activités succinct au terme de chaque année civile de leur mandat. Ce rapport est diffusé à tous les Pays Membres.

### *Article 8*

La désignation est valable pour quatre ans, aux termes desquels le Directeur général peut proposer au Comité le renouvellement de cette désignation. Les deux parties ont, à tout moment, le droit de révoquer cette désignation.

### *Article 9*

Toute modification importante intervenant au sein du Laboratoire et susceptible de réduire ses compétences (notamment le retrait de l'expert désigné) doit être immédiatement signalée au Directeur général de l'Office.

