

## **SENSIBILITE, SPECIFICITE, VALEURS PREDICTIVES : EXEMPLE DE LA METHODE ELISA POUR LA PESTE PORCINE CLASSIQUE\***

Y. LEFORBAN<sup>[1]</sup> et P. VANNIER<sup>[1]</sup>

---

**RESUME** : Les qualités des tests sérologiques doivent être appréciées en fonction de la situation épidémiologique de la maladie qu'ils sont chargés de dépister. Un test ELISA destiné à la mise en évidence des anticorps de la peste porcine classique a été développé. Ce test a été étalonné par rapport au test de séroneutralisation existant : les deux tests présentent donc des sensibilités et spécificités équivalentes. Le choix du seuil de ces deux techniques a été établi en privilégiant la sensibilité, la contrepartie étant leur faible spécificité. Ce manque de spécificité est dû aux réactions sérologiques croisées existant entre le virus de la peste porcine classique et les autres Pestivirus (virus de la maladie des muqueuses et virus de la Border disease). Compte tenu de l'absence de foyer résiduel de peste porcine classique en France et des réactions sérologiques croisées, les tests présentent actuellement une valeur prédictive positive voisine de 0, la valeur prédictive négative étant proche de 100 %. Malgré leurs valeurs prédictives positives très faibles, ces tests sérologiques permettent d'assurer l'épidémiologie de la maladie dans des conditions satisfaisantes.

**SUMMARY** : The qualities of serological tests must be evaluated in relation to the epidemiological situation of the disease they are performed to trace. An ELISA test devoted to the revelation of CSF antibodies had been developed. This test had been standardized with the seroneutralisation assay. Both have similar sensitivities and specificities. The choice of the threshold for the two assays had been established in thinking first to sensitivity. This leads to a low specificity, mainly linked to cross-reactions between CSF virus and other Pestivirus (BVD and Border disease virus). With the absence of CSF outbreak in France and the existence of cross-reactions, the positive predictive value of the tests is nowadays close to 0, and the negative predictive value is close to 100 %. Even with this very low positive predictive values these serological tests are able to monitor the disease with good accuracy.

\*  
\* \*

.....  
\* Texte de l'exposé présenté le 7 décembre 1989.

[1] CNEVA, Station de Pathologie Porcine, BP 53, Les Croix, 22440 Ploufragan.

## INTRODUCTION

La peste porcine classique peut évoluer sous des formes diverses dont certaines sont peu caractéristiques ; elle peut même donner des formes totalement inapparentes, en particulier sur les porcs charcutiers. Ainsi, le dernier épisode de peste apparu en France dans la région Rhône-Alpes, à la fin de 1988, a sans doute évolué sous forme latente pendant plus d'un mois avant que des signes cliniques caractéristiques ne soient observés. C'est pourquoi les seules mesures d'abattage ne sont pas suffisantes pour contrôler la maladie. Il faut obligatoirement accompagner ces mesures d'abattage, du dépistage sérologique des formes inapparentes. Ce dépistage est réalisé d'une manière systématique dans tous les troupeaux de sélection multiplication (sommet de la pyramide de production) à intervalles de 6 mois et par sondage à l'abattoir sur les truies de réforme (base de la pyramide). Il est aussi réalisé dans tous les élevages de la zone d'observation de 3 km de rayon, définie autour des foyers ainsi que dans tous les élevages suspects en amont et en aval des foyers. Le nombre de sérologies pratiquées en France au cours des quatre dernières années est mentionné dans les tableaux I et II.

Tableau I : Contrôles sérologiques de peste porcine classique réalisés au cours des dernières années dans les élevages de sélection et multiplication  
(Source LCRV/DGAI).

ANNEE	CONTROLES SANITAIRES (élevages sélection et multiplication)		
	Nombre de sérums	Nombre de positifs	Pourcentage
1986	26.406	-	-
1987	26.732	45	0.17
1988	28.132	0	0
1989	18.134	10	0.06
TOTAL	99.404	55	0.05

Tableau II : Contrôles sérologiques de peste porcine classique réalisés au cours des dernières années sur les truies de réforme  
(Source LCRV/DGAI).

ANNEE	ABATTOIR (truies de réforme)		
	Nombre de sérums	Nombre de positifs	Pourcentage
1986	5.634	231	4.6
1987	-	-	-
1988	10.461	38	0.36
1989	13.417	11	0.08
TOTAL	29.512	280	0.9

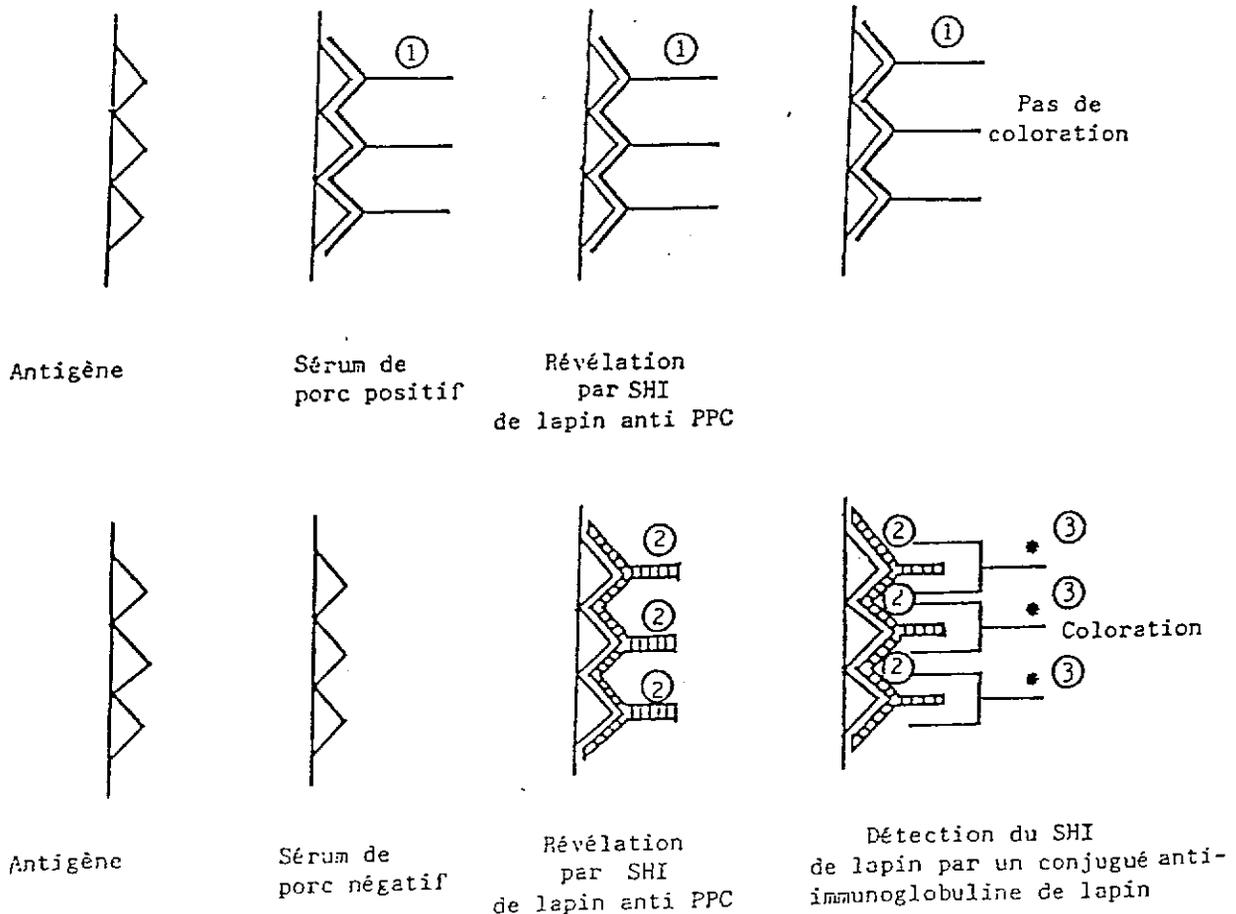
Le test utilisé est la séroneutralisation ou N.I.F. [Costes et coll., 1982]. Cette technique est à la fois très sensible et très spécifique mais son inconvénient majeur est d'être lourde et donc coûteuse. Pour pallier cet inconvénient, nous avons développé, au laboratoire de virologie de la Station de pathologie porcine de Ploufragan, une autre méthode (test ELISA par compétition) et nous nous proposons d'en présenter les étapes de mise au point. Seront essentiellement développées les étapes concernant l'ajustement de la sensibilité et de la spécificité du nouveau test par rapport au test de séroneutralisation.

## I - LES ETAPES DE LA MISE AU POINT DU TEST ELISA

### 1. PRINCIPE DU TEST ELISA

Le test est basé sur le principe de la compétition consistant à révéler les sites antigéniques non saturés par les anticorps du sérum à tester, au moyen d'un sérum hyperimmun de lapin spécifique du virus de la PPC [Have, 1984]. Dans un premier temps, le sérum de porc à tester est mis en contact avec l'antigène viral fixé au fond des cupules, puis dans un deuxième temps, les sites antigéniques restés libres sont révélés par un sérum anti virus PPC préparé sur lapin. Les immunoglobulines de lapin fixées spécifiquement sont elles-mêmes mises en évidence par un antisérum marqué à la peroxydase et l'orthophénylène diamine (OPD) est utilisé comme chromogène final (figure 1).

Figure 1 : Principe du test ELISA.



## 2. REACTIFS

### a. Antigène et sérum hyperimmun de lapin

L'antigène, le sérum hyperimmun de lapin anti virus PPC et les autres réactifs sont préparés et utilisés selon la méthode décrite par Have [1984].

Un réactif de contrôle sans virus est préparé dans les mêmes conditions que l'antigène. Il est utilisé pour tester la spécificité de chaque lot d'antigène mais il n'est pas inclus dans le test lui-même.

### b. Sérums de porc étalons

Des sérums étalons positifs et négatifs sont déposés sur chaque plaque réaction.

#### - Sérum négatif

Il s'agit d'un sérum de porc exempt d'organisme pathogène spécifique (EOPS) provenant de l'élevage de la Station de pathologie porcine (SPP). Le même sérum est utilisé pour tous les tests. Il est déposé à la dilution du demi dans 4 cupules non contiguës. Les densités optiques (D.O.) sont lues à l'aide d'un spectrophotomètre (DYNATECH MR 600) et les dilutions des différents réactifs sont déterminées de manière à obtenir une D.O. comprise entre 0,700 et 1,400 pour les 4 cupules contenant ce sérum négatif. La moyenne ainsi que le coefficient de variation (C.V.) des D.O. de ces 4 cupules sont calculés pour chaque plaque et les résultats de la plaque ne sont pris en compte que si les valeurs de D.O. sont bien comprises entre les deux limites et si le C.V. est inférieur à 10 p. cent.

#### - Sérum positif

Il est utilisé comme sérum étalon, un sérum hyperimmun anti peste porcine préparé sur porc EOPS dans notre laboratoire. Ce sérum dont le titre neutralisant est de 1/2560, a été préalablement éprouvé par le test ELISA de manière à déterminer deux dilutions encadrant le 50 p. cent d'inhibition (1 %) ; chacune des deux dilutions de ce sérum étant disposée dans deux cupules non contiguës. Ultérieurement, ces deux sérums ont été remplacés par un seul sérum étalonné pour donner 25 p. 100 d'inhibition (sérum seuil). L'utilisation de ce sérum étalon positif permet de contrôler la spécificité de la réaction d'inhibition et de vérifier la sensibilité du test pour chaque plaque.

## 3. SÉRUMS DE PORCS UTILISÉS POUR LA MISE AU POINT ET LA VALIDATION DU TEST

### a. Nature des sérums

Deux catégories de sérums ont été analysées : des sérums considérés comme référence pour la phase de mise au point du test dans notre laboratoire et des sérums du terrain pour éprouver la méthode dans les conditions réelles d'utilisation.

#### - Sérums de référence : mise au point

Les sérums de référence avaient préalablement été éprouvés par la technique de séroneutralisation (N.I.F.).

Les sérums trouvés négatifs par le test N.I.F., au nombre de 65, avaient deux origines :

- Le Laboratoire national de référence de Maisons-Alfort pour 18 sérums (sérums nationaux de référence utilisés pour le test N.I.F.),
- L'élevage de porcs EOPS de la Station de pathologie porcine pour 47 sérums.

Les 84 sérums contenant des anticorps neutralisants révélés par le test de neutralisation provenaient :

- du Laboratoire national de référence pour 38 sérums (sérums nationaux de référence utilisés pour le test N.I.F.),
- de porcs inoculés avec une souche virulente d'épreuve (souche Manche = M'1.3) à la Station de pathologie porcine, pour 13 sérums,
- de truies vaccinées avant 1983 avec le virus lapinisé souche C (33 sérums prélevés dans des élevages).

- **Sérums du terrain : validation du test**

Un total de 1.264 sérums de truies collectés à l'abattoir a été testé. Ces 1.264 sérums ont été prélevés sur des truies de réforme dans le cadre d'une enquête épidémiologique. Les élevages d'origine des truies, au nombre de 495, ont été répertoriés.

**b. Recherche des anticorps neutralisants**

Cette recherche a été réalisée par le Laboratoire national de référence (L.C.R.V. d'Alfort) pour ce qui concerne l'ensemble des sérums positifs de référence et 18 des sérums négatifs. Les 47 autres sérums négatifs de référence ont été testés dans notre laboratoire par la technique N.I.F.

Les sérums du terrain ont aussi été testés dans notre laboratoire par la technique N.I.F. à la dilution initiale du 1/10. Tous les sérums trouvés positifs à cette dilution ont ensuite été titrés. Ces sérums positifs vis-à-vis du virus P.P.C. ont également été testés par la technique de séroneutralisation vis-à-vis des autres Pestivirus : le virus de la Border disease (B.D.) et le virus de la maladie des muqueuses (B.V.D.). La technique de séroneutralisation utilisée est la méthode habituelle pratiquée dans notre laboratoire pour tous les virus à effet cytopathique [Vannier, 1985]. La souche Edimbourg cultivée sur cellules primaires de rein d'agneau a permis la mise en évidence des anticorps neutralisants dirigés contre le virus B.D., alors que la souche N.A.D.L. propagée sur cellules primaires de rein de fœtus bovin a été utilisée pour la recherche des anticorps neutralisant le virus B.V.D.

**4. REALISATION DU TEST ELISA ET EXPRESSION DES RESULTATS**

Le test est pratiqué sur des microplaques, tous les réactifs étant utilisés sous un volume de 100 microlitres.

Le contrôle préalable de la spécificité de chaque lot d'antigène est effectué en comparant les D.O. obtenues avec ce lot, à celles fournies par le réactif de contrôle sans virus (antigène négatif) utilisé aux mêmes dilutions sur la même plaque en présence du sérum étalon négatif : la D.O. obtenue avec le réactif de contrôle négatif doit être voisine du bruit de fond de la plaque (D.O. < 0,1).

Un titrage de l'antigène est réalisé avec les deux sérums étalons positifs : la dilution retenue dans le test est celle qui donne l'inhibition maximale avec les deux sérums positifs.

Dans le test lui-même, le sérum de porc à tester, dilué au 1/2, est déposé dans deux cupules de la plaque sensibilisée avec l'antigène. Le lendemain, la plaque est vidée et le sérum de lapin anti peste porcine classique est déposé à la dilution appropriée. Après lavage, les immunoglobulines de lapin sont révélées par un conjugué, puis le substrat (O.P.D.) est ajouté.

Le résultat est exprimé par la moyenne des pourcentages d'inhibition des deux cupules par rapport au signal (D.O. du sérum étalon négatif).

$$I \% = 100 - \frac{(D.O. \text{ du sérum à tester } \times 100)}{D.O. \text{ du signal}}$$

## **II - RESULTATS**

### **1. DETERMINATION DU SEUIL DE POSITIVITE A PARTIR DES SERUMS DE REFERENCE**

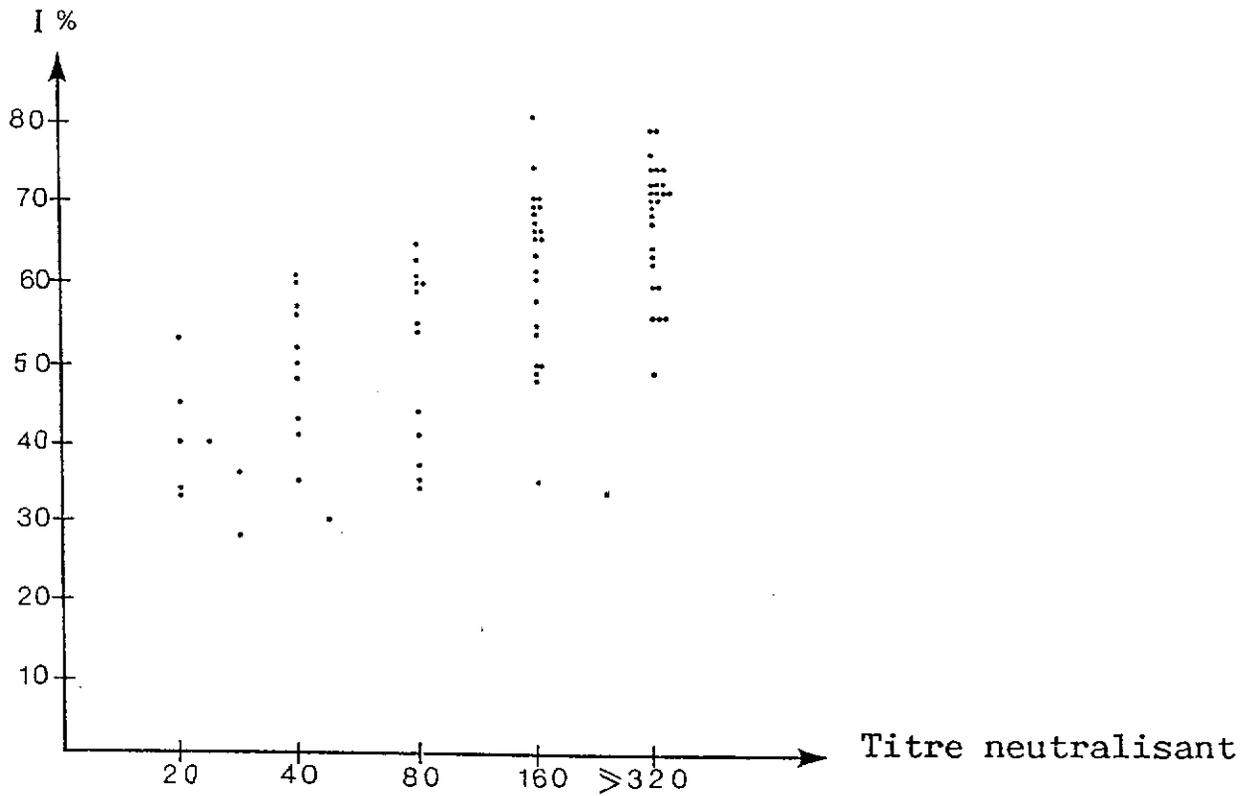
Le test a été étalonné à l'aide des 149 sérums de référence dont le titre en anticorps neutralisant était connu.

La comparaison des résultats obtenus en séroneutralisation et en ELISA montre que les 84 sérums, possédant des anticorps neutralisants de titre supérieur ou égal à 20 (dilution finale), présentent tous une inhibition supérieure à 25 (figure 2), la valeur la plus faible est 27, correspondant à un titre neutralisant de 1/30. Les 65 sérums trouvés négatifs par le test N.I.F. (titre inférieur à 20) ont tous donné en ELISA une inhibition inférieure à 20. La moyenne des I % de ces sérums est  $0,09 \pm 6,63$ , l'histogramme de leur distribution montre que les valeurs se répartissent entre -11 et +19. L'ensemble des résultats obtenus avec les 149 sérums nous a conduit à retenir le pourcentage d'inhibition de 25 comme seuil de "positivité" de la méthode ELISA dans notre laboratoire.

### **2. VALIDATION DU SEUIL : APPLICATION DU TEST A LA DETECTION DES ANTICORPS SUR LES SERUMS DE TRUIES COLLECTES A L'ABATTOIR**

L'ensemble des résultats correspondant aux 1.264 sérums est rapporté dans le tableau III. Le tableau IV donne les résultats synthétiques sous la forme d'un tableau de contingence dans lequel la technique de séroneutralisation est la technique de référence par rapport à la technique ELISA qui est la technique à tester, le seuil de positivité retenu étant le 25 p. 100 déterminé précédemment avec les sérums de référence.

**Figure 2 : Correspondance entre les résultats en ELISA et en séroneutralisation (84 sérums positifs).**



**Tableau III : Relation entre le pourcentage d'inhibition (I %) obtenu en ELISA et le titre neutralisant (T.N.) de 1.264 sérums de truies.**

TITRES NEUTRALISANTS (T.N.)	ELISA I %									
	90.100	70.80	60.70	50.60	40.50	30.40	20.25	10.20	< 10	TOTAL
< 20					1*	3	9	35	1.166	1.214
≥ 20 et < 40				2	2	2	2	1		9
≥ 40 et < 80			2	3	1	3	1		1	11
≥ 80 et < 160		1	8	4	1	5	2			21
≥ 320	1	5	2		1					9
TOTAL	1	6	12	9	6	13	14	36	1.167	1.264

\* Le nombre figurant dans chaque classe correspond au nombre de sérums s'y rapportant.

**Tableau IV** : Tableau de contingence des résultats sérologiques comparés en ELISA et séroneutralisation peste de 1.264 sérums de truies.

TITRES NEUTRALISANTS (T.N.)	ELISA (1 %)	RESULTATS NEGATIFS	RESULTATS POSITIFS	TOTAL
		< 25	> 25	
Résultats négatifs TN < 20		1.201	13	1.214
Résultats positifs TN ≥ 20		2	48	50
TOTAL		1.203	61	1.264

Les différents paramètres obtenus dans ces conditions sont les suivants (tableau V) :

- sensibilité :  $Se = 0,96$
- spécificité :  $Sp = 0,99$
- concordance :  $Co = 0,99$
- indice de Youden :  $Y = Se + Sp - 1 = 0,95$

**Tableau V** : Tableau général d'évaluation d'une technique par rapport à une technique de référence.

Technique de référence (N.I.F.)	Echantillon	Technique à évaluer (ELISA)		Totaux par ligne
		-	+	
-		A	B	G = A+B
+		C	D	H = C+D
	Totaux par colonne	E = A+C	F = B+D	Total général K = E+F = G+H

$$\text{Sensibilité} = Se = \frac{D}{H} = \frac{D}{C+D}$$

$$\text{Concordance} = Co = \frac{A+D}{K}$$

$$\text{Spécificité} = Sp = \frac{A}{G} = \frac{A}{A+B}$$

$$\text{Indice de Youden} = Y = Se + Sp - 1$$

#### a. Sensibilité

Parmi les 50 sérums positifs en séroneutralisation, deux sont trouvés négatifs en ELISA. Les tests de séroneutralisation effectués avec les souches de pestivirus hétérologues ont montré que l'un de ces sérums avait un titre neutralisant vis-à-vis du virus Border disease supérieur au titre neutralisant vis-à-vis du virus P.P.C., tandis que le second, toxique pour les cellules primaires de rein de foetus bovin et de rein d'agneau, n'a pu être testé.

## b. Spécificité

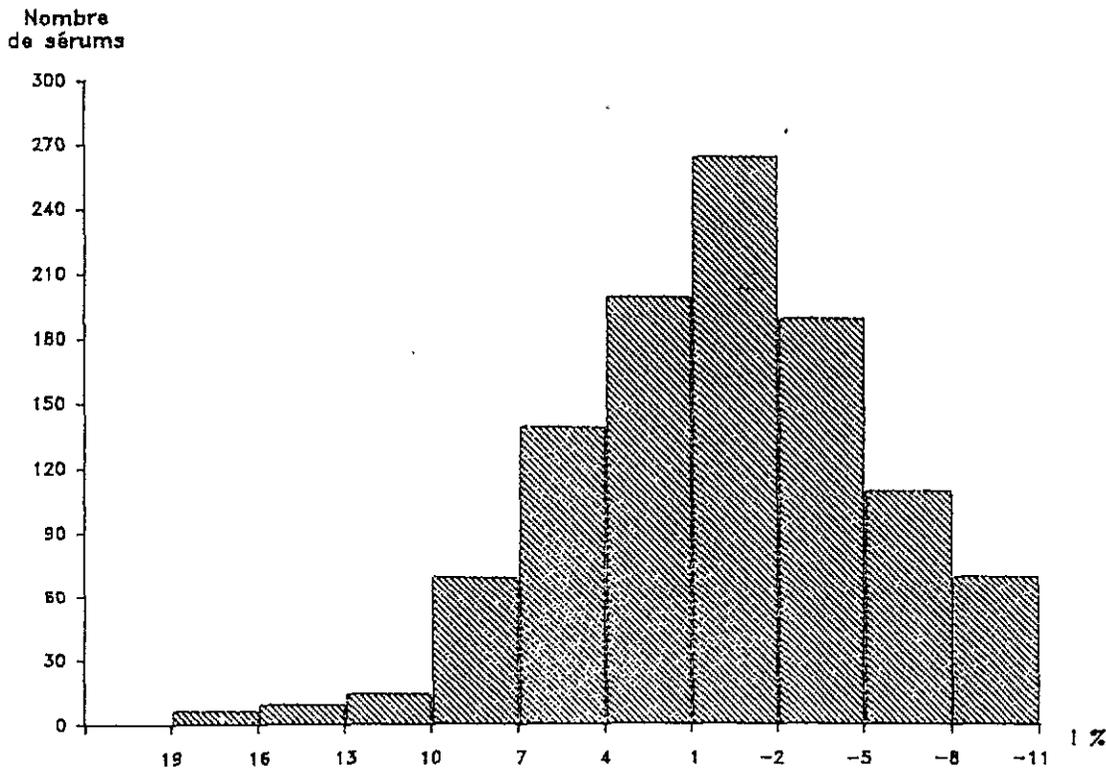
13 sérums présentent une réaction positive au test ELISA et négative au test de séroneutralisation. L'origine de ces sérums a été recherchée. Ils appartiennent à 9 élevages qui se répartissent de la manière suivante : 6 dans lesquels des anticorps neutralisant le virus P.P.C. ont été détectés sur d'autres truies de l'exploitation, 1 dans lequel des anticorps neutralisant le virus B.D. ont été détectés sur d'autres truies de l'exploitation, 2 pour lesquels un seul sérum a été collecté à l'abattoir et dont le statut sérologique des autres animaux de l'élevage est donc inconnu. Parmi ces 13 sérums, 7 présentaient des anticorps dirigés contre le virus B.D. ou B.V.D. Les 4 sérums considérés comme négatifs en séroneutralisation vis-à-vis de l'ensemble des pestivirus proviennent tous d'exploitations dans lesquelles des anticorps neutralisant les virus P.P.C. ou B.D. ont été détectés sur d'autres truies.

## c. Répartition des pourcentages d'inhibition (I %)

### - Sérums négatifs

Les 1.203 sérums considérés comme négatifs par le test ELISA présentent des pourcentages d'inhibition compris entre -11 et 19. Ils se répartissent selon une distribution d'allure normale avec une moyenne très voisine de 0. Il est à noter que le nombre de sérums présentant une inhibition comprise entre 10 et 19 est faible (36 sérums) (tableau III ; figure 3).

**Figure 3** : Résultat en ELISA des 1.203 sérums de truies considérés négatifs.



### - Sérums positifs

Les I % des 61 sérums considérés comme positifs par le test ELISA ont des valeurs se répartissant entre 25 et 90 (moyenne  $53,51 \pm 18,14$ ).

### **3. INTRODUCTION D'UN SERUM LIMITE**

Le test ELISA étalonné en prenant pour seuil 25 p. 100 d'inhibition présente une bonne répétabilité ainsi qu'une bonne reproductibilité. Cependant, il a été observé que pour un même sérum positif, le pourcentage d'inhibition pouvait varier de 5 p. 100 en plus ou en moins d'une manipulation à l'autre.

Les résultats obtenus avec les 1.264 sérums de truies montrent que très peu de sérums présentent des valeurs d'inhibition proches du seuil ; cette variabilité ne paraissait donc pas devoir influencer notablement sur les résultats du test. Cependant, dans le but de pallier cette variabilité, nous avons décidé d'introduire dans le test un sérum seuil.

Celui-ci, comme les sérums étalons, a été fabriqué en mélangeant du sérum de porc hyperimmun avec du sérum de porc EOPS (sérum étalon négatif). Le mélange a été ajusté pour que l'inhibition obtenue avec ce sérum soit la plus proche possible de 25 au cours de 10 tests successifs.

Son titre neutralisant est très voisin de 1/10 (soit 1/20 final) qui correspond à la dilution initiale des sérums dans le test de séroneutralisation N.I.F. Ce sérum constitue l'élément fixe du test ELISA puisque le seuil de positivité n'est plus calculé par rapport à un pourcentage d'inhibition qui peut varier (d'environ 5 %) d'une manipulation à l'autre mais par rapport à ce sérum seuil.

Ce sérum seuil est maintenant inclus dans chacune des plaques et il permet de vérifier la sensibilité de la réaction : suite à l'observation d'environ 200 plaques incluant ce sérum, il a été décidé que le test était valide quand le sérum seuil donnait une inhibition supérieure à 20 p. 100, ce qui correspond à la variabilité observée ( $25 \pm 5$  %). Les sérums de porcs à tester qui donnent dans le test une densité optique supérieure à celle observée avec le sérum seuil sont considérés comme négatifs et ceux qui donnent une densité optique inférieure ou égale sont positifs.

### **4. VALEURS PREDICTIVES DES TESTS SEROLOGIQUES PESTE PORCINE CLASSIQUE**

La France peut être considérée comme indemne de peste porcine classique. En effet, les rares foyers qui sont apparus au cours des quatre dernières années étaient tous en relation avec l'introduction d'animaux ou d'eaux grasses provenant d'autres pays de la Communauté [Leforban, 1989]. Ces foyers ont chaque fois été rapidement éradiqués par des mesures d'abattage strictes sans avoir recours à la vaccination. On peut donc affirmer, compte tenu de l'absence de foyer endogène et du résultat des contrôles sérologiques (tableaux I et II), que la prévalence de la peste porcine en France est nulle. En effet, les rares sérums trouvés positifs en peste porcine à l'occasion de ces contrôles correspondent, pour leur très grande majorité, à des infections par des pestivirus des ruminants qui peuvent donner une réaction sérologique croisée avec le virus de la peste porcine classique. Les réactions positives dues au virus peste porcine classique trouvées en 1986 correspondaient à des vieilles truies ayant été vaccinées avant 1983. Les cas où la sérologie positive correspond effectivement à un animal infecté par le virus se limitent à quelques individus et ceux-ci n'ont été détectés que dans les foyers déjà identifiés.

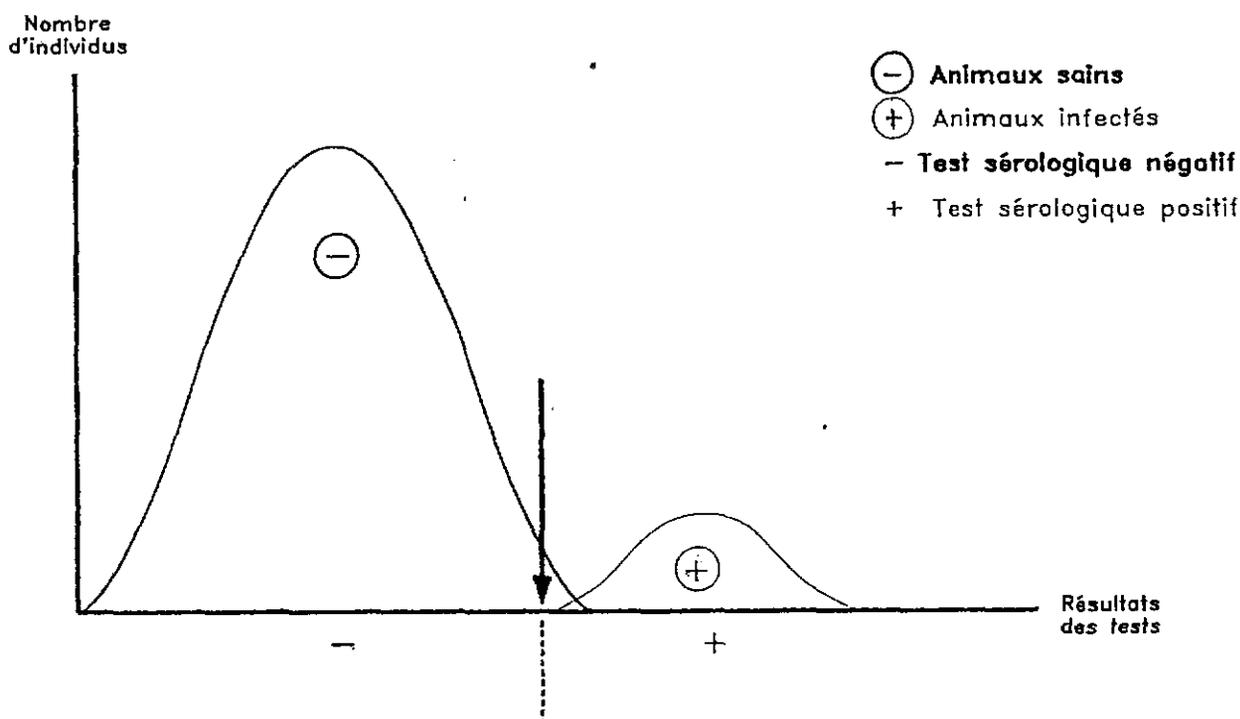
De plus, le seuil de sensibilité des tests sérologiques peste porcine classique a été délibérément fixé à un niveau élevé de manière à ce qu'un animal susceptible d'être infecté donne une réponse positive dans un délai court (de l'ordre de 14 jours) après l'infection.

Compte tenu de la prévalence de la maladie tendant vers zéro, le corollaire de cette très haute sensibilité des tests sérologiques peste porcine classique est leur relativement faible spécificité (figure 4). En fait, le prix à payer pour avoir une chance de dépister un animal infecté en début de maladie est le dépistage d'un faible nombre de faux positifs. Il est à remarquer que tous ces faux positifs correspondent à des animaux infectés par des pestivirus hétérologues.

La valeur prédictive positive des tests sérologiques peste porcine classique (probabilité pour qu'un animal donnant une réponse positive au test corresponde à un animal infecté) est donc faible et, dans la situation épidémiologique actuelle de la maladie, voisine de zéro.

La valeur prédictive négative des tests (probabilité pour qu'un animal donnant une réponse négative au test corresponde à un animal non infecté) est en revanche très élevée et proche de 100 %.

**Figure 4** : Le choix du seuil dans les tests sérologiques peste porcine classique



### III - DISCUSSION

#### COMPARAISON DE L'ELISA PAR RAPPORT A LA SERONEUTRALISATION

Le choix du seuil d'inhibition est le point clef du test ELISA par compétition. C'est en effet de ce choix que dépendent la sensibilité et la spécificité de la réaction. L'étalonnage du test réalisé avec les sérums de référence nous a conduits à fixer le seuil à 25 p. cent d'inhibition.

Le choix d'un seuil d'inhibition faible donne donc une réaction très sensible, mais cette grande sensibilité ne s'accompagne pas dans la pratique d'une diminution notable de spécificité comme on aurait pu le redouter.

La concordance entre les résultats fournis par le test ELISA et ceux obtenus avec la S.N. est acceptable, puisque 13 sérums seulement sur 1.214 présentent une réaction positive par excès (spécificité =  $1201/1214 = 0,99$ ). Le choix du seuil de 25 comme limite, paraît donc donner des résultats satisfaisants pour un dépistage portant sur un grand nombre de sérums, d'autant que tous les sérums considérés comme positifs par le test ELISA seront ensuite testés par séroneutralisation, pour confirmation.

En revanche, les deux sérums considérés comme négatifs en ELISA alors qu'ils possédaient des anticorps neutralisants pourraient faire douter de la sensibilité de la méthode ELISA : en fait, ces deux sérums proviennent vraisemblablement d'animaux infectés par des pestivirus hétérologues ; la preuve en a été apportée pour l'un d'eux alors que le deuxième provient d'un élevage dans lequel des anticorps dirigés contre le virus Border disease ont été détectés sur d'autres porcs.

L'introduction d'un sérum seuil augmente la fiabilité du test ELISA dans la mesure où sa répétabilité et sa reproductibilité sont accrues. Nous avons en effet observé que les valeurs d'inhibition des sérums positifs d'une plaque augmentent ou diminuent dans les mêmes proportions pour tous les sérums au cours d'une même manipulation. Les variations se font donc toujours dans le même sens que celle du sérum seuil.

La réduction du coût et la plus grande praticabilité de l'ELISA par rapport à la séroneutralisation devraient permettre d'augmenter le nombre des dépistages, ce qui entraînera une plus grande exactitude des résultats par rapport à la prévalence réelle de la maladie.

Le test ELISA peste porcine classique est maintenant disponible sous forme de kit. Son utilisation peut être préconisée dans les mêmes conditions que la séroneutralisation par les laboratoires pratiquant déjà la sérologie de la peste porcine classique.

Lors de foyers, ce test pourrait être utilisé pour contrôler très rapidement les élevages de la zone d'observation ainsi que tous les élevages à risque en aval et en amont des foyers.

Nous travaillons actuellement sur l'adaptation de ce test aux systèmes de prélèvement en microméthodes et avons espoir que le prélèvement réalisé actuellement pour la maladie d'Aujeszky sur papier buvard puisse d'ici peu être adapté à l'ELISA peste porcine classique.

Cependant, comme dans la sérologie de la maladie d'Aujeszky, l'ELISA et la séroneutralisation sont complémentaires ; la séroneutralisation demeure pour l'instant le test de référence en matière de peste porcine classique pour confirmer les réactions positives en ELISA.

### **EVOLUTION DES VALEURS PREDICTIVES**

Si l'on rapporte les résultats des tests sérologiques à la situation réelle prévalant sur le terrain, la valeur prédictive positive de la sérologie peste porcine classique tendra vers zéro à mesure que la campagne d'éradication progressera en Europe. Il est clair que les risques liés à l'introduction de la peste porcine classique en France se situent désormais au niveau européen. L'éradication de la maladie en Europe garantira la France contre sa réintroduction accidentelle comme cela s'est produit au cours des dernières années. Il est possible d'affirmer aujourd'hui que la peste porcine classique est éradiquée en France, mais les échanges intracommunautaires et les importations de porcs à partir de pays tiers constituent un risque majeur de réintroduction de virus en France.

Le paradoxe est donc de poursuivre un dépistage sérologique sur une maladie éradiquée mais dont les risques de réintroduction sont élevés. Comme nous l'avons vu, ce dépistage fait appel à des tests sérologiques très sensibles mais de valeur prédictive positive quasiment nulle dans le contexte d'absence de maladie endogène. Ce principe de prophylaxie peut être jugé peu satisfaisant par l'épidémiologiste. Cependant, la sérologie demeure la base de l'épidémiosurveillance de la peste porcine classique dans tous les pays européens et en particulier dans ceux dont le niveau sanitaire est le plus élevé comme le Danemark.

La valeur prédictive positive peut être augmentée en utilisant des tests plus spécifiques qui ne détectent que les anticorps peste porcine classique : c'est le cas des tests sérologiques utilisant les anticorps monoclonaux. Un tel test a été développé et est utilisé en Hollande [Wensvoort et coll., 1988], mais nous n'avons pas d'information sur ses performances. Nous avons nous-mêmes fait quelques essais en remplaçant dans notre test le sérum de lapin utilisé comme anticorps révélateur du signal, par un monoclonal spécifique du virus de la peste porcine classique.

Pour l'instant, nos résultats ne permettent pas de préconiser son utilisation en routine car il est moins sensible que le test actuel et sa spécificité n'est pas non plus de 100 p. 100 avec les sérums contenant des anticorps pestivirus.

La crainte est que dans ces tests l'augmentation de spécificité s'accompagne d'une réduction de la sensibilité. Or, l'intérêt des tests décrits (séroneutralisation et test ELISA par compétition) est de détecter très précocement les animaux séropositifs de manière à éradiquer très rapidement les foyers avant que la maladie diffuse.

Pour le moment, nous préférons donc supporter l'inconvénient du dépistage de quelques animaux faussement positifs (essentiellement porcs infectés par des pestivirus hétérologues) que de risquer de ne pas détecter un animal réellement infecté par le virus.

Tous les sérums trouvés positifs en peste porcine classique font l'objet aujourd'hui d'une recherche d'anticorps vis-à-vis des pestivirus hétérologues et donc d'un diagnostic sérologique différentiel Peste - autres Pestivirus. Leur faible nombre (21 en 1989 ; 38 en 1988) fait que cette recherche supplémentaire n'est pas très contraignante et qu'en tout état de cause, ce choix nous paraît beaucoup plus sécurisant pour la surveillance de la peste porcine classique en France, que l'utilisation d'un autre test plus spécifique mais moins sensible.

### CONCLUSION

Les qualités d'un test sérologique ne doivent pas être évaluées dans l'absolu mais en prenant en compte la prévalence et le caractère particulier de la maladie que le test est chargé de dépister.

En fin de prophylaxie, la prévalence de la maladie est nulle et l'on passe de la phase d'éradication à celle d'épidémiosurveillance. Quelles sont les qualités d'un test appliqué à un tel programme de surveillance d'un cheptel réputé sain ?

Pour la peste porcine classique, nous avons privilégié la sensibilité au détriment de la spécificité. L'ELISA ayant une sensibilité équivalente à la séroneutralisation, nous pensons que ce test est particulièrement adapté à cette phase de surveillance sérologique, compte tenu de sa facilité d'exécution et de son coût réduit.

## BIBLIOGRAPHIE

- COSTES C., PICARD M. et CARNERO R.- Peste porcine classique : recherche des anticorps sériques neutralisants au Laboratoire central de recherches vétérinaires. Bull. Lab. Vét., 1982, **6**, 43-52.
- HAVE P.- Detection of antibodies against swine fever virus by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Acta. Vet. Scand., 1984, **25**, 462-465.
- HAVE P.- Use of enzyme-linked immunosorbent assay in diagnosis of viral diseases in domestic livestock. Arch. Exper. Vet. Med., 1987, **41** (5), 645-649.
- LEFORBAN Y.- Le point sur la peste porcine et les Pestivirus. Le Point Vétérinaire, 1989 (sous presse).
- LEFORBAN Y., HAVE P., JESTIN A. et VANNIER P.- Utilisation d'un test ELISA pour la mise en évidence des anticorps peste porcine classique dans les sérums de porcs. Rec. Méd. Vét., 1987, **163** (6-7), 667-677.
- VANNIER P.- Experimental infection of fattening pigs with pseudorabies (Aujeszky's disease) virus : Efficacy of attenuated live and inactivated-virus vaccines in pigs with or without passive immunity. Am. J. Vet. Res., 1985, **46**, 1498-1502.
- TERPSTRA C. and WENSVOORT G.- Natural infections of pigs with bovine viral diarrhoea virus associated with signs resembling swine fever. Research in Veterinary Science, 1988, **45**, 137-142.
- WENSVOORT G., BLOEMRAAD M. and TERPSTRA C.- An enzyme Immuno assay employing monoclonal antibodies and detecting specifically antibodies to Classical Swine Fever Virus. Vet. Microbiol., 1988, **17**, 129-140.
-