

EVALUATION DE LA SPECIFICITE D'UN TEST ELISA DU SYNDROME DYSGENESIQUE ET RESPIRATOIRE PORCIN (IDEXX HERDCHEK* PRRS 2XR) *

Vincent Auvigne ¹, Jean-Louis Pinsard ² et Hervé Gourgues ³

RESUME

La spécificité d'un test de diagnostic Elisa du virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (IDEXX HERDCHEK* PRRS 2XR) est étudiée dans une population d'élevages de sélection-multiplication régulièrement contrôlée et négative. Deux sous-populations sont étudiées : les truies reproductrices adultes et les jeunes (cochettes entre 80 et 150 jours d'âge). Un total de 641 animaux adultes provenant de 50 prises d'échantillon et 1 017 jeunes animaux provenant de 5 prises d'échantillon sont inclus. La spécificité observée est significativement ($p < 0,02$) plus élevée chez les jeunes (99,51%, IC95 : 99,03 – 99,99) que chez les adultes (98,28 %, IC95 : 97,20 – 99,37). La moins bonne spécificité observée sur les animaux adultes n'est pas liée à une augmentation du ratio S/P moyen mais à une variabilité plus importante de ce ratio dans cette sous-population.

Mots-clés : Porc, SDRP, Elisa, spécificité.

SUMMARY

The specificity of an indirect ELISA assay designed for the detection of antibody to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (IDEXX HERDCHEK* PRRS 2XR) was studied in a population of regularly controlled and negative selection and multiplication farms. Two subpopulations were studied: adult sows and young pigs (gilts between 80 and 150 days of age). A total of 641 adult pigs, out of 50 herd samplings, and 1017 young pigs, out of 5 herd samplings were included. The observed specificity was significantly ($p < 0.02$) higher in young pigs (99.51%, CI95: 99.03 – 99.99) than in adults (98.28 %, CI95: 97.20 – 99.37). The lower specificity in adults was not linked to a higher mean S/P ratio but to a higher variability of this ratio in this subpopulation.

Keywords : Pig, PRRS, Elisa, Specificity.



* Texte de la communication affichée au cours des Journées scientifiques AEEMA-AESA, 4-5 juin 2009

¹ Ekipaj, C/ Valencia 3, 28223 Pozuelo de Alarcón, Espagne

² Bio Chêne Vert, ZI Bellevue 2, 35221 Châteaubourg Cedex, France

³ Idexx, 11 Allée Rosa Luxembourg, 95610 Eragny, sur Oise, France

I - INTRODUCTION

Le virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP) est un virus à ARN présentant d'importantes variations génétiques. Les deux sous-types principaux, appelés « américains » et « européens » présentent une homologie d'environ 60%. Ce virus présent en Europe de l'Est depuis des décennies s'est répandu sur un mode épizootique en Europe de l'Ouest au début des années 90. La Belgique fut contaminée en 1990 et la France en 1991. Le virus du SDRP s'est depuis durablement installé dans les principaux bassins de production porcine. Il est toujours un des agents pathogènes majeurs de la filière de par ses conséquences économiques ; il occasionne des troubles de la reproduction et participe au complexe respiratoire porcin. Le diagnostic de laboratoire

repose principalement sur l'utilisation de tests sérologiques Elisa et de diagnostics PCR. Dans les conditions du terrain, les tests diagnostiques sont utilisés soit en élevage infecté, pour caractériser la circulation du virus dans l'élevage ou évaluer un plan de contrôle ou d'éradication, soit en élevage présumé indemne dans un objectif de diagnostic ou de qualification.

Dans ce cadre, l'objectif de cette étude était d'évaluer la spécificité d'un test commercial de diagnostic sérologique du SDRP réalisé dans les conditions de routine. Il s'agissait en particulier de comparer la spécificité d'un même test utilisé dans deux sous-populations différentes : les truies reproductrices adultes et les jeunes.

II - MATERIELS ET METHODES

1. POPULATION D'ETUDE

L'étude a été réalisée en sélectionnant dans la base de données du laboratoire Bio Chêne Vert un ensemble de résultats d'analyses faites dans des élevages porcins français considérés indemnes du virus du SDRP et présentant un faible risque de contamination. Il s'agit d'élevages de sélection-multiplication (produisant des futurs reproducteurs) soit situés en zone de faible densité porcine, soit pourvus d'un système de filtration de l'air entrant. Ces élevages sont contrôlés au minimum trois fois par an.

Deux sous-populations d'animaux sont considérées : les animaux adultes (truies reproductrices) et les jeunes (futurs reproducteurs).

2. TEST DE DIAGNOSTIC

2.1. CARACTERISTIQUES DU TEST

Le test IDEXX HerdChek* PRRS 2XR est un test Elisa indirect pour la détection des anticorps des souches européennes et américaines du virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (SDRP) dans le sérum des porcins. Le test est réalisé dans une cupule comprenant deux antigènes recombinants du SDRP. Après réalisation du protocole d'essai, l'absorbance de la lumière

est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats sont calculés en divisant l'absorbance de l'échantillon (corrigée par soustraction de l'absorbance d'une cupule couplée de culture cellulaire indemne) par l'absorbance moyenne des contrôles positifs (également corrigée par soustraction de l'absorbance d'une cupule couplée de culture cellulaire indemne). Les résultats sont exprimés sous forme de ratio S/P (Sample/Positif). Les échantillons avec un ratio S/P supérieur ou égal à 0,4 sont considérés comme « positifs ». Ceux inférieurs à 0,4 sont « négatifs ». Il n'y a pas de résultat considéré comme douteux.

2.2. REALISATION DU TEST

Les analyses sont réalisées dans les conditions de routine au laboratoire Bio Chêne Vert en utilisant les procédures et le seuil du fabricant. Seuls les résultats de première intention, avant toute contre-analyse, sont intégrés dans l'étude.

3. ANALYSES STATISTIQUES

Les résultats sont analysés à l'aide d'EPIINFO 3.4.3. Les intervalles de confiance de la spécificité sont calculés à l'aide du logiciel EPIDAT 3.1 qui utilise l'approximation normale.

III - RESULTATS

1. POPULATION D'ETUDE

Les analyses prises en compte ont été réalisées de décembre 2007 à mars 2009. Les animaux inclus dans l'étude sont :

Six cent quarante et un animaux adultes (truies) provenant de 50 prises d'échantillon (en moyenne 12,6 animaux prélevés par contrôle).

Mille dix sept jeunes animaux (cochettes à 98%, entre 80 et 150 jours d'âge) provenant de 5 prises d'échantillon (en moyenne 204 animaux prélevés par contrôle)

2. ANALYSES

2.1. ANALYSE QUALITATIVE

Les résultats sont présentés dans le Tableau 1. La spécificité est significativement plus élevée chez les jeunes que chez les adultes (χ^2 , $p < 0,02$). Dans tous les élevages ayant présenté un résultat positif, il a été vérifié que l'élevage était bien considéré comme indemne et qu'au moins un contrôle négatif ultérieur permettait d'écarter l'hypothèse d'une contamination récente.

Tableau 1
Spécificité du test dans les deux populations

	Négatifs	Positifs	Spécificité	IC – 95%
Adultes	630	11	98,28	[97,20 – 99,37]
Jeunes	1012	5	99,51	[99,03 – 99,99]

2.2. ANALYSE QUANTITATIVE

L'analyse de la distribution des ratios S/P des adultes (Figure 1) et des jeunes porcs (Figure 2) permet de confirmer l'existence d'une différence de comportement entre les deux sous-populations. Elles diffèrent pour la moyenne (test de Mann & Whitney, $p < 0,001$) et l'écart-type (Tableau 2). Les résultats sont beaucoup plus concentrés autour de la valeur

centrale chez les jeunes. Le pourcentage de résultats négatifs à la limite du seuil (S/P entre 0,2 et 0,4) est plus important chez les adultes. Les résultats faussement positifs vont de valeurs très proches du seuil (5 des 16 faux positifs ont un S/P $< 0,45$) à des valeurs nettement positives (5 des 16 faux positifs ont un S/P > 1).

Figure 1
Distribution des ratios S/P des adultes

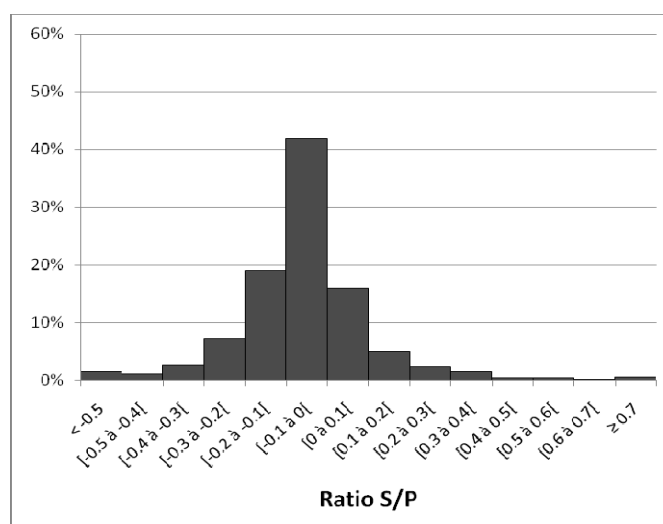


Figure 2
Distribution des ratios S/P des jeunes

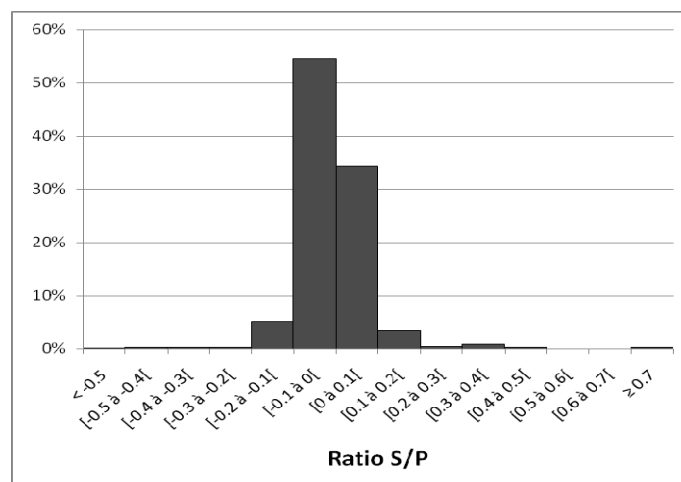


Tableau 2
Caractéristiques des ratios S/P

	Moyenne	Ecart-type	% S/P entre 0,2 et 0,4
Adultes	-0,05	0.21	5,6%
Jeunes	-0,006	0.10	1,7%

IV - CONCLUSION – DISCUSSION

La principale difficulté des études de spécificité en l'absence de test de référence est de disposer d'une population d'étude indemne et représentative. Les caractéristiques de la filière porcine française permettent de disposer d'une population de ce type ; ce sont les élevages de sélection multiplication dans lesquels des contrôles réguliers sont réalisés (au minimum tous les trimestres). Dans le cas de notre étude, la conjonction d'un historique de contrôle et du faible risque de contamination nous permet d'affirmer que les résultats positifs obtenus sont des faux-positifs. En effet, ces élevages sont contrôlés au minimum tous les trois mois et présentent un faible risque de contamination, soit de par leur localisation dans des zones à faible densité porcine, soit car ils sont protégés par un système de filtration de l'air entrant associé à de strictes mesures de biosécurité.

Les valeurs de spécificité observées sont élevées et confirment les données existantes qui avaient été obtenues sur un échantillon

plus réduit [Idexx Laboratories, 1999]. Ces valeurs de spécificité sont supérieures à celle d'autres tests utilisés dans des plans nationaux de contrôle en milieu indemne. Ainsi, la spécificité du test Elisa utilisé en Suisse dans le cadre d'un plan de qualification national a été estimée à 97% [Corbellini *et al.*, 2006]. La spécificité du test est à mettre en balance avec sa sensibilité, car aucun test n'est 100% spécifique. Dans le cadre de contrôle de verrats en centres d'insémination artificielle, il a été proposé d'augmenter la sensibilité du test en baissant la borne de positivité à 0,1. Sur 332 verrats, la spécificité observée avec cette borne a été de 98,5%. [Vangroenweghe *et al.*, 2008]. Dans notre sous-population de jeunes animaux, la spécificité avec un tel seuil de 0,1 ne serait que de 95%. Le test étant utilisé sur un grand nombre d'animaux et le coût économique d'un résultat faux-positif étant important (blocage de l'élevage, interruption de la vente des reproducteurs), il ne nous semble pas opportun de proposer ce seuil de positivité abaissé. Une autre stratégie consiste à

considérer suspects les cas où plusieurs sérums d'une même prise d'échantillon présentent des ratios S/P en limite de seuil (entre 0,2 et 0,4) car il peut s'agir d'un début de séroconversion massive [Epperson, 2001]. Les faux-positifs étant en général isolés, cette stratégie peut augmenter la sensibilité du diagnostic au niveau de l'élevage. Elle pourrait être couplée avec l'utilisation d'un test de confirmation. Plusieurs tests de confirmation ont été proposés mais ne sont pas disponibles pour l'analyse de routine [Brown *et al.*, 2009 ; Ferrin *et al.*, 2004 ; Okinaga *et al.*, 2009] ; un test de confirmation est en cours de développement par Idexx.

La différence de spécificité entre les deux sous-populations étudiées, les jeunes et les adultes, est un résultat original. A notre connaissance, c'est la première fois qu'elle est décrite dans le cadre du SDRP. Ce résultat illustre que les données de spécificité et de sensibilité d'un test diagnostic, bien que dénommées « caractéristiques intrinsèques » du test [Toma

et al., 1991, p. 256] par opposition aux valeurs prédictives positives et négatives (caractéristiques extrinsèques) ne sont pas des valeurs absolues et immuables. Elles peuvent varier suivant la population étudiée. Une hypothèse pour expliquer cette différence entre jeunes et adultes est l'existence d'un « bruit de fond immunologique » augmentant avec l'âge par suite de l'accumulation de stimulations antigéniques non spécifiques. Ce phénomène avait été rapporté, sans être précisément décrit, dans le cadre du diagnostic différentiel de la maladie d'Aujeszky sur truies multi-vaccinées (Elisa gE). Il est cependant étonnant de constater que cette moins bonne spécificité sur les animaux adultes n'est pas due à une augmentation du ratio S/P moyen mais à une augmentation de leur variabilité. Il serait intéressant de disposer de données équivalentes pour d'autres agents pathogènes du porc afin de déterminer s'il s'agit d'un phénomène systématique ou limité au seul SDRP.

BIBLIOGRAPHIE

Brown E., Lawson S., Welbon C., Gnanandarajah J., Li J., Murtaugh M.P., Nelson E.A., Molina R.M., Zimmerman J.J., Rowland R.R.R., Fang Y. - Antibody response of nonstructural proteins: implications for diagnostic detection and differentiation of Type I and Type II porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2009,

Corbellini L.G., Schwermer H., Presi P., Thür B., Stärk K.D.C., Reist M. - Analysis of national serological surveys for the documentation of freedom from porcine reproductive and respiratory syndrome in Switzerland. *Vet. Microbiol.*, 2006, **118** (3-4), 267-73.

Epperson W. - The distribution of PRRS S:P Ratios in PRRS negative case submissions. 2001, Available at: http://ars.sdstate.edu/swineext/2001SwineReport/2001-22DistributionOfPRRS_SP_Ratios.pdf [Accessed March 30, 2009].

Ferrin N.H., Fang Y., Johnson C.R., Murtaugh M.P., Polson D.D., Torremorell M., Gramer

M.L., Nelson E.A. - Validation of a Blocking Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Antibodies against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2004, **11** (3), 503-514.

Idexx Laboratories - Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Antibody Test Kit - Validation Data Report. 1999.

Okinaga T., Yamagishi T., Yoshii M., Suzuki T., Miyazaki A., Takagi M., Tsunemitsu H. - Evaluation of unexpected positive results from a commercial ELISA for antibodies to PRRSV. *Vet. Rec.*, 2009, **164** (15), 455-459.

Toma B., Bénet J.J., Dufour B., Eloit M., Moutou F., Sanaa M. - Glossaire d'épidémiologie animale. Editions du Point Vétérinaire, Maisons-Alfort, 1991.

Vangroenweghe F., Miry C., Castryck F. - PRRSV-free certification of boar AI-centres in Belgium, experiences of 1 year. In : Proceedings of the 20th IPVS Congress. Durban, South Africa, 2008, 73.

