



Procédure d'enregistrement des kits de diagnostic de l'OIE Résumé des études de validation

Nom du kit de diagnostic : Test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex

Fabricant : Enfer Scientific ULC

Numéro d'approbation OIE : 20190113

Date d'enregistrement : Mai 2019

Maladie : Tuberculose bovine

Agent pathogène : *Mycobacterium bovis*

Type de test : Méthode ELISA de chimiluminescence indirecte en multiplex

Objectif du test :

Certifié par l'OIE comme pertinent pour la détection des anticorps dirigés contre *Mycobacterium bovis* dans les échantillons de sérum bovin, pour les tests auxiliaires réalisés en association avec d'autres méthodes d'étude de la prévalence sérologique, ou de diagnostic et de gestion de l'infection causée par *M. bovis* au sein de troupeaux, pour les objectifs suivants :

1. Confirmer, mais non invalider, un diagnostic de cas suspects ou cliniques, y compris la confirmation de tests de dépistage positifs chez des animaux et dans des troupeaux où le taux de prévalence de l'infection va de très faible à élevé, en fonction de la détection d'anticorps dans le sérum bovin.
2. Détecter les animaux infectés par *Mycobacterium bovis* non positifs au test d'intradermotuberculation comparative ou au test de détection de l'interféron gamma (IFN γ) en fonction de la détection d'anticorps dans le sérum bovin.
3. Confirmer, mais non invalider, une infection chez des animaux présentant des réactions douteuses au test d'intradermotuberculation comparative, en fonction de la détection d'anticorps dans le sérum bovin.
4. Comme test de dépistage pour identifier les animaux les plus susceptibles de présenter des lésions visibles (LV) en établissant le nombre d'antigènes dirigés contre *M. bovis*, reconnus par des animaux séropositifs à la tuberculose bovine.

Espèces et spécimens :

Ce test est validé et approuvé pour l'analyse d'échantillons de sérum provenant de bovins, comme indiqué ci-dessus.

Concernant l'utilisation prévue numéro 4 ci-dessus, lors des 5 premières années après l'enregistrement, des données supplémentaires seront nécessaires pour mieux qualifier et catégoriser la relation entre le nombre d'antigènes dirigés contre *M. bovis* et la probabilité de lésions visibles.

Ce test est également approuvé de manière provisoire pour l'analyse d'échantillons de lait provenant de bovins comme test de dépistage du troupeau, ou comme test de confirmation complémentaire à utiliser sur les animaux individuels, lorsqu'il est réalisé en association avec d'autres méthodes de diagnostic et de gestion de l'infection causée par *M. bovis*.

1. Informations sur le kit

Consultez la notice du kit disponible sur la page Web du registre de l'OIE, ou contactez le fabricant comme suit :

Enfer Scientific ULC

Unit T, M7 Business Park, Newhall, Naas, Kildare, Irlande.

Site Web : <https://www.enfergroup.com/>

Adresse e-mail : info@enfergroup.com

Tél. : 00353 45 983800

Fax : 00353 45 983801

2. Résumé des études de validation

Caractéristiques analytiques

Répétabilité avec du sérum

Afin de déterminer les variations au sein des séries, entre les séries et entre les lots, trois catégories de sérums ont été utilisées : 1 échantillon de sérum négatif pour l'ensemble des 11 antigènes, 1 dilution de sérum pour chaque antigène provoquant une réaction fortement positive, 1 dilution de sérum pour chaque antigène provoquant une réaction faiblement positive. Les échantillons ont été testés 4 fois sur 20 séries, réalisées sur 2 jours, avec 2 opérateurs. La moyenne, l'écart-type et le coefficient ont été calculés. La variation des rapports signal/seuil (s/s) au sein des séries, entre les séries et entre les lots est présentée dans le tableau 1. Les coefficients étaient compris entre 1,3 % et 6,5 % et les valeurs moyennes n'étaient pas supérieures à 2 fois l'écart-type sur 20 séries du test.

Tableau 1. Variation des rapports s/s au sein des séries, entre les séries et entre les lots avec des échantillons de sérum

Test	Échantillon	Coefficient (%)
Au sein de la série	Fortement positif	1,3 – 3,3
	Faiblement positif	4,0 – 6,2
	Négatif	Indéterminé comme les rapports s/s sont proches ou inférieurs à zéro
Entre les séries	Fortement positif	1,3 – 3,8
	Faiblement positif	4,0 – 5,9
	Négatif	Indéterminé comme les rapports s/s sont proches ou inférieurs à zéro
Entre les lots	Fortement positif	1,3 – 3,1
	Faiblement positif	3,6 – 6,5
	Négatif	Indéterminé comme les rapports s/s sont proches ou inférieurs à zéro

Répétabilité (lait) :

Afin de déterminer la répétabilité au sein des séries et entre les séries, trois catégories d'échantillons de lait ont été utilisées : 1 échantillon de sérum négatif pour l'ensemble des 11 antigènes, 1 dilution de sérum pour chaque antigène provoquant une réaction fortement positive, 1 dilution de sérum pour chaque antigène provoquant une réaction faiblement positive. Les échantillons ont été testés 4 fois sur 20 séries, réalisées sur 2 jours, avec 2 opérateurs. La moyenne, l'écart-type et le coefficient ont été calculés.

La variation des rapports signal/seuil (s/s) au sein des séries et entre les séries est présentée dans le tableau 2. Les coefficients étaient compris entre 1,4 % et 11,1 % et les valeurs moyennes n'étaient pas supérieures à 2 fois l'écart-type sur 20 séries du test.

Tableau 2. Variation des rapports s/s au sein des séries et entre les séries

Test	Échantillon	Coefficient (%)
Au sein de la série	Fortement positif	1,4 – 3,4
	Faiblement positif	3,8 – 9,8
	Négatif	Indéterminé comme les rapports s/s sont proches ou inférieurs à zéro
Entre les séries	Fortement positif	1,4 – 4,1
	Faiblement positif	4,3 – 11,1
	Négatif	Indéterminé comme les rapports s/s sont proches ou inférieurs à zéro

Le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex indique une répétabilité acceptable au sein des séries, entre les séries et entre les lots pour la détection des anticorps dirigés contre *M. bovis* dans le sérum et dans le lait, pour les différents tests.

Spécificité analytique

Des échantillons sanguins ont été recueillis avant l'infection et à 18 semaines après l'infection sur 8 animaux ayant été infectés à des fins expérimentales avec *M. kansasii*. Tous les animaux ont réagi négativement à tous les antigènes, à l'exception d'un animal qui a réagi positivement à un antigène.

Des échantillons sanguins provenant d'animaux naturellement infectés ont également été obtenus et étaient soit positifs à une culture de *M. avium subsp. paratuberculosis* (MAP) (n = 258), soit positifs aux anticorps MAP tel que déterminé par la méthode commerciale ELISA (251), ou positifs aux deux (n = 329). Les résultats de tests d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex dans ces sérums ont donné des estimations de spécificité de 98,1 % et 99,2 % (positifs à une culture de MAP) et de 98,0 % et 100 % (positifs aux anticorps MAP) avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée du test, respectivement. Ces estimations de spécificité relatives sont proches de la spécificité générale du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex pour les animaux exempts de tuberculose bovine (98,4 %), avec le réglage de sensibilité élevée du test, et indiquent une absence de réaction croisée entre les anticorps MAP et les antigènes *M. bovis* utilisés dans le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex. Les données indiquent que le kit est très spécifique en ce qui concerne les réactions croisées avec les organismes environnementaux non tuberculeux tels que *M. kansasii* et MAP.

Sensibilité analytique avec le sérum

Six animaux ont subi une infection causée par *M. bovis* à des fins expérimentales et des échantillons sanguins ont été recueillis avant l'infection et après l'infection à 3, 7, 11 et 12 semaines. Les résultats indiquent que le kit a permis de détecter la présence d'anticorps dirigés contre *M. bovis* chez 5 animaux sur 6, 7 semaines après l'infection causée par *M. bovis* à des fins expérimentales. Chez 10 animaux infectés par *M. tuberculosis* à des fins expérimentales, des échantillons sanguins ont été recueillis avant l'infection et après l'infection à 4, 6, 7, 8 et 9 semaines. La présence d'anticorps a été détectée 4 semaines après l'infection chez 2 animaux sur 10. Par conséquent, le kit permet de détecter une infection de manière précoce au cours du processus d'infection. Des niveaux d'anticorps inférieurs ont été observés après une infection causée par *M. tuberculosis* à des fins expérimentales, par comparaison à une infection causée par *M. bovis* à des fins expérimentales. Cette observation pourrait illustrer le fait que *M. tuberculosis* est moins virulent que *M. bovis* chez les bovins.

L'analyse de la sensibilité analytique du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex a également été déterminée par un titrage du point final d'un échantillon de sérum

fortement positif. Les résultats indiquent que le titrage du point final pour les antigènes individuels se situe entre 1:3200 et 1:512000 sur les 11 antigènes du test.

Sensibilité analytique avec le lait

L'analyse de la sensibilité analytique du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex a également été déterminée par un titrage du point final d'un échantillon de lait fortement positif. Les résultats indiquent que le titrage du point final pour les antigènes individuels se situe entre 1:160 et 1:2560 sur les 11 antigènes du test.

Caractéristiques de diagnostic

Détermination du seuil

Les seuils applicables aux antigènes individuels ont été déterminés de manière empirique, en ciblant une spécificité générale de 98 %, avec le réglage de sensibilité élevée du test. Le seuil de positivité générale du test a été défini à l'aide de la règle des 2 antigènes, dans laquelle les signaux des unités relatives de lumière de 2 antigènes ou plus doivent être supérieurs aux seuils des antigènes individuels pour que l'échantillon puisse être enregistré comme « positif » (Whelan et al., 2008). Les seuils des antigènes individuels ont été définis spécifiquement entre 95,1 % et 99,8 %, en fonction du sérum vrai négatif de référence pour établir un réglage de type « sensibilité élevée » à l'aide de la règle des 2 antigènes. Les seuils des antigènes individuels ont été définis spécifiquement entre 97,3 % et 99,9 %, en fonction du sérum vrai négatif de référence pour établir un réglage de type « spécificité élevée » pour le test à l'aide de la règle des 2 antigènes. La macro de test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex fournit automatiquement les résultats de spécificité élevée et de sensibilité élevée.

Estimations de la sensibilité diagnostique (SeD) et de la spécificité diagnostique (SpD) avec des limites de confiance (LC) de 95 %

Les niveaux de performance indiqués ci-dessous sont basés sur plusieurs lots de test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex et reflètent la diversité biologique applicable aux composants du kit (antigènes recombinants, tampons et conjugués, contrôles positifs et négatifs).

Spécificité diagnostique (SpD) : sérum

La spécificité diagnostique relative a été estimée à l'aide d'animaux provenant du Royaume-Uni (UK), d'Irlande (IE), de Norvège (NO), de Suisse (CH), du Liechtenstein (LI), de France (FR) et des États-Unis d'Amérique (USA) qui étaient considérés comme exempts de tuberculose bovine (tableau 3).

Tableau 3. Spécificité diagnostique du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée dans des échantillons d'animaux exempts de tuberculose bovine provenant de l'Union européenne et des États-Unis.

Catégorie d'animaux évaluée	Variable statistique	Espèce ciblée – bovins Sensibilité élevée	Espèce ciblée – bovins Spécificité élevée
Animaux exempts de tuberculose bovine UK, IE, CH/LI, NL, ES, NO et USA Sans rappel	N SpD LC	4 258 98,4 % 98,0 – 97,8	4 258 99,7 % 99,5 – 99,8
Animaux exempts de tuberculose bovine FR Avec rappel	N SpD LC	161 100 % -	161 100 % -

Les résultats indiquent que le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex avait une spécificité de diagnostic de 98,4 % et de 99,7 % avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée, respectivement, chez des animaux exempts de tuberculose bovine et n'ayant pas reçu de rappel d'injection de PPD (« Sans rappel »). Chez les animaux exempts de tuberculose bovine et ayant subi un rappel d'injection de PPD (« Avec rappel »), la SpD était de 100 % avec les deux réglages de sensibilité.

Sensibilité diagnostique (SeD)

Échantillons de sérum

La sensibilité diagnostique a été estimée à l'aide d'échantillons de sérum provenant d'animaux positifs à une culture de *M. bovis*, d'animaux positifs au test d'intradermotuberculination comparative ou au test de fixation du complément, et d'animaux positifs au test de détection de l'interféron gamma (IFN γ) provenant du Royaume-Uni, d'Irlande, d'Italie (IT) et des États-Unis.

Tableau 4. Sensibilité diagnostique du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée dans 478 échantillons provenant d'animaux positifs à une culture de *M. bovis*.

Catégorie d'animaux évaluée	Variable statistique	Espèce ciblée – bovins Sensibilité élevée	Espèce ciblée – bovins Spécificité élevée
Positifs à une culture de <i>M. bovis</i> Échantillons avec rappel UK et IE	N SeD LC	208 94,2 % 91,1 – 97,4	208 94,2 % 91,1 – 97,4
Positifs à une culture de <i>M. bovis</i> Échantillons sans rappel UK et USA	N SeD LC	182 75,8 % 69,6 – 82,0	182 71,4 % 64,9 – 78,0
Positifs à une culture de <i>M. bovis</i> Statut de rappel inconnu IT	N SeD LC	88 80,7 % 72,4 – 89,0	88 75,0 % 66,0 – 84,1
Positifs à une culture de <i>M. bovis</i> Tous les échantillons UK, IE, USA et IT	N SeD LC	478 84,7 % 81,2 – 87,7	478 82,0 % 78,3 – 85,0

Les résultats indiquent que le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex fournit une sensibilité élevée pour les animaux positifs à une culture de *M. bovis* avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée. La sensibilité générale du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex chez les animaux positifs à *M. bovis* était de 84,7 % avec le réglage de sensibilité élevée. Avec le réglage de spécificité élevée du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex, la sensibilité diagnostique était de 82,0 %. Les échantillons d'animaux ayant subi un rappel d'injection de PPD avaient une sensibilité supérieure (94,2 %) avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée. Dans les échantillons d'animaux n'ayant pas subi de rappel, ces valeurs étaient significativement inférieures avec 75,8 % et 71,4 %, respectivement. Le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex a été évalué en utilisant le test d'intradermotuberculation comparative ou le test de fixation du complément comme normes de référence et les résultats correspondants sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5. Sensibilité diagnostique relative (SeR) du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée chez des animaux positifs au test d'intradermotuberculation comparative ou au test de fixation du complément.

Catégorie d'animaux évaluée	Variable statistique	Espèce ciblée – bovins Sensibilité élevée	Espèce ciblée – bovins Spécificité élevée
Positifs au test d'intradermotuberculation comparative Avec rappel, UK et IE	N SeR LC	2 076 92,6 % 91,5 – 93,8	2 076 89,6 % 88,2 – 90,9
Positifs au test de fixation du complément Sans rappel, USA	N SeR LC	90 82,2 % 74,3 – 90,1	90 75,6 % 66,7 – 84,4
Positifs au test d'intradermotuberculation comparative et au test de fixation du complément Tous les échantillons, UK, IE et USA	N SeR LC	2 166 92,3 % 91,2 – 93,4	2 166 89,0 % 87,6 – 90,3

La sensibilité relative générale du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex en comparaison avec le test d'intradermotuberculation comparative ou le test de fixation du complément était de 92,3 % avec le réglage de sensibilité élevée. Avec le réglage de spécificité élevée du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex, la sensibilité relative était de 89,0 %. Les échantillons d'animaux ayant subi un rappel d'injection de PPD_b avaient une sensibilité relative supérieure, de 92,6 % et de 89,6 % avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée, respectivement. Dans les échantillons d'animaux n'ayant pas subi de rappel, ces valeurs étaient significativement inférieures avec 82,2 % et 75,6 %, respectivement. Le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex a été évalué pour sa capacité de détection des animaux présentant deux réactions douteuses (2 x RD) consécutives au sein de l'intervalle de test court au Royaume-Uni (animaux considérés comme réagissant au Royaume-Uni). Les résultats d'analyse de la relation entre les animaux présentant 2 x RD au test d'intradermotuberculation comparative et les réponses d'anticorps sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6. Sensibilité diagnostique relative du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex dans des échantillons d'animaux provenant du Royaume-Uni ayant le statut 2 x RD comme norme de référence

Catégorie d'animaux évaluée	Variable statistique	Espèce ciblée – bovins Sensibilité élevée	Espèce ciblée – bovins Spécificité élevée
2 x RD Avec rappel UK	N	187	187
	SeR	87,7 %	80,2 %
	LC	83,0 – 92,4	74,5 – 85,9
	LV ou positifs à <i>M. bovis</i> (%)	13 (7,9 %)	13 (8,7 %)
1 x RD Avec rappel UK	N	111	111
	SeR	73,9 %	71,2 %
	LC	65,7 – 82,0	62,7 – 79,6
	LV ou positifs à <i>M. bovis</i>	10 (12,2 %)	10 (12,7 %)

La sensibilité relative était de 87,7 % et de 80,2 % avec les seuils de sensibilité élevée et de spécificité élevée, respectivement. En considérant la présence de lésions visibles ou la réaction positive à une culture de *M. bovis* comme norme de référence, 7,9 % et 8,7 % de ces animaux positifs au test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex étaient positifs avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée, respectivement.

Pour les animaux ayant le statut 1 x RD (non considérés comme réagissant au Royaume-Uni), la sensibilité relative était de 73,9 % et de 71,2 % avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée, respectivement. Les résultats indiquent que 12,2 % et 12,7 % des animaux positifs au test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex avaient des lésions visibles ou étaient positifs à une culture de *M. bovis* avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée, respectivement. Par conséquent, le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex permet de détecter les animaux infectés ayant des réactions douteuses au test d'intradermotuberculation comparative.

Le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex a été évalué en utilisant le test de détection de l'interféron gamma (IFN γ) comme norme de référence et les résultats correspondants sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7. Sensibilité diagnostique relative du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée chez des animaux positifs au test de détection de l'interféron gamma (IFN γ) provenant du Royaume-Uni, d'Irlande, d'Italie ou des États-Unis.

Catégorie d'animaux évaluée	Variable statistique	Espèce ciblée – bovins Sensibilité élevée	Espèce ciblée – bovins Spécificité élevée
Positifs au test de détection de l'interféron gamma (IFNγ) Avec rappel UK et IE	N SeR LC	1 220 86,7 % 84,8 – 88,6	1 220 82,7 % 80,6 – 84,8
Positifs au test de détection de l'interféron gamma (IFNγ) Sans rappel UK et USA	N SeR LC	1 317 45,7 % 43,0 – 48,4	1 317 39,6 % 39,6 – 42,2
Positifs au test de détection de l'interféron gamma (IFNγ) Statut de rappel inconnu IT	N SeR LC	110 69,1 % 60,4 – 77,3	110 66,4 % 57,5 – 75,2
Positifs au test de détection de l'interféron gamma (IFNγ) Tous les échantillons, UK, IE, IT et USA	N SeR LC	2 537 65,4 % 63,6 – 67,3	2 537 60,3 % 58,4 – 62,2
Négatifs au test de détection de l'interféron gamma (IFNγ)	N SpR LC	Aucune comparaison directe réalisée sur les animaux négatifs au test de détection de l'interféron gamma (IFNγ) provenant de troupeaux négatifs	

Les résultats indiquent que la sensibilité relative générale du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex avec des échantillons d'animaux positifs au test de détection de l'interféron gamma (IFN γ) était de 65,4 % avec le réglage de sensibilité élevée et de 60,3 % avec le réglage de spécificité élevée. Les échantillons d'animaux ayant subi un rappel d'injection de PPD_b avaient une sensibilité relative supérieure, de 86,7 % et de 82,7 % avec les réglages de sensibilité élevée et de spécificité élevée, respectivement. Dans les échantillons d'animaux n'ayant pas subi de rappel, ces valeurs étaient significativement inférieures avec 45,7 % et 39,6 %, respectivement.

Animaux négatifs au test d'intradermotuberculination comparative ou au test de détection de l'interféron gamma (IFN γ) ayant des lésions typiques de la tuberculose bovine

Les résultats des tests des échantillons provenant d'animaux négatifs au test d'intradermotuberculination comparative et positifs aux lésions de la tuberculose bovine dans le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8. Sensibilité relative du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex chez des animaux ayant des lésions typiques de la tuberculose bovine et qui étaient négatifs au test d'intradermotuberculation comparative ou au test de détection de l'interféron gamma (IFN γ).

Catégorie d'animaux évaluée	Variable statistique	Espèce ciblée – bovins Sensibilité élevée	Espèce ciblée – bovins Spécificité élevée
Négatifs au test d'intradermotuberculation comparative Positifs aux lésions de tuberculose bovine Avec rappel UK et IE	N SeR LC	137 88,3 % 82,9 – 93,7	137 82,5 % 76,1 – 88,8
Négatifs au test de détection de l'interféron gamma (IFNγ), positifs aux lésions de tuberculose bovine Avec rappel IE	N SeR LC	57 82,5 % 72,6 – 92,3	57 75,4 % 64,3 – 86,6

Les résultats indiquent que la sensibilité relative du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex chez des animaux positifs au test d'intradermotuberculation comparative était de 88,3 % avec le réglage de sensibilité élevée et de 82,5 % avec le réglage de spécificité élevée. De même, le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex chez des animaux négatifs au test de détection de l'interféron gamma (IFN γ) était de 82,5 % avec le réglage de sensibilité élevée et de 75,4 % avec le réglage de spécificité élevée. Par conséquent, les résultats indiquent que le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex permet de détecter les animaux infectés qui sont négatifs au test d'intradermotuberculation comparative.

Relation entre le nombre d'antigènes reconnus par anticorps et la probabilité de lésions

Pour étudier la relation entre le nombre d'antigènes reconnus comme positifs dans le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex, des échantillons de sérum provenant de 2 056 animaux positifs au test d'intradermotuberculation comparative ont été testés et les résultats ont été corrélés avec le statut de lésion de tuberculose bovine post-mortem. En agrégeant les populations d'animaux par nombre d'antigènes reconnus, il est visible dans le tableau 9 que près de 90 % des animaux qui avaient au moins 5 antigènes reconnus par le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex avaient également des lésions visibles.

Tableau 9. Relation entre le nombre d'antigènes reconnus et les lésions visibles dans 2 056 bovins positifs au test d'intradermotuberculation comparative provenant du Royaume-Uni et d'Irlande.

Nombre d'antigènes reconnus	Nombre total (n = 2 056)	Pourcentage avec des lésions visibles	Pourcentage du total avec des lésions visibles
0 ou 1	150	23,3	3,3
2 ou plus	1 906	54,4	96,7
3 ou plus	1 823	55,8	94,9
4 ou plus	1 759	56,6	92,9
5 ou plus	1 670	57,2	89,1
6 ou plus	1 436	59,0	79,1
7 ou plus	1 071	62,7	62,7
8 ou plus	804	65,5	49,2
9 ou plus	519	69,5	33,7
10 ou plus	364	74,2	25,2
11	121	78,5	8,9

Échantillons de lait

La sensibilité et la spécificité diagnostiques relatives du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex ont été estimées à l'aide d'échantillons de lait. Les paires d'échantillons de sérum et de lait provenant de 107 animaux positifs au test d'intradermotuberculation comparative et de 1 149 animaux vrais négatifs de référence au Royaume-Uni ont été analysées avec le test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex. Les résultats sont présentés dans le tableau 10.

Tableau 10. Sensibilité relative du test d'anticorps de la tuberculose bovine Enferplex dans les échantillons de lait.

Catégorie d'animaux évaluée	Variable statistique	Espèce ciblée – bovins Sensibilité élevée	Espèce ciblée – bovins Spécificité élevée
Positifs au test d'intradermotuberculation comparative	N	107	107
	SeR	91,6 %	82,2 %
	LC	84,8 – 95,5	73,9 – 88,3
Négatifs au test d'intradermotuberculation comparative et/ou statut officiellement indemne de tuberculose et historique de tuberculose bovine	N	1 149	1 149
	SpD	99,8 %	99,8 %
	LC	99,5 – 100,0	99,5 – 100,0

Les résultats indiquent que la sensibilité relative était de 91,6 % avec le réglage de sensibilité élevée et de 82,2 % avec le réglage de spécificité élevée du test du lait. La spécificité était de 99,8 % avec le réglage de sensibilité élevée et de 99,8 % avec le réglage de spécificité élevée du test.

Les résultats des paires de sérum et de lait ont été analysés grâce au test de corrélation de Spearman. Les coefficients de corrélation obtenus pour chaque antigène étaient situés entre 0,8 et 0,95 sur l'ensemble des 11 antigènes.

Reproductibilité

Reproductibilité analytique

Un panel d'évaluation d'échantillons de sérum composé d'échantillons négatifs, d'échantillons faiblement positifs et d'échantillons fortement positifs a été envoyé en insu à trois laboratoires à des fins de tests de reproductibilité analytique. Sept échantillons négatifs, sept échantillons faiblement positifs et sept échantillons fortement positifs ont été analysés sur deux plaques de test provenant de deux lots de kits différents avec un technicien dans chaque laboratoire. Les résultats ont été envoyés à Enfer Scientific pour la levée de l'insu et leur analyse.

Pour les analyses, une série de modèles linéaires à effets mixtes a été exécutée en prenant en compte les informations concernant le lot du kit, le laboratoire, la plaque de test et l'échantillon. Les résultats comprenaient la moyenne générale, l'écart-type, le coefficient, la limite inférieure de contrôle, la limite supérieure de contrôle et la valeur de 95 % de la limite de confiance, ainsi qu'une estimation de l'impact de ces variables sur les variations, et une évaluation statistique des différences observées.

Les résultats indiquent que les coefficients des échantillons négatifs variaient énormément, ce qui reflète le fait qu'une forte proportion des rapports signal/seuil étaient proches de zéro ou inférieurs à zéro. Les résultats indiquent que la majorité des réponses de rapports signal/seuil observées pour les 11 antigènes dans les échantillons faiblement positifs (63 sur 77) avaient des coefficients inférieurs à 10 %. Il y avait 14 exceptions pour lesquelles les coefficients étaient supérieurs à 10 %. Parmi ces dernières, 13 sur 14 correspondaient à des réponses situées sous le seuil pour les antigènes individuels et seraient considérées comme des réponses négatives pour ces antigènes. Les résultats indiquent que la majorité des réponses de rapports signal/seuil dans les échantillons fortement positifs (68 sur 77) avaient des coefficients inférieurs à 10 %. Il y avait 9 exceptions pour lesquelles les coefficients étaient supérieurs à 10 %. Parmi ces dernières, 3 sur 9 correspondaient à des réponses situées sous le seuil pour les antigènes individuels et seraient considérées comme des réponses négatives pour ces antigènes. Seulement 1 des 6 réponses restantes avait un coefficient supérieur à 20 %.

Des modèles linéaires à effets mixtes ont été appliqués au kit, au laboratoire, à la plaque de test et à l'échantillon (en tant qu'effets aléatoires) afin de déterminer l'impact de ces variables sur les variations de valeurs du rapport signal/seuil. Pour l'ensemble des antigènes, moins de 1 % des variations était imputable au kit, au laboratoire ou à la plaque de test.

Reproductibilité du diagnostic

Un panel d'évaluation des échantillons de sérum composé d'échantillons négatifs, d'échantillons faiblement positifs et d'échantillons fortement positifs a été envoyé en insu et analysé à des fins de tests de reproductibilité analytique dans trois laboratoires : APHA à Weybridge au Royaume-Uni, le laboratoire de référence pour la mammite TINE Mastitis à Molde en Norvège et le laboratoire de test de routine d'Enfer Scientific en Irlande. Sept échantillons négatifs, sept échantillons faiblement positifs et sept échantillons fortement positifs ont été analysés sur deux plaques de test provenant de deux lots de kits, avec un technicien dans chaque laboratoire. Les résultats des laboratoires APHA et TINE Mastitis ont été envoyés à Enfer Scientific pour la levée de l'insu et leur analyse. Les résultats indiquent une concordance parfaite entre les trois laboratoires pour une analyse binaire.

Application

Le test n'a pas encore été intégré aux schémas de diagnostic de routine.

Références

WHELAN ET AL. (2008). Multiplex Immunoassay for serological diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Clinical and Vaccine Immunology*, 1834 – 1838, 15 (12).