

ÉVALUATION DES TESTS SEROLOGIQUES UTILISÉS DANS LE CADRE DE LA SURVEILLANCE DE LA FIEVRE CATARRHALE DU MOUTON EN FRANCE*

**Fabienne Bîteau-Coroller¹, Pascal Hendrikx²,
Colette Grillet¹, Emmanuel Albina¹
et François Roger¹**

RESUME : Depuis 1998, la bluetongue est apparue comme une maladie émergente dans les pays européens du bassin méditerranéen. Suite aux épizooties qui ont touché la Corse en 2000 et 2001, des études transversales ainsi qu'un programme de surveillance ont été mis en place en Corse et sur le littoral méditerranéen français, zone indemne mais considérée à haut risque. Les deux tests ELISA de compétition qui se situent au cœur de ce dispositif ont été évalués afin de déterminer leurs performances intrinsèques. Des analyses ROC ont été conduites à partir des données collectées durant les épizooties de 2000 et 2001, la RT-PCR ayant été retenue pour déterminer le statut de l'animal vis-à-vis de l'infection.

Les aires sous la courbe ROC obtenues étaient respectivement de 0,84 (IC à 95% : 0,73 – 0,95) et 0,78 (IC à 95% : 0,68 – 0,89). Afin d'optimiser les valeurs de sensibilité et spécificité des tests, les seuils ont été redéfinis et les prévalences calculées ont été réévaluées.

L'évaluation de ces tests est discutée en particulier par rapport à l'utilisation de la PCR comme test de référence. Des données supplémentaires sont nécessaires afin de préciser le comportement de ces tests lorsqu'ils sont utilisés pour la surveillance dans les zones infectées ou comme outil de vigilance dans les zones indemnes.

SUMMARY : Since 1998, bluetongue could be regarded as an emerging disease in the Mediterranean basin, especially in the northern latitudes. Following the outbreaks occurring in the island of Corsica (France) in 2000 and 2001, cross-sectional studies and surveillances have been set up in Corsica and in the southern part of mainland France - disease-free area but considered at high risk. In that framework, two competitive ELISA (cELISA) tests for antibodies detection were considered for assessing their performances. The data collected during the 2000 and 2001 control campaigns were examined. ROC analyses were carried out using PCR results as gold standard for determining the infection status of animals.

The areas under the ROC curves were respectively for the two cELISA tests 0.84 (95% CI: 0.73 – 0.95) and 0.78 (95% CI: 0.68 - 0.89). In order to optimise the sensitivity and specificity of the tests, cut-offs values were computed and, as a result, prevalences in infected areas were corrected.

The use and validity of PCR results as gold standard are discussed. Complementary data are needed to better estimate sensitivity and specificity values, particularly for their use as diagnostic tool in endemically infected areas and as vigilance tool in free areas.



* Communication affichée lors des Journées AEEMA-AESA, 22-23 mai 2003

¹ Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, Département élevage et médecine vétérinaire, TA/30E, Campus International de Baillarguet, F-34398 Montpellier cedex, France

² D.D.S.V. du Gard, Mas de l'Agriculture - 1120 route de St Gilles - BP 78215 – F-30942 Nîmes cedex 9, France

Depuis 1998, la fièvre catarrhale du mouton (FCM³ ou bluetongue) s'est progressive-ment propagée dans différents pays européens du pourtour méditerranéen tels la Grèce, la Bulgarie, l'Italie (Sardaigne, Sicile, Calabre) et l'Espagne (îles Baléares). En France, les premiers foyers cliniques ont été déclarés en Corse en octobre 2000. La présence du sérotype 2 [Zientara *et al.*, 2002] du virus de la bluetongue a été de nouveau confirmée en 2001 avec un total de 335 foyers cliniques recensés. La bluetongue est une maladie de la liste A de l'OIE, ce qui justifie la mise en place d'un ensemble de mesures de police sanitaire visant à circonscrire et à stopper la diffusion du virus. Afin de recouvrer un statut indemne de fièvre catarrhale du mouton, un programme d'éradication de la maladie et de l'infection (« programme national d'éradication » soumis annuellement à la Commission Européenne) a été proposé et appliqué dès 2002 par les services vétérinaires français. Ce programme est fondé sur un système de surveillance sérologique et entomologique qui doit permettre, en l'absence de foyer clinique, de démontrer la disparition de toute circulation virale. Le dernier foyer recensé de fièvre catarrhale du mouton en Corse a été confirmé le 8 novembre 2001. Cependant, en 2003, la Corse est toujours déclarée infectée par la FCM puisque la circulation virale de la maladie, en l'absence de foyers cliniques, a été démontrée pour l'année 2002. Or, au vu de la réglementation internationale (Code zoosanitaire international), un pays (ou une zone) est déclaré infecté par le virus si « la présence du virus a été signalée au cours des deux dernières années ». En revanche, la France continentale reste une zone indemne de la maladie car elle n'est pas adjacente à une zone infectée (le bassin méditerranéen

français est situé à plus de 150 km de la Corse).

Les tests de diagnostic sérologique (tests ELISA de compétition) sont au cœur du dispositif de veille et de suivi de la circulation du virus. La connaissance des performances de ces tests apparaît importante à déterminer afin d'apprécier plus justement la valeur des résultats sérologiques en fonction de la situation épidémiologique de la maladie sur le terrain (zone infectée en Corse et zone indemne en France continentale).

Dans le processus de validation des tests de diagnostic, l'OIE, dans son manuel des standards des tests de diagnostic et de vaccins [Office international des épizooties, 2002], recommande de confirmer le seuil retenu et les performances intrinsèques d'un test sur une population animale présentant des particularités différentes.

L'objet de l'étude était ainsi de déterminer les performances intrinsèques (sensibilité et spécificité) de deux tests ELISA de compétition (cELISA I en 2000 et cELISA II en 2001) à partir de données sérologiques et virologiques collectées lors des deux épizooties de fièvre catarrhale du mouton de 2000 et 2001. Ces tests, commercialisés par deux laboratoires différents, avaient alors été utilisés pour le diagnostic de la FCM en Corse.

Les données sérologiques disponibles proviennent de prélèvements effectués lors d'une suspicion clinique de la maladie, c'est-à-dire au début de l'infection. On évalue donc le test dans des conditions particulières de sérodiagnostic. De plus, le seul test de référence pour lequel des résultats étaient disponibles est la RT-PCR. Elle permet de détecter la présence d'ARN viral dans le sang ou les organes (cœur, rate,...) des animaux suspects, signe d'une infection virale.

³ La dénomination de « fièvre catarrhale du mouton » (FCM) est le nom français officiel de cette maladie, nom qui figure dans la liste A du code zoosanitaire international en langue française. Le terme privilégié pour cette maladie au niveau international est « bluetongue », nom anglais qui fait référence à la cyanose de la langue qui est parfois observée dans le tableau clinique des ovins.

Le terme de fièvre catarrhale ovine (FCO) a également fait son apparition sous l'impulsion des gestionnaires de l'épizootie afin d'éviter une confusion avec la fièvre catarrhale maligne auprès des éleveurs. Cependant, ce terme créé *ad hoc*, s'il peut être rencontré dans les rapports émanant de la Direction générale de l'alimentation, n'a pas de fondement scientifique.

La période de prélèvement des échantillons analysés et le choix d'un test virologique pour évaluer un test sérologique auront un impact important pour l'interprétation des résultats qui sera de ce fait limitée à ce contexte. Cette

étude est ainsi une première approche qu'il sera nécessaire de compléter avec d'autres données pour apprécier ce test cELISA comme outil de vigilance de la fièvre catarrhale du mouton.

I - MATERIELS ET METHODES

L'analyse ROC (Receiver-Operating Characteristic), depuis son introduction à la fin des années 60 dans le domaine des sciences médicales, fait partie des outils standards permettant d'évaluer un test de diagnostic clinique [Greiner *et al.*, 2000]. Cette technique est une de celles recommandées par le manuel des normes pour les tests de diagnostic et les vaccins de l'OIE [OIE, 2002] pour la détermination de la valeur-seuil d'un test de diagnostic. Pour appliquer cette méthode, il est indispensable que le statut de l'animal vis-à-vis de la maladie ou de l'infection soit connu. Un test de référence avec des qualités intrinsèques proches du « gold standard ⁴ » est nécessaire. De plus, le test doit rendre un résultat de type quantitatif et non binaire.

Pour chaque valeur-seuil (cut-off) possible d'un test quantitatif correspond un tableau de contingence classant, en fonction du statut de référence, les animaux en 4 catégories : vrais-positifs (VP), faux-positifs (FP), vrais-négatifs (VN) et faux-négatifs (FN). L'estimation des paramètres de sensibilité et de spécificité d'un test quantitatif dépendra ainsi du « cut-off » retenu. L'utilisation de l'analyse ROC permet de représenter graphiquement, sur une unité de surface, les différents couples de sensibilité et de spécificité calculés pour chaque valeur-seuil possible, c'est-à-dire la performance intrinsèque du test associée à chaque cut-off. Le graphique obtenu a pour abscisse (1-spécificité) c'est-à-dire la fraction de faux-positifs et en ordonnée la sensibilité (Se) c'est-à-dire la fraction de vrais-positifs. En considérant que les « coûts » d'un faux-positif et d'un faux-négatif sont égaux, la valeur seuil donnant le meilleur couple de sensibilité et de

spécificité est le point de la courbe ROC le plus en haut à gauche.

En l'absence de test de référence parfait, la RT-PCR a été utilisée comme test de référence pour définir le statut de l'animal vis-à-vis de l'infection. Cette technique permet de détecter l'ARN du virus de la FCM pendant au moins 30 jours après le dernier isolement viral [MacLachlan *et al.*, 1994] et jusqu'à 90 jours. Ce test est recommandé par l'OIE dans le cadre de la maîtrise des risques sanitaires liés aux échanges internationaux.

Les animaux non vaccinés fournissant un résultat positif en RT-PCR constituent notre population d'animaux infectés. A l'inverse, les animaux non vaccinés virologiquement négatifs forment le groupe des animaux non infectés.

Les données utilisées dans le cadre de cette étude proviennent des enquêtes épidémiologiques menées en Corse lors des deux épizooties de 2000 et 2001. Il s'agit ainsi dans la majorité des cas d'animaux cliniquement suspects. On étudie donc le test dans le cadre du sérodiagnostic d'une infection récente.

Pour l'évaluation du test cELISA I (2000), l'échantillon n_1 est composé de 64 sérums provenant d'animaux non vaccinés et cliniquement suspects (figure 1). Globalement, l'échantillon n_1 se distribue différemment de l'ensemble des sérums analysés en 2000. La moyenne observée du pourcentage d'inhibition est en effet de 69,9% avec un intervalle de confiance compris entre 63,9% et 75,9% alors que sur l'ensemble des 8825 sérums analysés la moyenne est de 42,3% +/- 0,5%.

⁴ Le « gold standard » que l'on peut traduire en français par « test de référence parfait » est un test dont les paramètres de sensibilité et de spécificité sont de 100%. Il ne génère aucun faux-positif et aucun faux-négatif. En pratique, il existe très peu de vrai « gold standard ». Le test de référence est souvent le test qui s'en rapproche le plus.

Deux populations semblent se dessiner, une première dont les valeurs de pourcentage d'inhibition sont centrées autour de 50% d'inhibition et une seconde pour laquelle les animaux fournissent des résultats supérieurs à 80% d'inhibition.

Pour l'évaluation du test cELISA II (2001), 338 sérums pour lesquels on dispose à la fois de résultats sérologiques et virologiques étaient disponibles. Toutefois, compte tenu de la

campagne de vaccination menée en 2001, seuls les sérums provenant d'ovins non vaccinés et cliniquement suspects ($n = 76$; figure 2) ont été retenus. En retirant de l'étude les échantillons prélevés dans le cadre d'un suivi d'élevage (après la phase clinique de la maladie) ou pour lesquels les informations disponibles étaient incomplètes, on se situe dans le cadre de l'évaluation d'un test utilisé pour le sérodiagnostic (infection récente).

Figure 1

Diagramme cumulé des valeurs de pourcentage d'inhibition obtenues avec le test ELISA I pour les sérums négatifs ($n = 31$) et positifs ($n = 33$) en RT-PCR

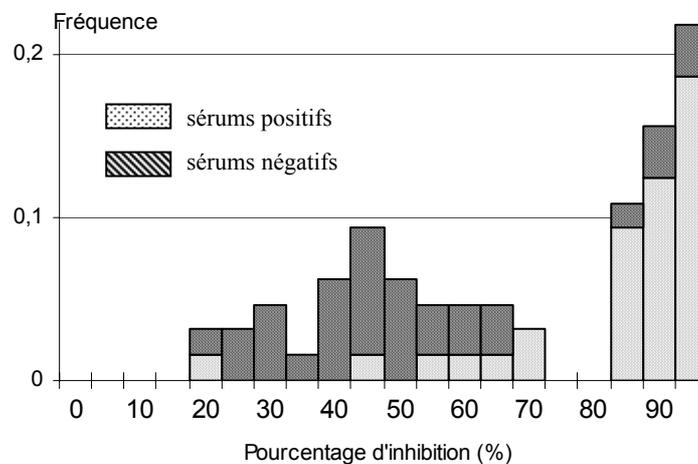
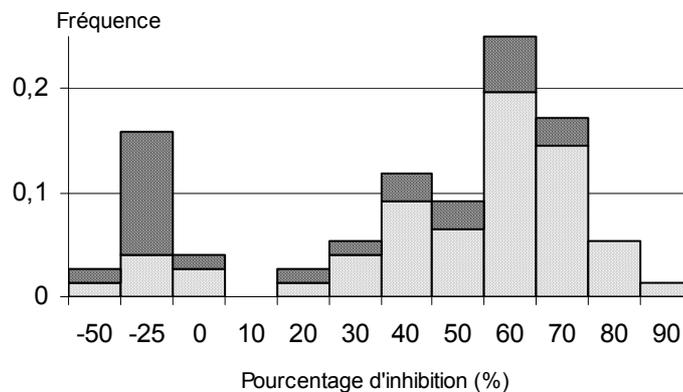


Figure 2

Diagramme cumulé des valeurs de pourcentage d'inhibition obtenues avec le test ELISA II pour les sérums négatifs ($n = 23$) et positifs ($n=53$) en RT-PCR chez les ovins non vaccinés dont le motif de prélèvement était une suspicion clinique

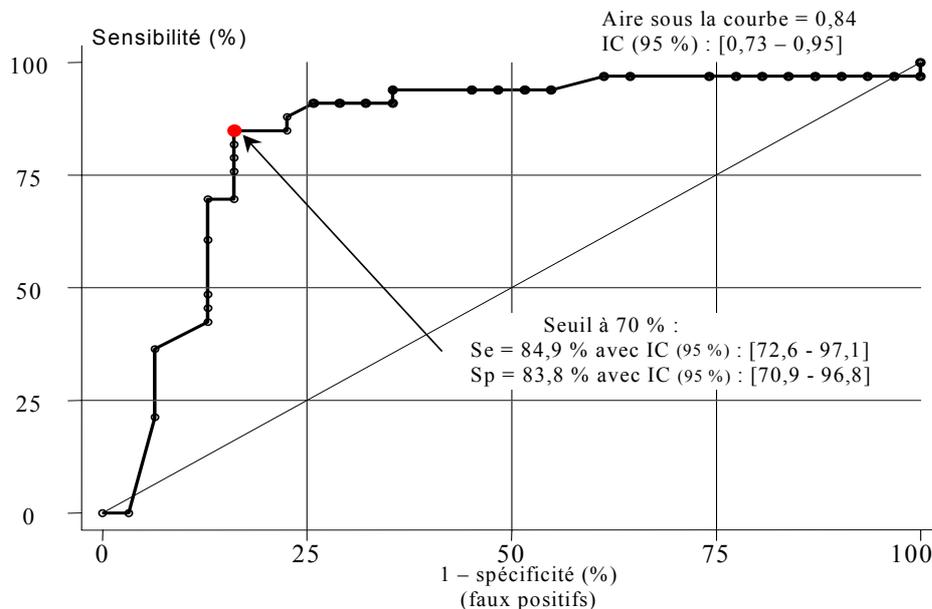


II - RESULTATS

L'aire sous la courbe ROC obtenue pour le test cELISA I utilisé en 2000 (figure 3) est de 0,84 (IC à 95% : 0,73 – 0,95). Les meilleures valeurs de sensibilité et de spécificité sont atteintes pour une valeur-seuil définie à 70% au lieu du seuil de 50% défini par le fabricant. La spécificité est de 83,8% (IC à 95% : [70,9 – 96,8%]) et la sensibilité est de 84,9% ((IC à 95% : [72,6 – 97,1%]). Une correction sur la valeur-seuil conduit à revoir à la baisse la prévalence apparente de la fièvre catarrhale du mouton chez les ovins en 2000 au début de

l'infection (figures 4 et 5). Dans les communes pour lesquelles on dispose de données sérologiques suffisantes pour calculer une prévalence, celle-ci atteint, dans la majorité des cas, un pourcentage inférieur à 10%. La commune de Sartène fait exception avec une prévalence observée de 21% (+/- 8%). Quatre communes (Borgho, Luri, Moca croce, Zevaco) voient leur prévalence observée ramenée à zéro (prévalence établie à partir de l'effectif total ou d'un échantillon suffisant pour détecter une prévalence de 2% au risque de 5%).

Figure 3
Courbe ROC obtenue avec le test cELISA I ($n_1 = 64$)



Concernant le test cELISA II utilisé depuis 2001 au CIRAD-EMVT, l'approche la plus pertinente au vu de l'échantillon « tout-venant » disponible, soit 338 sérums, correspond aux sérums provenant d'ovins non vaccinés dont le motif de prélèvement était la suspicion clinique (figure 6). Les meilleures

valeurs de sensibilité et de spécificité sont atteintes pour une valeur-seuil définie à 53%. La spécificité est de 70,8% (IC à 95% : [52,7 – 89,0%]) et la sensibilité est de 67,9% (IC à 95% : [55,4 – 80,5%]). L'aire sous la courbe est de 0,76 (IC à 95% : [0,64- 0,88]).

Figure 4

Prévalence apparente chez les ovins en 2000 avec un seuil défini à 50% pour le test cELISA I

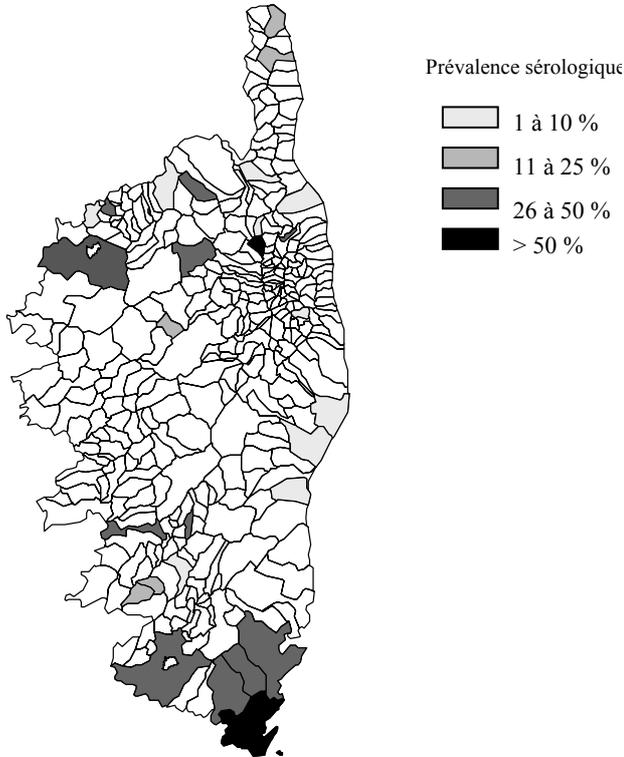


Figure 5

Prévalence apparente chez les ovins en 2000 avec un seuil défini à 70% pour le test cELISA I

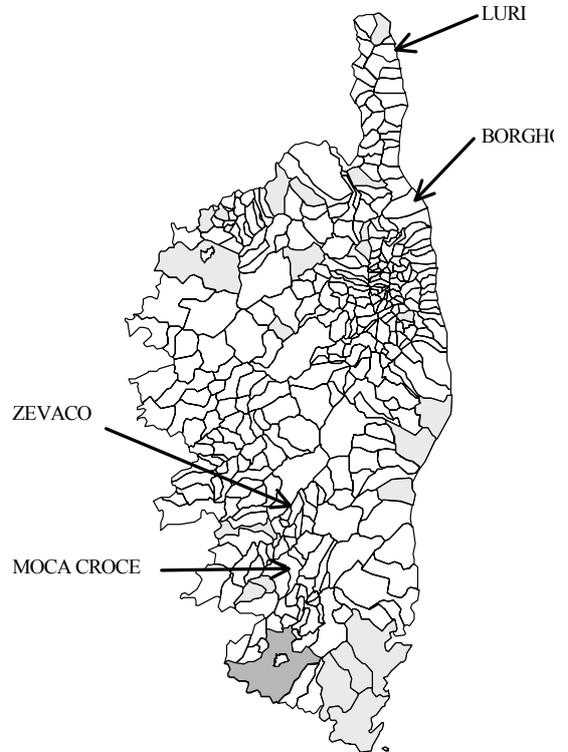
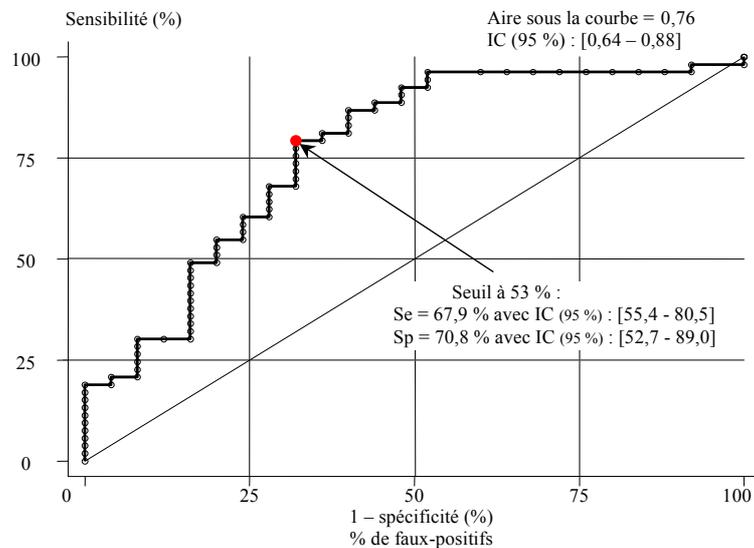


figure 6

Courbe ROC obtenue pour le test cELISA II en ne retenant que les sérums provenant d'ovins non vaccinés dont le motif de prélèvement était une suspicion clinique de fièvre catarrhale du mouton (n = 76)



III - DISCUSSION

Le test cELISA est évalué dans des conditions particulières qu'il convient de rappeler. Les données à la base de cette étude ont été collectées en période d'épizootie de fièvre catarrhale du mouton en Corse. Le test sérologique était utilisé à des fins de diagnostic rapide. L'objectif était de détecter les foyers de FCM chez les ovins. Les prises de sang ont de ce fait été réalisées dès les premiers signes cliniques évocateurs de la maladie. Cet élément sera d'autant plus important à prendre en compte dans la discussion des résultats que le test de référence choisi est un test virologique qui par nature détecte le virus.

La RT-PCR est réputée pour ses très bonnes valeurs de sensibilité et de spécificité ce qui, de ce point de vue, en fait un très bon test de référence et permet de le proposer comme « gold standard ». Ce test n'est cependant pas un « test parfait ». Au delà de cette réalité, la principale limite du choix de ce test provient du fait que les deux tests ne détectent pas la même entité biologique. La RT-PCR met en évidence l'éventuelle infection par l'orbivirus en amplifiant un brin d'ARN spécifique du virus alors que l'ELISA de compétition révèle l'éventuelle présence d'anticorps témoignant d'un contact récent ou ancien avec le virus. Or, la phase de virémie étant antérieure d'une dizaine de jours à l'apparition des anticorps, il existe alors une période pendant laquelle un animal déclaré infecté au vu du résultat virologique pourra fournir un résultat sérologique négatif. Ce résultat en apparence faussement négatif n'est cependant pas attribuable à un défaut de sensibilité du test. Dans notre étude, ce cas de figure est d'autant plus probable que les prélèvements de sang proviennent d'animaux en début de phase clinique (suspicion clinique). Les animaux ayant pu rencontrer le virus antérieurement (infection inapparente) ont en effet été éliminés de l'échantillon. On s'affranchit ainsi du risque de faux-positifs par rapport au test virologique de référence.

Sur une population ovine infectée, lorsque le test cELISA est utilisé à des fins de diagnostic précoce de l'infection, le test II obtient ses meilleures valeurs de sensibilité et de spécificité au seuil de 53%. Pour ce kit, le fabricant a validé la valeur de 50% d'inhibition pour séparer la population de malades des non malades. Le laboratoire national de référence français en matière de FCM a de plus délimité une zone douteuse comprise entre 45 et 55% par une approche fondée sur les

recommandations du guide 1 de l'OIE. Le résultat obtenu valide ainsi la valeur-seuil utilisée. *A posteriori*, des données provenant de populations ovines indemnes de la France continentale confirment également la pertinence de cette valeur-seuil en utilisant la méthode gaussienne [Greiner *et al.*, 2000]. En effet, la moyenne du pourcentage d'inhibition obtenue sur cette population indemne est de 18% avec un écart type de 12%. En fixant le seuil à la valeur correspondant à la moyenne plus trois écarts types, soit à 54%, et compte tenu du fait que la distribution suit une loi normale, on atteint une spécificité de 99,8%. Ce résultat confirme d'emblée que la valeur de spécificité réelle du test cELISA II est certainement sous-estimée par notre étude.

Deux facteurs majeurs peuvent expliquer ce constat. Tout d'abord, au vu de la chronologie des phénomènes virémique, clinique et sérologique que subit un animal nouvellement infecté, l'apparition des anticorps est tardive par rapport au début des symptômes. En effet, l'incubation de la maladie variant de 2 à 18 jours avec une moyenne de 6 à 7 jours [Lefèvre, 2003], la phase symptomatique qui justifie une déclaration officielle auprès des autorités vétérinaires est antérieure à la phase d'apparition des anticorps qui atteint son maximum vers 4 semaines post-infection. En règle générale, les tests sérologiques utilisés en vue du diagnostic d'une maladie comprennent deux analyses à 10-15 jours d'intervalle afin de mettre en évidence une éventuelle séroconversion. Le manuel de l'OIE recommande par exemple deux analyses à 7 jours d'intervalle minimum. Dans notre cas, on estime que le prélèvement a eu lieu très tôt dans la cinétique des anticorps même s'il n'est pas possible de dater précisément à quel moment il se situe. Un défaut de sensibilité était ainsi attendu sans que les qualités intrinsèques du test soient en cause.

De plus, pour le test cELISA II, un défaut de spécificité peut être lié à la présence dans notre échantillon de jeunes agnelles non vaccinées et donc incluses dans l'échantillon mais qui peuvent avoir conservé des anticorps maternels. Au seuil de 53%, sur les 7 animaux classés en tant que faux-positifs, 5 sont des agnelles provenant de troupeaux vaccinés (âge précis non connu). Dans un autre cas, on ne dispose pas d'information sur l'âge de l'animal. Même si peu de données existent sur la durée de persistance des anticorps maternels chez les ovins, une étude de Hong

Li *et al.* [1995] a mis en évidence des anticorps maternels par ELISA de compétition chez des agnelles de 10 semaines +/- 3 semaines. L'équipe d'Abu Elzein [1998] quant à elle a détecté des anticorps maternels sur des agnelles, qui disparaissaient en 4 à 6 mois. De plus, il est possible d'avoir en 2001, des animaux qui ont rencontré le virus en 2000 de manière asymptomatique. Leur part est toutefois limitée dans notre échantillon constitué essentiellement d'agnelles (après avoir retiré les ovins adultes ayant été vacciné et ceux ayant un statut vaccinal inconnu).

Les résultats concernant le test cELISA I utilisés lors de l'épizootie de 2000 incitent quant à eux à s'interroger sur la prévalence observée en 2000. Ce test avait été abandonné en 2001 au profit du test cELISA II du fait notamment de problèmes récurrents avec le témoin positif qui révélait très souvent des valeurs de pourcentages d'inhibition très au-delà des critères de validité du test (- 25% et + 25%). Ce premier élément avait conduit, dans un premier temps, à reconstruire 406 sérums d'ovins prélevés en 2000 avec le test cELISA II. Les résultats des deux tests se sont révélés très discordants. Par exemple, parmi les 289 résultats positifs avec le test cELISA I, seuls 3 se sont révélés positifs avec le test cELISA II [Biteau-Coroller, 2003]. La réévaluation du seuil à la hausse (70% au lieu de 50%) vient donc conforter ces premières constatations. Toutefois, compte tenu du choix de la RT-PCR comme test de référence, le re-calcul de la prévalence à partir d'une valeur-seuil à 70% a tendance à sous-évaluer la prévalence. Lorsqu'on étudie de plus les 31 animaux négatifs en RT-PCR, on constate que 17 d'entre eux obtiennent un pourcentage d'inhibition supérieur à 50% (faux-positifs). Plusieurs hypothèses peuvent être émises : la virémie est antérieure et le virus n'est plus décelable dans les prélèvements. En présence de symptômes, ce cas est peu probable. De plus, l'ARN viral peut être décelé pendant une longue période après la phase virémique [Katz *et al.*, 1993; Katz *et al.*, 1994]. Une autre hypothèse est que les prélèvements étaient de qualité insuffisante. Ces cas de figure ne peuvent cependant pas expliquer à eux seuls que la moitié des animaux à réponse négative en RT-PCR fournissent une réponse positive en cELISA avant ajustement du seuil. Ainsi, même si les nouvelles valeurs de prévalence calculées ne sont pas non plus entièrement satisfaisantes, il n'en reste pas moins qu'il est nécessaire de réestimer la prévalence à la baisse au vu des prélèvements dont elle est issue.

Bien que le calcul d'une prévalence réelle reste un résultat attendu de ce type d'étude, elle n'aurait pas de sens ici. Les valeurs de sensibilité et de spécificité nécessitent en effet d'être réévaluées avec de nouvelles données.

L'analyse ROC apparaît comme une démarche très pertinente, mais nécessiterait d'être appliquée sur des données plus fiables et mieux standardisées. Le fait de travailler à partir de sérums « tout-venants », sélectionnés sur des critères de disponibilité des informations induit un certain nombre de biais difficiles à évaluer. Notre démarche gagnera ainsi à être poursuivie sur des données expérimentales où le statut des animaux vis-à-vis de l'infection est connu et même daté. En pratique, le test sert également à des enquêtes de séroprévalence. C'est pourquoi il convient de disposer de données collectées dans les conditions se rapprochant de celles de ces enquêtes transversales. Les valeurs de sensibilité et de spécificité pourront alors être extrapolées au terrain, mais également avec des précautions. Le choix de la valeur-seuil devra de plus se faire à la lumière de la situation épidémiologique de l'infection dans la zone étudiée.

L'utilisation de la séroneutralisation comme test de référence peut également être envisagée. En effet, compte tenu des campagnes de vaccination successives mises en place depuis 2001 en Corse, la séroprévalence y est très forte. Elle est évaluée à plus de 90% dans la population ovine. Le statut de l'animal à tester n'est donc plus infecté *versus* non infecté mais protégé *versus* non protégé. Dans ce cas, seul le choix d'un test de référence sérologique est possible. En supposant le test de séroneutralisation comme un test parfait, on pourra ainsi définir les valeurs de sensibilité et de spécificité du test cELISA II dans le cadre d'enquêtes de séroprévalence. On recherchera alors un test avec une très bonne sensibilité afin d'avoir une valeur prédictive négative excellente.

Le statut de l'animal peut également être défini en combinant plusieurs tests en série ou en parallèle.



Les évaluations de tests par des approches statistiques mais également de modélisation sont nécessaires à l'épidémiologie. Elles doivent notamment servir à renforcer la

surveillance épidémiologique. La connaissance des prévalences réelles permet de définir des méthodes de contrôle adaptées et de développer des réseaux d'alerte plus rapide, ce qui va dans le sens d'une gestion plus efficace des maladies. Elle reste par ailleurs essentielle pour juger de l'immunité naturelle et vaccinale dans le cadre de l'évaluation de la circulation virale. Une couverture immunitaire de 70-80% est *a priori* nécessaire pour limiter significativement la circulation virale au sein d'une population (postulat de Charles Nicolle). La connaissance des valeurs de sensibilité et de spécificité sert également utilement à la définition des tailles d'échantillon nécessaires pour mener des enquêtes de terrain

L'approche ROC est très intéressante, mais son interprétation peut se trouver limitée par les données disponibles. La qualité et la représentativité des données restent un problème majeur en épidémiologie du fait des contraintes rencontrées sur le terrain et des biais, en particulier de sélection, difficilement contrôlables. Au delà de ce problème qui nécessitera d'être mieux maîtrisé dans des investigations ultérieures, la juste définition d'un « gold standard » revêt une place primordiale dans ce type d'étude. En effet, elle

repose sur une bonne classification des malades et non malades. Si l'outil de référence entraîne des erreurs de classification non évaluées ou mal évaluées, les conclusions de l'étude seront inévitablement erronées. Force est de constater que les tests de référence parfaits n'existent pas. De même, il est rare de connaître les valeurs de sensibilité et de spécificité des tests de référence. Face à ce constat, d'autres méthodes statistiques ou de modélisation se sont développées afin d'essayer d'évaluer les paramètres intrinsèques d'un test dans des conditions définies sur une population donnée en l'absence de « gold standard ». C'est notamment le cas pour le logiciel TAGS développé par une équipe française [Pouillot *et al.*, 2002]. Un certain nombre de contraintes persistent cependant. Ainsi, il n'a pas été possible de conduire ce genre d'approche avec les données disponibles.

La détermination des performances du test sérologique cELISA II utilisé en France pour la surveillance de la FCM sera poursuivie en utilisant des données complémentaires et en faisant appel à d'autres techniques statistiques.

BIBLIOGRAPHIE

- Abu Elzein E.M., Aitchison H., Al-Afalet A.I., Al-Bashir A.M., Ibrahim A.O., Housawi F.M. - A study on bluetongue virus infection in Saudi Arabia using sentinel ruminants. Onderstepoort. *J. Vet. Res.*, 1998, **65**, 243-251.
- Bonneau K.R., De Maula C.D., Mullens B.A., MacLachlan N.J. - Duration of viraemia infectious to *Culicoides sonorensis* in bluetongue virus-infected cattle and sheep. *Vet. Microbiol.*, 2002, **88**, 115-125.
- Biteau-Coroller F. - Évaluation des performances du test de diagnostic cELISA utilisé pour le suivi de la fièvre catarrhale du mouton en France - Conséquences sur la prévalence réelle de la maladie et sur la stratégie d'échantillonnage. Mémoire de DEA, soutenu le 30 juin 2003, 58 pp.
- Gaydos J.K., Stallknecht D.E., Kavanaugh D., Olson R.J., Fuchs E.R. - Dynamics of maternal antibodies to hemorrhagic disease viruses (Reoviridae: Orbivirus) in white-tailed deer. *J. Wildl. Dis.*, 2002, **38**, 253-257.
- Greiner M. and Gardner I. A. - Epidemiologic issues in the validation of veterinary diagnostic tests. *Prev. Vet. Med.*, 2000, **45**(1-2): 3-22.
- Greiner M., Pfeiffer D., Smith R.D. - Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Prev. Vet. Med.*, 2000, **45**(1-2): 23-41.
- Greiner M. and Gardner I. A. - Application of diagnostic tests in veterinary epidemiologic studies. *Prev. Vet. Med.*, 2000, **45**(1-2): 43-59.
- Katz J., Alstad D., Gustafson G., Evermann J. - Diagnostic analysis of the prolonged bluetongue virus RNA presence found in the blood of naturally infected cattle and experimentally infected sheep. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1994, **6**, 139-142.
- Katz J.B., Gustafson G.A., Alstad A.D., Adler K.A., Moser K.M. - Colorimetric diagnosis

- of prolonged bluetongue viraemia in sheep, using an enzyme-linked oligonucleotide sorbent assay of amplified viral nucleic acids. *Am. J. Vet. Res.*, 1993, **54**, 2021-2026.
- Koumbati M., Mangana O., Nomikou K., Mellor P.S., Papadopoulos O. - Duration of bluetongue viraemia and serological responses in experimentally infected European breeds of sheep and goat. *Vet. Microbiol.*, 1999, **64**, 277-285.
- Li H., Shen D.T., O'Toole D., Knowles D.P., Gorham J.R., Crawford T.B. - Investigation of sheep-associated malignant catarrhal fever virus infection in ruminants by PCR and competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, 1995, **33**(8):2048-2053.
- Lefèvre P.-C. - Fièvre catarrhale du mouton. *In: Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail, Europe et régions chaudes.* Tec & Doc, M.I. (Ed.), Londres, Paris, New York, 2003, 667-686.
- MacLachlan N.J., Nunamaker R.A., Katz J.B., Sawyer M.M., Akita G.Y., Osburn B.I., Taberchnick W.J. - Detection of bluetongue virus in the blood of inoculated calves: comparison of virus isolation, PCR assay and *in vitro* feeding of *Culicoides variipennis*. *Arch. Virol.*, 1994, **136**, 1-8.
- Office International des Épizooties - Principles of validation of diagnostics assays for infectious diseases. *In: Manual of standards for diagnostics tests and vaccines*, OIE (Ed.), Paris, 2002, 8-15.
- Pouillot R., Gerbier G., Gardner I. A. - TAGS, a program for the evaluation of test accuracy in the absence of a gold standard. *Prev. Vet. Med.*, 2002, **53**, 67-81
- Zientara S., Sailleau C., Dauphin G., Roquier C., Remond E.M., Lebreton F., Hammoumi S., Dubois E., Agier C., Merle G., Bréard E. - Identification of bluetongue virus serotype 2 (Corsican strain) by reverse-transcriptase PCR reaction analysis of segment 2 of the genome. *Vet. Rec.*, 2002, **150**, 598-601.



Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier David Chavernac pour son appui technique et Eric Etter pour sa relecture. Ce travail est également le fruit d'une collaboration avec l'équipe de Stephan Zientara de l'AFSSA-Alfort.