



Organisation
Mondiale
de la Santé
Animale

World
Organisation
for Animal
Health

Organización
Mundial
de Sanidad
Animal

Original : français
septembre 2006

RAPPORT DE LA RÉUNION DE LA COMMISSION DES NORMES BIOLOGIQUES DE L'OIE

Paris, 13–15 septembre 2006

La Commission des normes biologiques de l'OIE s'est réunie au siège de l'OIE du 13 au 15 septembre 2006. Le Docteur Bernard Vallat, Directeur général de l'OIE, a accueilli les membres de la Commission, le Professeur Steven Edwards, Président, le Docteur Beverly Schmitt, Vice-président, le Docteur Mehdi El Harrak, Secrétaire Général, et le Docteur S. K. Bandhopadhyay ainsi que les autres participants, le Docteur Adama Diallo, représentant le Centre collaborateur de l'OIE pour les méthodes ELISA¹ et les techniques moléculaires appliquées au diagnostic des maladies animales, AIEA², Vienne, Autriche, et le Docteur Peter Wright, de Pêches et Océans Canada.

Le Docteur Vallat souligne l'importance des travaux de la Commission des normes biologiques en matière de diagnostic pour l'éradication des maladies mais aussi pour l'amélioration de la qualité des vaccins. La Commission joue aussi un rôle important dans l'organisation du réseau des 180 Laboratoires de Référence et Centres Collaborateurs de l'OIE et dans la sélection de nouveaux laboratoires pour ce réseau, ou encore les mesures de biosécurité au niveau des laboratoires qui traitent des germes pathogènes. Compte tenu de l'importance de ces tâches, il a été proposé d'accroître lors de la dernière élection le nombre des membres de la commission de 3 à 5 membres et de faire davantage appel à des Groupes ad hoc spécialisés. Le Docteur Vallat rappelle que l'OIE a plus de 120 pays membres issus de pays en développement et que les laboratoires de ces pays doivent être davantage impliqués dans le réseau, mais il s'agit d'un travail à long terme qui peut commencer par un programme de jumelage entre laboratoires de pays développés et ceux des pays en développement.

Le Professeur Edwards évoque la prochaine Conférence internationale des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs de l'OIE qui se tiendra à Florianópolis, Santa Catarina, Brésil, en décembre 2006, qui est une bonne opportunité pour concrétiser ces programmes de jumelage. Le Docteur Vallat souligne aussi l'importance de la réunion d'octobre des Présidents des Commissions spécialisées pour tisser les liens entre elles et travailler en étroite collaboration.

Le Professeur Edwards a ensuite introduit les nouveaux membres de la Commission, leur a souhaité la bienvenue et expliqué brièvement la procédure de travail au sein de la Commission.

L'ordre du jour et la liste des participants figurent respectivement dans les [annexes I et II](#).

¹ ELISA: méthode immuno-enzymatique

² AIEA : Agence internationale de l'énergie atomique

1. Laboratoires de référence et Centres collaborateurs de l'OIE

1.1. Nouvelles candidatures au statut de Centre collaborateur et de Laboratoire de référence :

La Commission recommande l'acceptation des candidatures suivantes en qualité de centre Collaborateurs et Laboratoires de Référence de l'OIE :

OIE Collaborating Centre for Research on Emerging Avian Diseases (Centre collaborateur de l'OIE pour la recherche sur les maladies aviaires émergentes)

Southeast Poultry and Research Laboratory (SEPRL), United States Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service, 934 College Station Road, Athens, Georgia 30605, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE.

Tél : (+1-706) 546.3433; E-mail : dswayne@seprl.usda.gov

Laboratoire de référence de l'OIE pour la myiase à Cochliomyia hominivorax

COPEG (Panama-US Commission for the Eradication and Prevention of NWS), PANAMA.

Expert de référence désigné : un courrier officiel a été adressé au Délégué du Panama pour demander cette information.

Laboratoire de référence de l'OIE pour la morve

Friedrich-Loeffler-Institute, Institute of Bacterial Infections and Zoonoses, Naumburger Str. 96a, 07743 Jena, ALLEMAGNE

Tél : (+49-3641) 80.42.00 ; Fax : (+49-3641) 80.42.28 ; E-mail : heinrich.neubauer@fli.bund.de

Expert de référence désigné : Docteur Heinrich Neubauer

Laboratoire de référence de l'OIE pour la chlamydie (ovine et aviaire)

Friedrich-Loeffler-Institute, Institute of Bacterial Infections and Zoonoses, Naumburger Str. 96a, 07743 Jena, ALLEMAGNE

Tél : (+49-3641) 80.43.34; Fax : (+49-3641) 80.42.28; E-mail : konrad.sachse@fli.bund.de

Expert de référence désigné : Docteur Konrad Sachse

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

L'OIE a été informé des changements d'expert qui sont intervenus dans les Laboratoires de Référence de l'OIE. La Commission recommande d'accepter ces nouveaux experts :

Péripneumonie contagieuse bovine

La Docteure Ana Rosa Pombo Botelho en remplacement du Docteur José Regalla au Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, Lisbonne, PORTUGAL.

Contrôle des médicaments vétérinaires en Afrique subsaharienne

Le Docteur Assiongbon Teko-Agbo en remplacement du Docteur François Abiola à l'EISMV, Dakar, SÉNÉGAL.

Brucellose

Le Docteur Falk Melzer en remplacement du Docteur Konrad Sachse au Friedrich-Loeffler-Institute, Institute of Bacterial Infections and Zoonoses, Jena, ALLEMAGNE.

Influenza aviaire

Le Docteur Timm C. Harder en remplacement du Docteur Ortrud Werner au Friedrich-Loeffler-Institute, Federal Research Centre for Virus Diseases of Animals (BFAV), Insel Riems, ALLEMAGNE.

Maladie de Newcastle

Le Docteur Christian Grund en remplacement du Docteur Ortrud Werner au Friedrich-Loeffler-Institute, Federal Research Centre for Virus Diseases of Animals (BFAV), Insel Riems, ALLEMAGNE.

1.3. Activités des Laboratoires de référence concernant les agents zoonotiques

La Commission accepte une proposition du Professeur Ilaria Capua, à savoir que tous les Laboratoires de référence travaillant sur des agents zoonotiques soient encouragés à échanger les données sur les séquences et d'autres informations importantes avec les laboratoires médicaux, comme cela a été mis en place dans le cas des Laboratoires de référence de l'OIE pour l'influenza aviaire (IA) grâce aux activités du réseau OFFLU.

1.4. Faire avancer le concept de jumelage

La Commission continue d'encourager le concept de jumelage entre laboratoires de pays développés et laboratoires de pays en développement et rappelle que la prochaine conférence des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs de l'OIE au Brésil constitue une opportunité pour encourager ce jumelage et faire avancer le programme.

1.5. Première Conférence internationale des Laboratoires de Référence et des Centres collaborateurs de l'OIE, Brésil, décembre 2006

La Commission examine l'ordre du jour de la première Conférence internationale des Laboratoires de référence et des Centres collaborateurs de l'OIE qui se tiendra à Florianopolis, Santa Catarina, Brésil, du 3 au 5 décembre 2006 et propose d'y apporter des modifications mineures. Elle examine ensuite les projets de questionnaires qui devraient être adressés aux Centres collaborateurs et Laboratoires de référence de l'OIE. L'objectif du questionnaire est de collecter des informations sur le réseau de laboratoires et de centres et sur leurs méthodes de travail. Les réponses seront analysées et les résultats présentés par le Docteur Gideon Brückner lors de la Conférence qui se tiendra au Brésil à l'intention des experts participants et des Délégués de l'OIE.

2. Standardisation internationale des épreuves de diagnostic et des vaccins

2.1. Programmes de standardisation de l'OIE pour les épreuves de diagnostic

Influenza Aviaire Hautement Pathogène (IAHP) – Coordinateur : Docteur P. Selleck, Laboratoire australien de santé animale (AAHL), Geelong, Victoria, Australie

Le Docteur Selleck informe la Commission de l'avancée des travaux de préparation du sérum de référence international de l'OIE pour le test AI AGID³. Le projet a subi des retards dus aux demandes importantes pesant sur les Laboratoires de référence en raison de la situation actuelle de l'influenza aviaire. La Commission en prend acte et encourage le Docteur Selleck à poursuivre son action.

Leucose Bovine Enzootique (EBL) PCR – Coordinateur : Docteur L. Renström, National Veterinary Institute, Uppsala, Suède

Le Docteur Renström rapporte qu'il n'y a pas eu de travaux nouveaux effectués concernant l'établissement d'un protocole standard pour l'EBL PCR⁴. L'intention est d'approfondir le sujet avec les experts lors de la Conférence qui aura lieu au Brésil.

Sérum standard de référence pour l'EBL – Coordinateur : Docteur Dagmar Beier, Friedrich Loeffler Institute, Wusterhausen, Allemagne

La Commission examine un dossier complet soumis par le Laboratoire de référence de l'OIE pour l'EBL en Allemagne sur la validation d'un sérum de référence international qui remplacerait le sérum standard actuel de l'OIE (E4) dont l'approvisionnement est actuellement très limité. Après examen des données, la Commission recommande l'adoption du nouveau sérum standard (E5).

Brucellose ovine et caprine – Coordinateur : Mme J. Stack, VLA Weybridge, Royaume-Uni.

Mme J. Stack a communiqué les premiers résultats obtenus dans le cadre d'un essai interlaboratoires réalisé sur les sérums candidats. D'autres résultats des Laboratoires de référence sont attendus.

Arthrites/encéphalites caprine et maedi-visna – Coordinateur : Docteur Gérard Perrin, AFSSA Niort, France

Le Docteur Perrin avait présenté les résultats fournis par l'Institut Pourquier, qui réalise les travaux pour le compte du Laboratoire de référence de l'OIE. La Commission demande à l'OIE de chercher à obtenir une clarification de certains aspects techniques du rapport.

³ AGID : agar gel immunodiffusion (immunodiffusion en gélose)

⁴ PCR : polymerase chain reaction (amplification en chaîne par polymérase)

Dourine – Coordinateur : Prof. V.T. Zablotzky, All-Russian Research Institute for Experimental Veterinary Medicine (VIEV), Moscow, Russie

Le Prof. Zablotzky avait informé la Commission de la réalisation d'évaluations supplémentaires sur la préparation candidate comme sérum de référence. La Commission attend avec impatience d'obtenir plus d'informations et s'adressera au Docteur Drygin à cette fin.

Brucellose porcine – Coordinateur : Docteur K. Nielsen, Canadian Food Inspection Agency, Nepean, Canada

Le Docteur Nielsen informe la Commission que les kits ont été distribués aux Laboratoires de référence. D'autres distributions ont été réalisées en raison de la survenue de certains problèmes techniques. Le Docteur Nielsen n'avait pas encore reçu les résultats de cet essai interlaboratoires. La Commission souhaite encourager les laboratoires participants à adresser leurs résultats au Docteur Nielsen.

Grippe équine – Coordinateur : Docteur J. Daly, Animal Health Trust, Newmarket, Royaume-Uni

La Direction européenne de la qualité du médicament (EDQM) avait fourni un dossier de validation complet sur un antisérum de la grippe équine pour la sous-type 2 de la souche de type américaine A/Eq/South Africa/4/03. La Commission accepte d'adopter l'antisérum en tant que sérum standard international de l'OIE, en plus des sérums standards de l'OIE existants.

2.2. Standardisation des vaccins

La Docteur J. Mumford, expert de l'OIE de la grippe équine, avait présenté divers courriers relatifs à l'application des recommandations du groupe d'experts chargé de la surveillance de cette maladie par les fabricants de vaccins. Ces questions seront suivies par le Pr Edwards en concertation avec la Docteur Mumford.

3. Liste des épreuves prescrites et des épreuves de substitution

3.1. PCR en temps réel pour la détection du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR) dans la semence de taureaux diluée

Suite au rapport des experts sur ce dossier de validation de test (voir rapport de la Commission de janvier 2006), d'autres données avaient été présentées et examinées de nouveau par les experts de l'OIE. La Commission décide que des preuves suffisantes existent désormais pour recommander l'utilisation de la PCR en temps réel pour la détection du virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine dans la semence de taureaux diluée comme épreuve prescrite pour le commerce. Le protocole figure à l'[annexe III](#) et sera ajouté à la version web du *Manuel* en cas d'adoption par le Comité.

4. Groupes ad hoc

4.1. Groupe ad hoc sur la biotechnologie

Pour cette session, le Professeur P.P. Pastoret, président du groupe ad hoc sur la biotechnologie, se joint à la Commission. Certaines modifications du mandat du Groupe sont proposées et seront soumises à ce dernier lors de sa prochaine réunion. La Commission entérine la proposition du Groupe de poursuivre ses travaux en trois sous-groupes. Les actions prioritaires du Groupe ad hoc devront être axées sur les vaccins et les aspects sanitaires de la technologie du clonage animal. Un suivi des informations sur la nanotechnologie doit être maintenu. Le rapport du Groupe ad hoc est accepté ; il est présenté à l'[annexe IV](#).

4.2. Groupe ad hoc sur la résistance aux antimicrobiens

Le Professeur Edwards informe la Commission de la teneur de la discussion qui a eu lieu lors de la Session générale de mai 2006 à propos de la liste des antimicrobiens importants en médecine vétérinaire. Conformément à la Résolution n° XXXIII issue de la Session générale, le Groupe ad hoc devrait se réunir fin septembre 2006 pour affiner la liste. Le dialogue est maintenu avec la Commission du Codex Alimentarius sur ce sujet.

4.3. Groupe ad hoc sur la biosécurité

Le Docteur Schmitt informe la Commission sur l'état d'avancement des activités du Groupe ad hoc. Le travail de rédaction du 'Veterinary Biosafety Facility Construction Handbook' (« Guide pour la réalisation des sites de biosécurité vétérinaire ») a été presque achevé et le document sera présenté lors d'une réunion à Singapour avant publication par l'OIE. La Commission a également pris note de la toute dernière version d'un document de l'OMS intitulé 'Biorisk management: Laboratory Biosecurity Guidance' (« gestion des risques biologiques : guide à l'intention des laboratoires de biosécurité »). L'OIE avait eu la possibilité d'apporter sa contribution lors de l'élaboration de ce document. La Commission examine le document qui est désormais bien équilibré mais, ce qui est bien compréhensible, qui est axé sur les risques pour l'homme plutôt que pour les populations animales. Il compléterait les normes de l'OIE publiées dans le *Manuel terrestre*.

4.4. Groupe ad hoc sur les tests de diagnostic de l'ESB⁵

La Commission prend acte d'un document produit par le Laboratoire de référence de l'OIE pour l'ESB, Weybridge, Royaume-Uni, intitulé « L'évaluation des tests de conformation commercialisés pour le diagnostic de l'ESB ».

4.5. Groupe ad hoc sur les Lignes directrices de l'OIE applicables aux sérums de référence internationaux destinés au titrage des anticorps

Le Groupe ad hoc avait, comme convenu, travaillé par voie de communication électronique. Son rapport est présenté par le Docteur Adama Diallo et figure à l'[annexe V](#). Les principales recommandations, qui ont été acceptées par la Commission, préconisaient la révision des Lignes directrices de l'OIE, en particulier la reconnaissance soit de l'irradiation gamma soit du traitement chimique par bromoéthylèneimine (BEI) comme alternatives acceptables pour inactiver les agents adventices des sérums de référence internationaux.

5. Examen des lignes directrices de l'OIE

Reconnaissant la nécessité de réviser les Lignes directrices de l'OIE sur la préparation des sérums de référence internationaux (voir point 4.5 ci-dessus), la Commission décide d'entreprendre la révision complète de la brochure intitulée « Normes de qualité OIE et lignes directrices à l'intention des laboratoires vétérinaires ». Le recueil contiendra la mise à jour de la Norme de qualité de l'OIE pour l'harmoniser avec la norme ISO17025-2000, qui avait déjà été achevée par Mr François Diaz et le Docteur Peter Wright. Un examen de la Ligne directrice de l'OIE sur l'évaluation des compétences des laboratoires sera également demandé pour la mettre en adéquation avec l'évolution en cours des normes ISO et ILAC.

6. Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres (mammifères, oiseaux et abeilles) de l'OIE

Le Docteur James Pearson, consultant/rédacteur, se joint à la Commission pour ce point de l'ordre du jour.

Les commentaires des Pays Membres avaient été reçus sur les trois lots de projets de chapitres qui avaient été adressés jusqu'à ce jour aux Pays Membres (68 chapitres au total). Les commentaires reçus sont examinés et les chapitres sont au besoin modifiés.

Compte tenu de l'existence du registre des épreuves de diagnostic validées et certifiées de l'OIE, il est décidé que les références à certains kits disponibles dans le commerce doivent, autant que possible, être supprimées du *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres (Manuel terrestre)*. Un avertissement doit être ajouté au début du *Manuel terrestre* indiquant que « la référence à des kits disponibles dans le commerce ne signifie pas que ces kits sont approuvés par l'OIE. Tous les kits du commerce doivent être validés ; les épreuves incluses au registre de l'OIE ont déjà satisfait cette condition ».

La Commission débat de la nécessité de réaliser des tests de pathogénicité pour les poulets sur toutes les souches d'IA faiblement pathogènes (IAFP) séquencées de type H5 et H7 issues d'oiseaux sauvages quand les données relatives aux séquences sont similaires pour de nombreux isolats. La Commission est favorable à l'idée que, lors de la conception des programmes de surveillance, certains pays puissent déterminer pour eux-mêmes qu'il est nécessaire de réaliser des tests de pathogénicité pour les poulets sur des souches d'IAFP séquencées issues d'oiseaux sauvages.

⁵ ESB : encéphalopathie spongiforme bovine

La Commission estime que l'état d'avancement de la sixième édition du *Manuel terrestre* est satisfaisant et que sa publication devrait avoir lieu comme prévu au premier trimestre 2008.

7. Registre des épreuves de diagnostic validées et certifiées de l'OIE

Le Docteur François Diaz présente l'état d'avancement des quatre dossiers soumis jusqu'ici à l'OIE. Le Professeur Edwards rappelle à la Commission qu'il serait nécessaire de prendre une décision à propos de certains dossiers, par courrier/courriel, une fois achevés les rapports des groupes d'experts.

Le Docteur François Diaz présente certains problèmes rencontrés, en particulier le manque d'experts pour des maladies rares ou exotiques ou encore l'absence d'une référence sur le niveau de perfection du dossier à demander aux dépositaires. Des différences sont également constatées dans les évaluations en fonction de la composition des groupes d'experts.

La Commission approuve les modifications apportées par Mr Diaz dans les procédures opératoires standard.

8. Examen des pages Web de l'OIE en relation avec la Commission

La Commission demande à ses membres de s'enquérir auprès de leurs collègues sur les difficultés et problèmes rencontrés lors des consultations des pages Web de l'OIE dans le but d'apporter des améliorations.

9. Relations avec les autres Commissions et les autres Groupes

Pour cette session, le Docteur A. Thiermann, Président de la Commission des normes sanitaires pour les animaux terrestres de l'OIE (Commission du Code), et le Docteur Sarah Kahn, Chef du Service du commerce international de l'OIE, se sont joints à la Commission.

• COMMISSION DES NORMES SANITAIRES POUR LES ANIMAUX TERRESTRES

9.1. Techniques de Diagnostic de la paratuberculose

La Commission du Code souhaite savoir si des améliorations récentes ont été apportées aux épreuves de diagnostic de cette maladie. La Commission des normes biologiques répond que la question reste problématique mais qu'un expert australien de la paratuberculose sera contacté dans le but d'apporter des informations supplémentaires sur les méthodes de diagnostic de la paratuberculose. La technique PCR récemment développée, semble prometteuse mais une évaluation comparative avec les techniques classiques est nécessaire. Le problème ne tenait pas seulement au test de laboratoire lui-même mais à la stratégie d'échantillonnage et à l'interprétation des résultats.

9.2. Transport des agents pathogènes

Un Pays Membre s'était inquiété du fait que si la proposition de déplacer le tableau sur les recommandations concernant les conditions auxquelles doivent répondre les laboratoires pour les différents groupes de confinement du *Code sanitaire pour les animaux terrestres (Code terrestre)* au *Manuel terrestre* n'est pas soigneusement synchronisée, cette précieuse information risque s'être temporairement indisponible. Les deux Commissions ont décidé qu'aucune modification ne serait apportée au *Code terrestre* tant que le *Manuel terrestre* ne serait pas adopté et disponible en ligne, ce qui évitera une perte temporaire de l'information.

La Commission évoque la poursuite du dialogue avec le Comité du transport des marchandises dangereuses des Nations Unies et la contribution à ses activités. L'OIE continue de demander instamment une approche bien appropriée du transport des matériels de diagnostic de l'influenza aviaire et aussi du transport des carcasses.

9.3. Border disease (maladie des frontières)

La Commission du Code signale que l'annexe 3.2.1 portant sur la semence des petits ruminants avait été modifiée cette année à la suite des commentaires des Pays Membres et n'exige plus le dépistage de la maladie des frontières chez les donneurs de semence. Le *Manuel terrestre* continue de recommander ce dépistage pour les béliers utilisés pour la reproduction. La Commission est surprise de constater ce changement dans le *Code terrestre*, mais elle souhaiterait prendre l'avis d'experts à propos du risque possible de présence du virus de la maladie des frontières dans la semence.

9.4. Vaccins antirabiques recombinants en vue des échanges internationaux

Faisant suite à une recommandation issue de la Conférence de l'OIE sur la rage en Europe, qui s'est tenue en juin 2005 à Kiev (Ukraine), la Commission réitère son conseil (voir rapport de septembre 2005), à savoir qu'il ne faut pas considérer comme une vaccination à base de virus rabique vivant la vaccination des animaux domestiques par voie parentérale avec des vaccins recombinants exprimant la glycoprotéine du virus de la rage chez un vecteur viral vivant tel que le virus de la variole du canari (canary pox). Le chapitre du *Manuel terrestre* avait été modifié pour refléter ce point de vue et un texte approprié avait été adressé à la Commission du Code pour inclusion dans le chapitre correspondant du *Code terrestre*.

- COMMISSION SCIENTIFIQUE POUR LES MALADIES ANIMALES

9.5. Fièvre catarrhale du mouton

Dans l'article 2.2.13.2, paragraphe 3a du chapitre du *Code terrestre* consacré à la fièvre catarrhale du mouton, il est recommandé de respecter une période d'attente de 60 jours avant le transport de ruminants vaccinés et autres herbivores sensibles vers un pays ou une zone indemne du virus de la fièvre catarrhale du mouton. Après concertation avec un expert, la Commission recommande de modifier le texte pour qu'il soit clair que la période d'attente de 60 jours s'applique uniquement aux vaccins vivants ; dans le cas de la vaccination à l'aide d'un vaccin inactivé, il n'y a pas lieu d'observer une période d'attente de 60 jours.

9.6. Vaccins contre l'influenza aviaire (IA)

Suite aux délibérations de la Session générale (paragraphe 338), la Commission prend note que le chapitre sur l'IA du *Manuel terrestre* (version en ligne mise à jour en 2005) contient des normes et des conseils d'ordre général sur la production et l'utilisation des vaccins. Il conviendra de demander l'avis de la Commission scientifique quant à l'application des différents types de vaccins dans les différentes situations épidémiologiques. Un projet de document d'information de l'OIE sur la vaccination contre l'IA a fourni les informations de fond essentielles mais la Commission recommande de les réviser et de les mettre à jour.

10. Questions diverses

10.1. Informations actualisées sur l'OFFLU⁶

Une réunion du Comité de pilotage s'était tenue au VLA Weybridge (Royaume-Uni) le 19 juillet 2006, avec les Docteurs Vallat et Domenech. Il a été décidé que l'OFFLU lui-même ne serait pas chargé de l'organisation des Missions menées dans les pays touchés mais fournirait les listes d'experts au Centre FAO/OIE de gestion des crises basé à Rome. D'importants progrès ont été réalisés en vue de persuader les laboratoires du monde entier d'échanger les souches virales et/ou les données sur les séquences avec la communauté scientifique mondiale et l'OFFLU avait été co-signataire du Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data (GISAID) (Partage mondial des données sur le virus de l'influenza aviaire). L'engagement des membres du réseau OFFLU continue de poser des problèmes et il a été décevant de constater la lenteur du processus de recherche de financements et de nomination d'agents chargés d'assurer l'atteinte des objectifs du réseau.

10.2. Programme du Séminaire sur la biotechnologie qui sera organisé en marge du Symposium de la WAVLD⁷

Le Docteur Edwards demande aux membres de la Commission de proposer des sujets et des intervenants à adjoindre au séminaire de l'OIE sur la biotechnologie qui sera organisé en marge du Symposium de la WAVLD à Melbourne (Australie) en 2007. Ces propositions seront examinées avec le groupe ad hoc sur la biotechnologie et le Docteur Edwards assurera la liaison avec les organisateurs locaux à Melbourne.

10.3. Demande émanant de l'OMS⁸ de donner des instructions aux pays pour le transfert des souches prototypes en cas de pandémie d'influenza aviaire

Un courrier avait été reçu de l'OMS à propos des recommandations de l'OIE et de l'OMS sur le transfert des souches prototypes en cas de pandémie d'influenza aviaire. La Commission reconnaît en principe la préoccupation de l'OMS. L'OMS demandait des avis sur la question de savoir si des tests in vitro pourraient être effectués pour déterminer la nature inoffensive des souches vaccinales prototypes avant leur

⁶ OFFLU : Réseau OIE/FAO pour l'influenza aviaire

⁷ WAVLD : Association mondiale des spécialistes des laboratoires de diagnostic vétérinaire

⁸ OMS : Organisation mondiale de la santé

transfert, ce qui permettrait de poursuivre le travail d'évaluation sans nécessité de procéder à un confinement biologique de haute sécurité. La Commission reconnaît qu'en situation d'urgence, ces tests in vitro sont suffisants sans faire appel à des tests d'inoculation in vivo. L'OMS pourrait produire un texte fournissant des instructions à ses membres.

10.4. Informations les plus récentes sur le VICH⁹ : vérification chez les animaux cibles du non retour à la virulence des vaccins vivants à usage vétérinaire

Un projet VICH de ligne directrice relative à la question susmentionnée a été reçu. Le représentant de l'OIE auprès du VICH aura à comparer les lignes directrices du VICH avec les normes de l'OIE, pour s'assurer de leur harmonisation et de l'absence de contradictions. Le glossaire du VICH sera également comparé à celui contenu dans le *Manuel terrestre* de l'OIE.

10.5. Suivi des questions soulevées lors de la Session Générale : la grippe équine chez les chiens aux États-Unis d'Amérique

En réponse à une question soulevée lors de la Session générale de mai 2006 (paragraphe 337 du Rapport final), les États-Unis d'Amérique avaient fourni des informations à la Commission à propos de la grippe canine. Les cas de maladie sont devenus fréquents aux États-Unis d'Amérique, intéressant tant les lévriers de course que les chiens de compagnie. La souche a été caractérisée comme étant de type H3N8, étroitement apparentée à la grippe équine de même sous-type (*Science* [2005], **310**, p. 482). En septembre 2006, le site web de l'Université de Cornell a fait état de l'existence de 715 prélèvements positifs sur 4306 prélèvements testés (<http://diaglab.vet.cornell.edu/issues/civ.asp>). Les informations sont également disponibles sur www.avma.org/public_health/influenza/default.asp#canine

La Commission pense que la transmission se produit de chien à chien mais il n'y a pas encore de preuve de transmission des chiens aux chevaux ou à d'autres espèces.

10.6. Réunion des Consultants sur le thème « Normes, références et validation » qui se tiendra du 21 au 24 novembre 2006 au siège de l'AIEA à Vienne (Autriche)

Le Docteur Adama Diallo, représentant le Centre collaborateur de l'OIE pour les méthodes ELISA et les techniques moléculaires appliquées au diagnostic des maladies animales, a présenté les sujets qui seront abordés lors de la Réunion des Consultants citée plus haut. La Commission recommande vivement que l'OIE dépêche un de ses collaborateurs afin qu'il participe à cette réunion.

10.7. Dates de la prochaine réunion de la Commission des normes biologiques

La prochaine réunion de la Commission est prévue du 23 au 25 janvier 2007. La réunion suivante est prévue du 25 au 27 septembre 2007.

.../Annexes

⁹ VICH : Coopération internationale sur l'harmonisation des exigences techniques s'appliquant à l'homologation des médicaments vétérinaires

RÉUNION DE LA COMMISSION DES NORMES BIOLOGIQUES DE L'OIE

Paris, 13–15 septembre 2006

Ordre du jour

1. Laboratoires de référence et Centres collaborateurs de l'OIE
2. Standardisation internationale des épreuves de diagnostic et des vaccins
3. Liste des épreuves prescrites et des épreuves de substitution
4. Groupes d'experts, Groupes ad hoc et Groupes de travail
5. Examen des lignes directrices de l'OIE
6. *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres*
7. Registre des épreuves de diagnostic de l'OIE
8. Examen des pages web de l'OIE en relation avec la Commission
9. Relations avec les autres Commissions
10. Questions diverses

RÉUNION DE LA COMMISSION DES NORMES BIOLOGIQUES DE L'OIE
Paris, 13–15 septembre 2006

Liste des participants

MEMBRES

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

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

Dr Medhi El Harrak
(Secrétaire général)
 Chef Département Virologie, BP 4569,
 Avenue Hassan II, km2, Rabat-Akkari
 MAROC
 Tél : (212-37) 69.04.54
 Fax : (212-37) 69.36.32
 elharrak_m@hotmail.com

Dr S.K. Bandhopadhyay
 Department of Animal Husbandry and
 Dairying, Ministry of Agriculture,
 Dr Rajendra Prasad Road, Room No
 234, Krishi Bhavan, New Delhi 110001
 INDE
 Tél : (91-11) 233.84.146
 Fax : (91-11) 233.82.192
 skbandy@email.com

Dr Vladimir Drygin
*(invité mais dans l'impossibilité de
 participer)*
 Federal Service for Veterinary &
 Phytosanitary Surveillance, Federal
 Government Institution, FGI ARRIAH,
 600901 Yur'evets, Vladimir
 RUSSIE
 Tél : (4922) 26 38.77/06.14/19.14
 Fax : (4922) 26 38.77/06.14/19.14
 vdrygin@yandex.ru

AUTRE PARTICIPANT

Dr Peter Wright
 Fisheries and Oceans Canada,
 343 University Avenue, Moncton,
 New Brunswick, NB E1C 9B6
 CANADA
 Tél : (1-506) 851.29.48
 Fax : (1-506) 851.20.79
 WrightPf@DFO-MPO.GC.CA

CENTRE COLLABORATEUR DE L'OIE

Dr Adama Diallo
 FAO/IAEA Centre for ELISA and
 Molecular Techniques in Animal
 Disease Diagnosis International Atomic
 Energy Agency Wagramerstrasse 5,
 P.O. Box 100, A-1400 Vienna
 AUTRICHE
 Tél : (43-1) 2600.28355
 Fax : (43-1) 2600.28222
 a.diallo@iaea.org

**CONSULTANT/RÉDACTEUR DU MANUEL
 TERRESTRE**

Dr James E. Pearson
 4016 Phoenix
 Ames, Iowa 50014
 ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE
 Tel.: (1-515) 292.94.35
 jpearson34@aol.com

BUREAU CENTRAL DE L'OIE

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

Dr Gideon Brückner
 Chef
 Service scientifique et technique
 g.bruckner@oie.int

Dr Elisabeth Erlacher-Vindel
 Adjoint au Chef
 Service scientifique et technique
 e.erlacher-vindel@oie.int

Mme Sara Linnane
 Rédactrice scientifique
 Service scientifique et technique
 s.linnane@oie.int

Mr François Diaz
 Secrétariat chargé de la validation, la
 certification et l'enregistrement des
 épreuves de diagnostic
 Service scientifique et technique
 f.diaz@oie.int

**MANUEL DES TESTS DE DIAGNOSTIC ET DES VACCINS POUR LES ANIMAUX TERRESTRES
(MAMMIFÈRES, OISEAUX ET ABEILLES) DE L'OIE**

Modifications proposées pour la liste des épreuves prescrites et des épreuves de substitution

Maladie	Épreuves prescrites	Épreuves de substitution
Rhinotrachéite infectieuse bovine/ vulvovaginite pustuleuse infectieuse	NV, ELISA, Indentification de l'agent (semence seulement), <u>PCR</u> <u>(semence seulement)</u>	–

ELISA = Méthode de dosage immuno-enzymatique

PCR = Polymerase chain reaction (amplification en chaîne par polymérase)

NV = Neutralisation virale

Texte souligné deux fois = nouvelle proposition.

Texte de taille réduite entre crochets = suppression proposée.

Amplification en chaîne par polymérase en temps réel (épreuve prescrite pour les échanges internationaux)

Cette épreuve d'amplification en chaîne par polymérase en temps réel a été développée pour détecter la présence de l'herpèsvirus bovin de type 1 dans la semence de taureaux diluée en tant qu'épreuve prescrite pour les échanges. La méthode a été validée conformément aux chapitres 1.1.3 et 1.1.4, et a fait l'objet d'une évaluation internationale comparative complète faisant intervenir six laboratoires collaborateurs qui ont un statut de spécialiste du dépistage de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR).

Un certain nombre d'études ont montré que les techniques d'amplification en chaîne par polymérase sont plus sensibles que l'isolement viral (9, 11, 12, 15). L'amplification en chaîne par polymérase en temps réel a été utilisée pour la détection de l'herpèsvirus bovin 1 (BoHV-1) et de l'herpèsvirus bovin 5 (BoHV-5) chez des bovins et des souris expérimentalement infectés (1, 4) et un certain nombre de méthodes de PCR traditionnelle ont été utilisées pour la détection de l'ADN de l'herpèsvirus bovin 1 dans des échantillons de semence de taureaux artificiellement ou naturellement infectée (2, 3, 5, 10, 15, 16). La détection classique des produits de la PCR amplifiés repose sur l'analyse de l'électrophorèse sur gel. Les amorces spécifiques de séquence ont été sélectionnées pour amplifier différentes parties du gène conservé codant pour la glycoprotéine du génome du BHV-1, y compris le gène de la glycoprotéine B (gB) (3, 8), le gène gC (9, 11), le gène gD (9, 15), le gène gE (3), et le gène de la thymidine kinase (tk) (6, 17).

L'amplification en chaîne par polymérase en temps réel diffère de la PCR classique en cela que les produits de la PCR amplifiés sont détectés directement pendant le cycle d'amplification grâce à une sonde d'hybridation qui augmente la spécificité de l'épreuve. Les techniques de PCR en temps réel offrent plusieurs avantages par rapport aux méthodes de PCR traditionnelles. Les méthodes d'amplification en chaîne par polymérase en temps réel utilisant seulement une paire d'amorces peuvent permettre d'obtenir une sensibilité s'approchant ou égalant celle des méthodes de PCR nichée avec un risque de contamination bien plus faible. L'amplification et la détection de la cible sont conduites simultanément. Il n'existe pas de manipulation de produits de PCR après amplification, ce qui réduit considérablement le risque de contamination, et il est possible d'effectuer une analyse quantitative avec les systèmes d'amplification en chaîne par polymérase en temps réel.

La technique d'amplification par polymérase en temps réel décrite ici utilise une paire d'amorces spécifiques de la séquence d'ADN cible à amplifier et une oligosonde 5'-nucléase (TaqMan) pour la détection des produits amplifiés. L'oligosonde est un oligonucléotide spécifique de séquence marqué par deux fluorophores différents dont l'un est quenché par l'autre dit « Reporter », la 5-carboxyfluorescéine (FAM) en 5' et le quencher 6-carboxytetraméthylrhodamine (TAMRA) en 3'. Cette PCR en temps réel vise à détecter l'ADN viral de toutes les souches de BHV-1, y compris les sous-types 1 et 2, provenant de semence de taureaux diluée. La technique amplifie de façon sélective une séquence contenant 97 paires de bases du gène de la glycoprotéine B (gB). Les données détaillées sur les amorces et les sondes sont fournies dans le protocole décrit ci-après.

- **Préparation des échantillons, matériel et réactifs**

- i) Les échantillons utilisés pour l'épreuve sont généralement de la semence de taureaux diluée stockée dans de l'azote liquide. Les échantillons de semence peuvent être transportés vers le laboratoire dans de l'azote liquide ou acheminés à 4°C et stockés dans de l'azote liquide ou bien à -70°C (pour un stockage à long terme) ou à 4°C (pour un stockage à court terme). Le stockage de la semence à 4°C pendant une courte période (7 jours au maximum) ne semble pas avoir d'incidence sur le résultat de l'épreuve PCR.
- ii) Trois pailles provenant de chaque lot de semence à tester doivent être traitées. Les amplifications en chaîne par polymérase doivent être réalisées en double pour chaque préparation d'ADN (six amplifications au total) pour assurer la détection de l'ADN dans des échantillons qui contiennent de faibles concentrations virales.
- iii) Un système de détection par PCR en temps réel et le logiciel d'analyse des données associé sont nécessaires pour réaliser l'épreuve. Un certain nombre de systèmes de détection par PCR sont disponibles à partir de différentes sources. Dans la procédure décrite ci-après, un RotorGene 3000, Corbett Research Ltd, Australie, a été utilisé. D'autres systèmes de détection par PCR en temps réel peuvent également être utilisés. Parmi les autres appareils requis pour la réalisation de l'épreuve figurent une microcentrifugeuse, un bloc de chauffage, un bain d'eau bouillante, un micro-vortex, une barre magnétique et des micropipettes. Les épreuves d'amplification en chaîne par polymérase en temps réel permettent de détecter de très faibles quantités de molécules d'acides nucléiques cibles, et des mesures appropriées sont donc nécessaires pour éviter toute contamination¹.
- iv) L'épreuve de PCR en temps réel décrite ici implique deux procédures opératoires distinctes. Premièrement, l'ADN du BoHV-1 est extrait de la semence à l'aide d'une résine échangeuse d'ions Chelex-100, avec de la protéinase K et du DL-Dithiothreitol (DTT). La deuxième procédure est constituée par l'amplification et la détection du mélange d'ADN extrait par un système de détection PCR en temps réel utilisant un mélange

¹ Les produits résiduels provenant des échantillons positifs ou, plus fréquemment, une contamination croisée par des produits de PCR issus d'expériences précédentes sont des sources de contamination possibles. Échantillons et réactifs doivent être manipulés dans des zones séparées, avec des appareils distincts pour la préparation des réactifs et des échantillons et l'amplification/détection.

réactif pour PCR : Platinum Quantitative PCR SuperMix-UDG, Invitrogen Technologies (noter qu'il existe un certain nombre d'autres kits d'amplification en PCR en temps réel disponibles dans le commerce à partir de différentes sources et que les kits choisis doivent être compatibles avec la plateforme PCR en temps réel sélectionnée). Les amorces et les sondes requises peuvent être synthétisées par différentes entreprises commerciales. Dans le présent protocole, toutes les amorces et sondes utilisées ont été synthétisées par Sigma-Genosys.

- **Extraction de l'ADN**

- i) Dans un tube avec bouchon à vis (1.5 ml), ajouter :

Sodium Chelex 100 (Sigma) (10% p/v dans de l'eau distillée déionisée)	100 µl.
Protéinase K (10 mg/ml, Sigma)	11,5 µl
DL-Dithiothreitol (1 M, Sigma)	7,5 µl
Eau nucléase-free	90 µl
Échantillon de semence	10 µl

 Mélanger doucement en pipetant².
- ii) Les tubes d'échantillons sont incubés à 56°C pendant 30 minutes puis homogénéisés au vortex à grande vitesse pendant 10 secondes.
- iii) Les tubes sont ensuite incubés dans un bain d'eau bouillante pendant 8 minutes puis passés au vortex à grande vitesse pendant 10 secondes.
- iv) Les tubes sont centrifugés à 10 000 **g** pendant 3 minutes.
- v) Le supernatant³ est transféré dans un nouveau microtube et peut être utilisé directement pour la PCR ou être stocké à -20°C en vue de la réalisation de l'épreuve à une date ultérieure.

- **Préparation des réactifs**

Le mélange réactif pour PCR en temps réel (Platinum Quantitative PCR SuperMix-UDG, ou autre mélange réactionnel) est normalement fourni à une concentration x 2 prête à l'emploi. L'application et le stockage doivent être réalisés selon les instructions du fabricant.

Les solutions mères des amorces sont constituées d'eau nucléase-free à une concentration respective de 4,5 µM et 3 µM. La solution mère des amorces et de la sonde sont stockées à -20°C et la solution contenant la sonde doit être conservée à l'abri de la lumière. Des fractions aliquotes à usage unique peuvent être préparées pour limiter la congélation-décongélation des amorces et des sondes et prolonger leur durée de conservation.

- **Procédure de la PCR en temps réel**

- i) Séquences des amorces et de la sonde

Le choix des amorces et de la sonde est décrit défini dans Abril et coll. (2004) et décrit ci-après.

Amorce gB-F : 5'-TGT-GGA-CCT-AAA-CCT-CAC-GGT-3' (position 57499-57519 GenBank®, accession AJ004801)

Amorce gB-R : 5'-GTA-GTC-GAG-CAG-ACC-CGT-GTC-3' (position 57595-57575 GenBank®, accession AJ004801)

Sonde TaqMan : 5'-FAM-AGG-ACC-GCG-AGT-TCT-TGC-CGC-TAMRA-3' (position 57525-57545 GenBank®, accession AJ004801)

- ii) Préparation des mélanges réactifs

Les mélanges réactifs pour PCR sont préparés dans une salle de laboratoire propre. Tous les réactifs, à l'exception des échantillons à tester, sont mélangés avant d'être distribués dans chaque tube à réaction. Pour chaque épreuve PCR, il convient d'inclure des témoins appropriés. Il faut au minimum intégrer un témoin sans matrice (« no template control ») (NTC, réactif seul), des témoins négatifs appropriés, c-à-d 1 pour 10 échantillons à tester et deux témoins positifs (un fort et un faible). Chaque échantillon et chaque témoin est testé en double. Les amplifications PCR sont réalisées dans un volume de 25 µl.

- a) Les mélanges réactifs pour PCR sont ajoutés dans une salle propre (absence de culture virale, les extraits d'ADN et les produits de post-amplification doivent être manipulés ici)

2 × Platinum Quantitative PCR SuperMix-UDG	12,5 µl
colorant ROX de référence (facultatif)	0,5 µl

2 Il est important que le sodium Chelex 100 soit réparti de façon égale dans la solution au moment du pipetage puisque le sodium Chelex 100 n'est pas soluble. Ce résultat peut être obtenu en plaçant le récipient contenant la solution Chelex-100 sur un agitateur magnétique pendant le pipetage.

3 Certains échantillons d'ADN peuvent devenir trouble et une fine membrane de coloration blanche peut parfois se former après congélation et décongélation. Ce phénomène ne semble pas avoir d'influence sur les résultats de la PCR. Il n'est pas nécessaire de chauffer ou re-centrifuger les échantillons.

Amorce Forward (gB-F, 4.5 µM)	1 µl
Amorce Reverse (gB-R, 4.5 µM)	1 µl
Sonde (3 µM)	1 µl
Eau sans Nucléase	4 µl

- b) 5 µl de la matrice ADN sont ajoutés au mélange réactif pour PCR jusqu'à un volume final de 25 µl. Les échantillons d'ADN sont préparés et ajoutés dans une salle séparée.

iii) Réaction en chaîne par polymérase en temps réel (TaqMan)

Les tubes PCR sont placés dans un système de détection de PCR en temps réel, dans une salle séparée de PCR spécialement désignée.

Le système de détection par PCR est programmé comme suit :

Paramètres de la réaction PCR ⁴

Un cycle:	Maintien à 50°C	2 minutes
Un cycle:	Maintien à 95°C	2 minutes ⁵
45 cycles:	Maintien à 95°C	15 secondes
	Maintien à 60°C	45 secondes

iv) Analyse des données de la PCR en temps réel

La valeur seuil est généralement fixée selon les instructions du fabricant pour le logiciel d'analyse utilisé. Une autre solution consiste à soumettre les échantillons de semence dans lesquels l'isolement viral a donné des résultats négatifs et provenant d'animaux ayant des tests sérologiques négatifs à une analyse complète (par ex., jusqu'à 60 cycles d'amplification) pour déterminer la réaction de base associée au système de détection utilisé.

• **Interprétation des résultats**

• **Témoins**

Des témoins positifs et négatifs, ainsi que des réactifs témoins, doivent être inclus dans chaque épreuve PCR. On peut utiliser comme témoin négatif de la semence ayant donné des résultats négatifs issue de taureaux à sérologie négative avec un isolement viral négatif. Il est préférable d'utiliser comme témoin positif de la semence ayant donné des résultats positifs provenant de taureaux naturellement infectés. Toutefois, cette semence peut être difficile à obtenir. On peut également obtenir des témoins positifs à partir de semence négative à laquelle sont ajoutées des quantités connues de virus BoHV-1.

• **Résultats**

Résultat positif : tout échantillon qui présente un Ct (Cycle threshold) (nombre de cycles de PCR pour franchir le seuil) inférieur ou égal à 45 est considéré comme positif. Le Ct du témoin positif doit se situer dans une fourchette acceptable (± 3) tel que précédemment déterminé par les tests de répétabilité.

Résultat négatif : tout échantillon qui ne présente pas de valeur de cycles du seuil (Ct value) est considéré comme négatif. Le témoin négatif et le « no template control » (témoin de la non contamination des réactifs) ne doivent pas présenter de valeur de cycles du seuil.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABRIL C., ENGELS M., LIMAN A., HILBE M., ALBINI S., FRANCHINI M., SUTER M. & ACKERMANN M. (2004). Both viral and host factors contribute to neurovirulence of bovine herpesviruses 1 and 5 in interferon receptor-deficient mice. *J. Virol.*, **78**, 3644–3653.
2. DEKA D., MAITI RAMNEEK N.K. & OBEROI M.S. (2005). Detection of bovine herpesvirus-1 infection in breeding bull semen by virus isolation and polymerase chain reaction. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **24**, 1085–1094.
3. GROM J., HOSTNIK P., TOPLAK I. & BARLIC-MAGANJA D. (2006). Molecular detection of BHV-1 in artificially inoculated semen and in the semen of a latently infected bull treated with dexamethasone. *Vet. J.*, **171**, 539–544.
4. LOVATO L., INMAN M., HENDERSON G., DOSTER A. & JONES C. (2003). Infection of cattle with a bovine Herpesvirus 1 strain that contains a mutation in the latency-related gene leads to increased apoptosis in trigeminal ganglia during the transition from acute infection to latency. *J. Virol.*, **77**, 4848–4857.

4 Ces paramètres de PCR sont basés sur ceux qui sont le mieux adaptés au RotorGene 3000, Corbett Research Ltd, Australie, et peuvent varier en fonction des différentes plateformes de PCR.

5 Les systèmes de polymérase *Taq* de PCR provenant de différentes sources commerciales peuvent nécessiter un temps de dénaturation initiale prolongé (95°C) atteignant 10 minutes. Se conformer aux instructions du fabricant.

5. MASRI S.A., OLSON W., NGUYEN P.T., PRINS S. & DEREGT D. (1996). Rapid detection of bovine herpesvirus 1 in the semen of infected bulls by a nested polymerase chain reaction assay. *Can. J. Vet. Res.*, **60**, 100–107.
 6. MOORE S., GUNN M. & WALLS D. (2000). A rapid and sensitive PCR-based diagnostic assay to detect bovine herpesvirus 1 in routine diagnostic submissions. *Vet. Microbiol.*, **75**, 145–153.
 7. ROLA J., POLAK M. & ZMUDZINSKI J. (2003). Amplification of DNA of BHV 1 isolated from semen of naturally infected bulls. *Bull. Vet. Inst. Pulaway*, **47**, 71–75.
 8. SANTURDE G., SILVA N.D., VILLARES R., TABARES E., SOLANA A., BAUTISTA J.M., CASTRO J.M. & DA SILVA N. (1996). Rapid and high sensitivity test for direct detection of bovine herpesvirus-1 genome in clinical samples. *Vet. Microbiol.*, **49**, 81–92.
 9. SMITS C.B., VAN MAANEN C., GLAS R.D., DE GEE A.L., DIJKSTRAB T, VAN OIRSCHOT J.T. & RIJSEWIJK F.A. (2000). Comparison of three polymerase chain reaction methods for routine detection of bovine herpesvirus 1 DNA in fresh bull semen. *J. Virol. Methods*, **85**, 65–73.
 10. VAN ENGELENBURG F.A.C., MAES R.K., OIRSCHOT J.T., RIJSEWIJK F.A.M. & VAN ENGELENBURG F.A.C. (1993). Development of a rapid and sensitive polymerase chain reaction assay for detection of bovine herpesvirus type 1 in bovine serum. *J. Clin. Microbiol.*, **31**, 3129–3135.
 11. VAN ENGELENBURG F.A.C., VAN SCHIE F.W., RIJSEWIJK F.A.M. & VAN OIRSCHOT J.T. (1995). Excretion of bovine herpesvirus 1 in semen is detected much longer by PCR than by virus isolation. *J. Clin. Microbiol.*, **33**, 308–312.
 12. VILCEK S., NETTLETON P.F., HERRING J.A. & HERRING A.J. (1994). Rapid detection of bovine herpesvirus 1 (BHV 1) using the polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.*, **42**, 53–64.
 13. WAGTER L.H.A., GLAS R.D., BLEUMINK PLUYM N., VAN ENGELENBURG F.A.C., RIJSEWIJK F.A.M. & HOUWERS D.J. (1996). A polymerase chain reaction (PCR) assay for the detection of bovine herpesvirus 1 (BHV1) in selectively digested whole bovine semen. *Vet. Res. Comm.*, **20**, 401–408.
 14. WEIBLEN R., KREUTZ L., CANABOROO T.F., SCHUCH L.C. & REBELATTO M.C. (1992). Isolation of bovine herpesvirus 1 from preputial swabs and semen of bulls with balanoposthitis. *J. Vet. Diag. Invest.*, **4**, 341–343.
 15. WIEDMANN M., BRANDON R., WAGNER P., DUBOVI E.J. & BATT C.A. (1993). Detection of bovine herpesvirus-1 in bovine semen by a nested PCR assay. *J. Virol. Methods*, **44**, 129–140.
 16. XIA J.Q., YASON C.V. & KIBENAGE F.S.B. (1995). Comparison of dot blot hybridization, polymerase chain reaction, and virus isolation for detection of bovine herpesvirus-1 (BHV-1) in artificially infected bovine semen. *Can. J. Vet. Res.*, **59**, 102–109.
 17. YASON C.V., HARRIS L.M., MCKENNA P.K., WADOWSKA, D. & KIBENAGE F.S.B. (1995). Establishment of conditions for the detection of bovine herpesvirus-1 by polymerase chain reaction using primers in the thymidine kinase region. *Can. J. Vet. Res.*, **59**, 94–101.
-

RAPPORT DE LA RÉUNION DU GROUPE AD HOC SUR LA BIOTECHNOLOGIE
Siège de l'OIE, Paris, France, 3–5 avril 2006

Une réunion du Groupe ad hoc de l'OIE sur la biotechnologie s'est tenue du 3 au 5 avril 2006 au siège de l'OIE. La réunion a été présidée par le Professeur Paul-Pierre Pastoret. Le Docteur Cyril G. Gay et le Docteur Eric Schoonejans ont été nommés rapporteurs. L'ordre du jour et la liste des participants figurent respectivement dans les annexes I et II.

Le Groupe ad hoc a été accueilli par le Docteur Bernard Vallat, Directeur général de l'OIE, qui a souligné que l'OIE avait pour principal mandat d'améliorer la santé animale dans le monde grâce à la mise en œuvre des normes internationales qui sont publiées par l'OIE. Il a indiqué que l'OIE reconnaît la nécessité d'élaborer une conception et une définition communes de la biotechnologie pour les besoins de la santé animale¹. Il a identifié trois domaines d'action prioritaires que devra viser le Groupe ad hoc dans le domaine de la biotechnologie :

1. *Le rôle de la biotechnologie* : le Docteur Vallat a souligné la nécessité de disposer d'outils plus performants destinés à améliorer la santé et le bien-être des animaux (vaccins, médicaments, etc.) ; par exemple, le recours au génie génétique et aux OVM² pour le développement de nouveaux vaccins et médicaments. Ces outils ont été définis comme des enjeux essentiels pour la réalisation du mandat de l'OIE ;
2. *L'innocuité des animaux clonés et transgéniques* : lors de la 73^{ème} Session générale de l'OIE en 2005, le Comité international de l'OIE a adopté une Résolution sur la biotechnologie, après la présentation du Thème technique présenté par la Docteure Anne McKenzie, dans lequel elle a également traité de l'innocuité des OGM³/animaux clonés. Le Docteur Vallat a souligné la nécessité de prendre en compte la Résolution dans le contexte de la santé animale et de la santé publique, mais pas dans le contexte de la sécurité sanitaire des aliments, dans la mesure où celle-ci s'inscrit dans le cadre du mandat confié au Codex Alimentarius et d'un autre Groupe de travail d'experts au sein de l'OIE.
3. La nécessité d'élaborer des lignes directrices relatives aux domaines de recherche prioritaires en biotechnologie appliquée à la santé et au bien-être des animaux qui pourraient être transmises aux décideurs et aux organismes de financement.

Un certain nombre d'autres points ont également été traités dans le cadre de la discussion avec le Docteur Vallat :

1. Conservation des espèces animales/problèmes écologiques, y compris utilisation éventuelle de la biotechnologie pour le contrôle biologique des espèces invasives et la conservation des ressources zoogénétiques ;
2. La sécurité sanitaire des aliments pour animaux, y compris les aliments GM⁴, dans le contexte de la santé animale s'inscrit clairement dans le cadre du mandat confié à l'OIE.
3. La validation des tests de diagnostic, notamment l'engagement pris par l'OIE d'élaborer des normes ainsi que la certification des tests de diagnostic et la qualité des vaccins.

¹ Le projet de tableau comparatif du "glossaire terminologique" des organisations internationales, préparé pour la consultation FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture) sur la biosécurité au sein d'un système biosécuritaire, a été présenté comme document de référence permettant d'illustrer la nécessité de mieux harmoniser les définitions et la terminologie utilisées parmi les différentes organisations internationales.

² OVM : organismes vivants modifiés

³ OGM : organismes génétiquement modifiés

⁴ GM : génétiquement modifié

4. Les insectes doivent être pris en compte dans le cadre du mandat de l'OIE mais le recours à la biotechnologie pour lutter contre les vecteurs de maladies (maladies transmises par des vecteurs) ne devra être envisagé qu'après avoir traité les priorités principales ;
5. La question des animaux de compagnie a été soulevée compte tenu de l'existence actuelle d'animaux de compagnie transgéniques, y compris de poissons transgéniques. Le Groupe a été informé du fait que l'OIE traitera la question des risques de santé animale associés au commerce international des animaux de compagnie dans le cadre de son programme de travail.

1. Discussion sur le projet de mandat

Le projet de mandat et l'organisation du travail sont examinés et il est décidé d'identifier des sous-groupes chargés de sujets spécifiques au sein du Groupe ad hoc. Il est confirmé que le Groupe ad hoc aidera l'OIE à préparer des lignes directrices générales/fondamentales qui pourraient devenir plus spécifiques dans des cadres nationaux.

Le Groupe aurait pour objectif initial d'identifier les questions qui doivent être prises en considération dans l'élaboration des lignes directrices pour tous les types de vaccins et les biotechnologies de la reproduction animale.

Le Groupe ad hoc accepte d'éviter les travaux faisant double emploi avec ceux déjà entrepris par d'autres instances ou organismes (par ex., VICH⁵, IETS⁶, Codex Alimentarius). Les travaux importants réalisés par d'autres organisations internationales sont constatés par rapport au mandat, notamment :

- les lignes directrices de l'EMEA⁷ sur les vaccins à ADN ;
- l'état d'avancement des travaux sur les tests de diagnostic menés par l'AIEA⁸ basée à Vienne pour évaluer les tests de diagnostic au stade du produit final (jugé comme étant essentiel pour le commerce des animaux et l'OIE) ;
- les travaux antérieurs de l'atelier de l'OCDE⁹ sur les vaccins vivants recombinants ;
- les discussions du Codex Alimentarius sur la sécurité sanitaire des aliments issus de la biotechnologie et les vaccins à ADN.

L'analyse des risques en matière de répercussions sur l'environnement et/ou la diversité biologique, les questions horizontales telles que le bien-être animal, l'opinion publique et les questions éthiques sont également identifiées comme des considérations importantes.

Le projet de mandat est entériné, avec une seule correction apportée au quatrième tiret, à savoir l'ajout des mots « **et le développement** » après la référence à la recherche.

2. Discussion sur la Résolution n° XXVIII dans le but d'identifier les domaines d'action prioritaires et d'élaborer un programme de travail

La Résolution est examinée et il est constaté qu'elle ne peut pas être amendée.

Le Groupe conclut qu'il faut entendre que « recherche » cité dans la priorité 1 de la Résolution XXVIII et dans le mandat couvre la recherche et le développement.

La priorité numéro 7 (nanosciences/nanotechnologie) et la nécessité de commencer par les travaux sur les nanosciences en rapport avec la santé animale est le sujet d'une discussion plus approfondie. Le Groupe ad hoc identifie la nécessité d'une définition de nanoscience/nanotechnologie dans le contexte de la santé animale. Il est fait référence à la nanotechnologie dans le cadre des travaux de l'ISO¹⁰ et aux activités en cours de recherche et développement en matière de nanotechnologies dans différents pays tels que le Canada et la France. Des documents d'information générale sur les nanotechnologies sont fournis au Groupe^{11,12}.

⁵ VICH : Coopération internationale sur l'harmonisation des exigences techniques s'appliquant à l'homologation des médicaments vétérinaires

⁶ IETS: International Embryo Transfer Society (Société internationale de transfert d'embryons)

⁷ EMEA : The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (Agence européenne du médicament)

⁸ AIEA : Agence internationale de l'énergie atomique

⁹ OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques

¹⁰ ISO: International Organization for Standardization (Organisation internationale de normalisation)

¹¹ Colvin V.L. (2003). The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnology*, **21**, 1166–1170.

¹² Hoet P.H.M., Brüske-Hohlfeld I. & Salata O. (2004). Nanoparticles – known and unknown health risks. *J. Nanobiotechnology*, **2**, 12.

Le Groupe ad hoc recommande qu'un séminaire/atelier sur les nanotechnologies soit convoqué, en tant qu'exercice d'évaluation de la situation, en coopération avec d'autres organisations intéressées telles que la FAO¹³, l'OMS¹⁴, l'AIEA et en particulier avec les trois organismes de normalisation : l'OIE, le Codex Alimentarius et la CIPV¹⁵.

Il est noté que la Résolution ne traite ni spécifiquement de la sécurité sanitaire des aliments pour animaux issus de la biotechnologie ou de la « biotechnologie moderne » ni explicitement des animaux exclus du cadre de la production.

Les travaux de la FAO et de la CIPV sur les insectes transgéniques en tant qu'agents de lutte contre les ravageurs des végétaux, de même que l'analyse des risques phytosanitaires liés aux insectes génétiquement modifiés ont été notés.

3. Rapport de mission sur la Consultation d'experts FAO sur la biosécurité au sein d'un système biosécuritaire : questions soulevées lors de cette consultation susceptibles d'être traitées par ce Groupe ad hoc

La Docteure Anne MacKenzie a présenté son rapport écrit sur sa participation à la consultation FAO sur la biosécurité au sein d'un système biosécuritaire¹⁶ (Rome, Italy, 28 février au 3 mars 2006).

Trois domaines pour lesquels la consultation a estimé que l'OIE pourrait mener des activités compte tenu de leur lien avec la santé animale ont été mis en avant en raison de leur rapport avec l'élaboration de normes, lignes directrices et recommandations :

1. Les animaux transgéniques et clonés (y compris les poissons et les insectes)
2. Les vaccins à base d'organismes vivants modifiés destinés aux animaux
3. La sécurité sanitaire des aliments transgéniques pour animaux

Un certain nombre de problèmes autres que ceux décrits dans le rapport écrit ont été transmis au Groupe :

- La nécessité d'une coopération et d'une coordination entre les différentes autorités dans ce contexte, comme indiqué dans le paragraphe 309 du document de référence fourni à la consultation FAO et aux membres du Groupe ad hoc.
- La demande exprimée à l'OIE et la nécessité que l'OIE prenne en compte la santé animale dans le contexte de l'évaluation de l'impact écologique, en particulier dans le cadre des écosystèmes intégrés, et l'évaluation de l'impact des nouvelles biotechnologies sur la santé des animaux dans la nature et faisant partie des écosystèmes. Ce domaine a des applications dans l'élaboration des méthodes visant à limiter ou gérer la migration génétique.
- L'occasion d'établir un lien entre la mise en œuvre du cadre contraignant à l'échelle internationale du Protocole de Carthagène sur la biosécurité, et les mesures qui y sont adoptées, ainsi que les compétences techniques et les travaux de l'OIE en matière de santé animale ou de vaccins vivants dans le cadre de la biosécurité.
- Les travaux actuels sur la création d'un cadre national de biosécurité au sein de 120 pays et plus, essentiellement sous les auspices des ministères de l'environnement et le financement international de l'application des accords sur l'environnement mais en l'absence de compétences appropriées en matière de santé animale, et la nécessité d'intégrer les conseils de l'OIE dans ces initiatives nationales actuelles.

Le Groupe note, avec une référence spécifique aux deux derniers points, que les animaux transgéniques et les vaccins vivants issus de la « biotechnologie moderne » devraient être couverts par les systèmes nationaux de biosécurité actuellement créés dans de nombreux pays, relèvent du protocole de biosécurité et seront bientôt pris en compte dans son programme de travail.

¹³ FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

¹⁴ OMS : Organisation mondiale de la santé

¹⁵ CIPV : Convention internationale pour la protection des végétaux

¹⁶ Le terme « Biosécurité » est ici à rapprocher de la définition de la FAO de la Biosécurité alimentaire et agricole, telle que définie par la Consultation technique de la FAO sur la gestion du risque biologique dans la production agricole et vivrière (Bangkok, janvier 2003).

Le Groupe est d'accord sur la nécessité de traiter également de l'évaluation des facteurs liés à l'environnement/des questions écologiques en rapport avec la santé animale, par exemple dans le cas des vaccins vivants ou des animaux transgéniques. D'autres sujets à venir, comme les insectes ou les poissons transgéniques, ont également été mentionnés, les poissons étant une question importante que le Groupe ad hoc devra aborder dans le cadre de ses travaux futurs.

La question de l'évaluation de l'innocuité de la vaccination et des vaccins destinés à la faune sauvage (médecine préventive) est prise en compte. Dans ce contexte, le Groupe conclut qu'il faut recommander d'évaluer, dans le cas de la faune sauvage, pas seulement l'innocuité mais aussi l'efficacité.

4. Discussion sur les activités futures du Groupe ad hoc sur la biotechnologie et la répartition des tâches aux sous-groupes

À l'appui du mandat, le Groupe ad hoc a convenu de créer trois sous-groupes :

Sous-Groupes

1 : Biotechnologies de la reproduction animale (animaux clonés et transgéniques, tant terrestres qu'aquatiques)

Membres

Lino Baranao
Wendelyn Jones
Bruce Whitelaw
Michel Thibier
Harpreet Kochhar

2 : Vaccins

Yiseok Joo
Lorne Babiuk
Oscar Burrone
Hiroshi Yoshikura
Sandor Belak
Paul-Pierre Pastoret
Cyril Gay
Anne MacKenzie

3 : Nanotechnologie

Anne MacKenzie
Michel Thibier
Harpreet Kochhar

La question de la xénotransplantation n'étant pas ressentie comme prioritaire et en l'absence de nécessité impérieuse de la traiter dans un avenir immédiat, le Groupe ad hoc décide de la laisser pour l'instant de côté.

Tâches confiées aux sous-groupes 1 et 2

Le Groupe ad hoc confie aux sous-groupes 1 et 2 les tâches suivantes : identifier les paramètres applicables à l'analyse de risque (appréciation du risque, gestion du risque, communication sur les risques), y compris l'analyse du rapport risque/bénéfice, pour les domaines suivants :

1. Santé animale ;
2. Sécurité de l'environnement ;
3. Sécurité sanitaire des aliments pour la consommation humaine et animale dans le contexte/la spécificité du mandat de l'OIE.

Les implications commerciales et les questions horizontales (par ex., bien-être animal, opinion publique, questions éthiques) sont également identifiées comme des tâches de ces deux sous-groupes.

Les discussions portant sur la nécessité d'une orientation pour traiter les questions éthiques dans un cadre rationnel (en appliquant une méthodologie scientifique) ont abouti au recensement des travaux et publications importants dans ce domaine^{17, 18}.

¹⁷ Kaiser M. (2005). Assessing ethics and animal welfare in animal biotechnology for farm production. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, **24**, 75–85.

¹⁸ FAO/OMS (2003). Safety assessment of foods derived from genetically modified animals, including fish. Report of the FAO/OMS Expert Consultation. FAO, Rome, Italie, 17–21 novembre 2003, p. 22.

La question de l'analyse du rapport coût/bénéfice est notée, étant entendu que l'analyse de risque est mise en œuvre dans un contexte mondial, y compris pour les risques liés à la non utilisation d'une technologie ou d'un produit. Il est décidé d'inscrire l'analyse du rapport risque/bénéfice dans le cadre de l'analyse du risque.

Le Groupe ad hoc sur la biotechnologie s'est réuni dans le cadre de deux séances en petits groupes qui se sont tenues en parallèle l'après-midi du deuxième jour, pour mieux définir les tâches et le mandat des deux sous-groupes sur les Biotechnologies de la reproduction animale, et sur les vaccins.

Sous-Groupe 1 : Biotechnologies de la reproduction animale (animaux clonés et transgéniques, tant terrestres qu'aquatiques)

Le Groupe ad hoc examine le mandat du sous-groupe 1. Le travail de collaboration de l'IETS et de l'OIE est souligné, avec une référence aux questions d'insémination, de FIV¹⁹ et de transfert d'embryons, ces deux questions ayant été couvertes, de même qu'à la question de la production d'embryons in vitro, pour laquelle les travaux sont en cours, et des animaux clonés et transgéniques, qui nécessitent la réalisation de travaux supplémentaires.

En ce qui concerne la sécurité sanitaire des aliments pour la consommation humaine et animale, il est fait référence aux liens avec le mandat et les travaux actuels du Codex Alimentarius sur la sécurité sanitaire des aliments issus de la biotechnologie, de même qu'aux travaux de l'OCDE sur l'évaluation de l'innocuité des aliments génétiquement modifiés pour animaux.

Pour ce qui est de la référence au « transfert nucléaire de cellules somatiques », il est noté que « les cellules souches », y compris les cellules extraites d'embryons, peuvent ne pas être prises en compte.

Les questions horizontales, telles que le bien-être animal, l'opinion publique, doivent être prises en compte.

Pour ce qui est des techniques de la reproduction (notamment le clonage, la transgénèse et d'autres types de techniques de la reproduction) et des échanges commerciaux, les travaux de l'IETS sont examinés. Les discussions sur les aspects commerciaux ont permis de reconnaître la nécessité de couvrir les échanges d'embryons, d'animaux eux-mêmes, de même que de la descendance (et des produits d'origine animale).

Enfin, il est noté que les nouvelles technologies animales, telles que la génomique, la sélection assistée par des marqueurs, etc., doivent aussi être couvertes dans le cadre du mandat du Sous-groupe 1.

Les recommandations du Groupe ad hoc sur l'élaboration de lignes directrices sur la biotechnologie axées sur les Biotechnologies de la reproduction animale ont été entérinées. Elles sont reproduites à l'annexe III.

Sous-Groupe 2 : Vaccins

En ce qui concerne les travaux futurs portant sur les vaccins vivants et atténués, le Groupe ad hoc convient de la nécessité de prendre en compte ce qui suit :

1. Questions liées à l'environnement ; nombre et désignation des espèces sauvages à tester en tant qu'espèces non cibles ;
2. Recours à la médecine préventive (innocuité et efficacité) ;
3. Comment appliquer la règle des trois R²⁰ replace, reduce, refine (remplacer, réduire, raffiner).

En ce qui concerne l'évaluation de l'innocuité des vaccins et la nécessité d'utiliser des tests appropriés, il est recommandé que soit prise en compte la règle des trois R.

Le sous-groupe chargé des vaccins se voit également confier les questions de médecine préventive, notamment l'aspect lié à la sécurité environnementale de l'analyse des risques. Le Groupe de travail se voit aussi attribuer la tâche consistant à identifier les principes directeurs de l'application appropriée de la règle des trois R.

Les Recommandations du Groupe ad hoc pour l'élaboration de Lignes directrices sur la biotechnologie axées sur les vaccins sont entérinées et sont reproduites à l'annexe IV.

¹⁹ FIV : fécondation in vitro

²⁰ Association internationale pour les produits biologiques (IABs) (2002). *Advancing Science and Elimination of the Use of Laboratory Animals for Development and Control of Vaccines and Hormones*, Brown F., Hendricksen C., Sesardic D. & Cussler K., eds. *Developments in Biologicals*, vol. 111, Karger, Basel, Switzerland.

Sous-groupe 3 : Nanotechnologie

Pour ce sous-groupe, qui est chargé de la préparation d'un séminaire de collecte des informations sur la nanotechnologie, il est décidé que la question abordée serait l'utilisation potentielle des nanotechnologies et des nanosciences en rapport avec la santé et le bien-être des animaux. Il serait utile qu'un séminaire soit organisé conjointement avec la FAO, l'AIEA, l'OMS, le Codex Alimentarius et la CIPV. Il est décidé que les informations ne sont pas encore suffisantes pour proposer des recommandations et que l'objectif du séminaire serait donc axé sur l'information, associée à la collecte et à l'évaluation des données existantes susceptibles ensuite de donner lieu à des propositions ou recommandations relatives aux travaux futurs sur les nanotechnologies au sein des trois organisations internationales de normalisation suivantes : OIE, Codex Alimentarius et CIPV. Le séminaire aurait pour principales tâches d'identifier ce qui suit :

1. Les applications des nanotechnologies aux aliments, aux animaux et aux végétaux (ce qui doit être traité) ;
2. La nécessité d'élaborer des normes, y compris d'apprécier les risques (comment traiter la question) ;
3. Un plan d'action pour le futur (qui traiterait la question).

5. Examen du projet de chapitre du *Manuel terrestre* de l'OIE sur les principes de la production des vaccins à usage vétérinaire

Le projet de chapitre est examiné et dûment modifié. Outre les commentaires spécifiques concernant le texte, les recommandations générales suivantes sont formulées :

1. Les principes applicables à la sécurité et à l'efficacité des souches mères doivent être pris en compte sous forme de ligne directrice.
2. L'OIE doit évaluer la pertinence et le degré d'applicabilité de la définition de "biotechnologie moderne" telle que fournie dans le Protocole de Carthagène et adoptée par le Codex Alimentarius. Le Groupe ad hoc sur la biotechnologie conclut que la définition de « biotechnologie moderne » n'est pas appropriée pour couvrir totalement la question des vaccins recombinants. Telle qu'elle est rédigée, la définition de « biotechnologie moderne » présentée dans le Protocole de Carthagène ne concorde pas avec la définition d'un vaccin recombinant : ... « *l'application de techniques in vitro aux acides nucléiques, notamment la recombinaison de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'introduction directe d'acides nucléiques dans des cellules ou des organites, ou...* ».
3. Il faut, autant que faire se peut, exploiter les données post-marketing de vaccinovigilance pour mieux évaluer l'efficacité du vaccin.
4. La stabilité génétique du vaccin atténué doit être prise en compte.
5. La section sur la « Classification des vaccins issus des biotechnologies » doit être modifiée en transférant les vaccins à ADN de la Catégorie III à la Catégorie I.
6. La Commission des normes biologiques doit envisager l'adoption de lignes directrices pour l'analyse des risques des vaccins vivants recombinants²¹.
7. La prise en compte de la règle des trois R est préconisée.
8. Le Groupe ad hoc aurait besoin de plus de temps pour examiner la pertinence et les modalités de la prise en compte par les lignes directrices de l'OIE ou par d'autres accords existants, bilatéraux ou multilatéraux pouvant être appuyés par l'OIE, de la manipulation, du transport, du conditionnement et de l'identification (étiquetage) des vaccins vétérinaires issus d'organismes vivants modifiés dans le contexte des échanges transfrontaliers tels que stipulés dans le Protocole de Carthagène (article 18).

6. Le Symposium « La génomique animale au service de la santé animale »

Le Groupe examine la finalité et les objectifs du Symposium sur la génomique animale prévu en octobre 2007. Les connaissances résultant des programmes de santé humaine et des études sur le génome de modèles animaux offrent de nouvelles opportunités dans le domaine de la santé animale et de la prophylaxie, ainsi que de la sélection assistée par des marqueurs. Le symposium a pour objectif principal de réunir les deux communautés (i) des experts de différentes maladies et (ii) des experts en matière de génome pour examiner la disponibilité de nouveaux outils

²¹ Gay C.G. (1994). A Risk Analysis Model for Experimental Veterinary Vaccines. *Biotechnology*, **11**, 826–827; Gay C.G. (1997). Risk Analysis for Veterinary Biologics. In: Veterinary Vaccinology, Pastoret P.-P., Blancou J., Vannier P. & Verschueren C., eds. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, The Netherlands, 718–725; Roth H.J., & Gay C.G. (1997). Specific Safety Requirements for Products Derived from Biotechnology. In: Veterinary Vaccinology, Pastoret P.-P., Blancou J., Vannier P. & Verschueren C., eds. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, The Netherlands, 226–239.

génomiques visant à étudier les maladies animales. Le symposium offrira également l'occasion d'identifier et de renforcer les possibilités de financement de la recherche dans ce nouveau domaine et de favoriser la collaboration à l'échelle internationale. La capacité d'intégrer la génomique des agents pathogènes aux réponses des hôtes au niveau moléculaire représentera une perspective majeure.

L'ordre du jour proposé pour le symposium est approuvé par le Groupe ad hoc et figure à l'annexe V.

Le Groupe ad hoc formule les recommandations supplémentaires suivantes :

- Le symposium doit être axé sur la science.
- On pourrait identifier de nouveaux membres susceptibles d'apporter des contributions importantes pour enrichir le comité de pilotage.
- Le nombre de membres du comité scientifique doit être limité à une quinzaine.
- La FAO, l'OMS, etc., doivent être informés par le Bureau central de l'OIE.
- Des brochures publicitaires annonçant le symposium doivent être préparées.

Le Groupe ad hoc sera tenu informé de l'état d'avancement de l'organisation du symposium.

7. Rapport du Groupe de travail de l'OIE sur la sécurité sanitaire des aliments d'origine animale pendant la phase de production : questions soumises à l'examen du Groupe ad hoc

Le Groupe ad hoc examine les recommandations importantes du Groupe de travail sur la sécurité sanitaire des aliments d'origine animale pendant la phase de production :

- a) Le Groupe de travail sur la biotechnologie a débattu de la pertinence de la définition du terme « biotechnologie » et « biotechnologie moderne » aux fins de la santé animale. Les membres sont également informés de l'issue de discussions similaires qui ont eu lieu dans le cadre de la consultation récente de la FAO sur la biosécurité au sein d'un système biosécuritaire. Cette question est transmise au Groupe ad hoc sur la biotechnologie pour approfondissement.
- b) La recommandation du Groupe de travail sur la sécurité sanitaire des aliments d'origine animale pendant la phase de production visant à distinguer les deux questions suivantes, à savoir « les critères d'évaluation de la santé des embryons et des animaux de production » et « l'élaboration de lignes directrices pour l'exclusion des animaux non agréés » est également confiée au sous-groupe 1 (Biotechnologies de la reproduction animale) en vue d'un examen plus approfondi.
- c) Le Groupe ad hoc sur la biotechnologie approuve la recommandation du Groupe de travail sur la sécurité sanitaire des aliments d'origine animale pendant la phase de production. Il fait remarquer qu'il avait auparavant accepté de traiter de questions horizontales telles que celles-ci dans le cadre des activités des groupes de travail chargés des « Biotechnologies de la reproduction animale » et des « vaccins ».
- d) Le Groupe ad hoc sur la biotechnologie approuve la recommandation du Groupe de travail sur la sécurité sanitaire des aliments d'origine animale pendant la phase de production, en notant en particulier le discours du Directeur général de l'OIE sur le mandat de l'OIE en matière de sécurité sanitaire des aliments, et ses limites par rapport au mandat du Codex Alimentarius.
- e) Le Groupe ad hoc sur la biotechnologie accepte d'examiner les aspects éthiques de la biotechnologie moderne. Le Groupe ad hoc recommande que l'OIE se penche sur les aspects éthiques de la biotechnologie qui sont en rapport avec la santé et le bien-être des animaux. Toutefois, le Groupe ad hoc aurait besoin de s'adjoindre des compétences supplémentaires dans ce domaine pour pouvoir mener cette tâche à bien.

8. Recommandations relatives au futur programme de travail du Groupe ad hoc

- Lors de sa prochaine réunion, le Groupe ad hoc commencera par définir le champ d'application et les définitions de la biotechnologie en rapport avec le mandat de l'OIE. Les membres du Groupe ad hoc présenteront le fruit de leurs travaux à l'OIE avant la prochaine réunion.

Annexe IV (suite)

- Il est proposé qu'un séminaire sur les nanotechnologies soit inscrit dans le programme de travail du Groupe ad hoc. Les justifications de cette proposition seront transmises à la Commission des normes biologiques.
- Des Lignes directrices sur les biotechnologies de la reproduction animale seront préparées pour être examinées lors de la prochaine réunion. Un premier projet, élaboré par deux membres du Groupe, sera adressé aux membres du Groupe ad hoc au plus tard 1 mois avant la date de la prochaine réunion.
- Une des actions prioritaires identifiées par le Groupe ad hoc consiste à examiner les textes actuels de l'OIE sur les vaccins à usage vétérinaire dans le contexte des recommandations formulées par le Groupe ad hoc. Un projet de proposition sera diffusé aux membres du Groupe ad hoc au plus tard 1 mois avant la prochaine réunion.
- La tenue de la prochaine réunion du Groupe ad hoc est prévue les 30 et 31 octobre 2006.

.../Annexes

RÉUNION DU GROUPE AD HOC DE L'OIE SUR LA BIOTECHNOLOGIE

Siège de l'OIE, Paris, France, 3–5 avril 2006

Ordre du jour

1. Discussion sur le projet de mandat
 2. Discussion sur la Résolution n° XXVIII dans le but d'identifier les domaines d'action prioritaires et d'élaborer un programme de travail
 3. Rapport de mission du Docteur MacKenzie sur la Consultation d'experts FAO sur la biosécurité au sein d'un système biosécuritaire : questions soulevées lors de cette consultation susceptibles d'être traitées par ce Groupe ad hoc
 4. Discussion sur les activités futures du Groupe ad hoc sur la biotechnologie et la répartition des tâches entre les sous-groupes
 5. Examen du projet de chapitre du *Manuel terrestre* de l'OIE sur les principes de la production des vaccins à usage vétérinaire
 6. Le Symposium « La génomique animale au service de la santé animale »
 7. Rapport du Groupe de travail de l'OIE sur la sécurité sanitaire des aliments d'origine animale pendant la phase de production : questions soumises à l'examen du Groupe ad hoc
 8. Recommandations relatives au futur programme de travail du Groupe ad hoc
-

RÉUNION DU GROUPE AD HOC DE L'OIE SUR LA BIOTECHNOLOGIE

Siège de l'OIE, Paris, France, 3–5 avril 2006

Liste des participants

MEMBRES

Pr Paul-Pierre Pastoret

(Président)
7, rue de la Clissure, B-4130 Fontin
(Esneux)
BELGIQUE
Tél : (32-4) 380.30.59
Mobile : (32-496) 95.02.87
Fax : (32-4) 35.51.14.47
E-mail : paul-pierre.pastoret@skynet.be
paul-pierre.pastoret@scarlet.be

Pr Michel Thibier

Directeur général de l'Enseignement et de la
recherche, Ministère de l'agriculture, de
l'alimentation, de la pêche et des affaires
rurales, 1 ter avenue de Lowendal, 75700
Paris 07 SP
FRANCE
Tél : 33 (1) 49.55.42.40
Fax : 33(1) 49.55.46.36
E-mail : michel.thibier@diplomatie.gouv.fr

Pr Sándor Belak

National Veterinary Institute,
751 89 Uppsala
SUÈDE
Tél : (46-18) 67.41.35
Fax : (46-18) 67.46.69
E-mail : sandor.belak@sva.se

Dr Bruce Whitelaw

Roslin Institute, Division of Gene Function
and Development, Midlothian EH25 9PS,
Scotland
ROYAUME-UNI
Tél : (44-131) 527.42.00
Fax : (44-131) 440.04.34
E-mail : bruce.whitelaw@bbsrc.ac.uk

Dr Anne MacKenzie

Canadian Food Inspection Agency
59 Camelot Drive, Ottawa,
Ontario K1A 0Y9
CANADA
Tél : (1-613) 221.70.84
Fax : (1-613) 221.70.10
E-mail : amackenzie@inspection.gc.ca

Dr Harpreet Kochhar

Canadian Food Inspection Agency
Animal Biotechnology Unit
VBS, AHPD 59 Camelot Dr.
Ottawa. K1A 0Y9,
CANADA
Tél : (1-613) 225-2342 ext. 7568
Fax : (1-613) 228-6612
E-mail :
hkochhar@inspection.gc.ca

Dr Lorne A. Babiuk

Director & CEO, Vaccine & Infectious
Disease Organization, 120 Veterinary
Road, Saskatoon, Saskatchewan S7N 5E3
CANADA
Tél : (1-306) 966.74.75
Fax : (1-306) 966.74.78
E-mail : lorne.babiuk@usask.ca

Dr Cyril Gerard Gay

National Program Leader, USDA, 5601
Sunnyside Avenue, Beltsville, MD 20705
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE
Tél : (1-301) 504.47.86
Fax : (1-301) 504.54.67
E-mail : cgg@ars.usda.gov

Dr Julian B. Jaftha (Absent)

Senior Manager, Genetic Resources
Manager, Department of
Agriculture, 0001 Pretoria
AFRIQUE DU SUD
Tél : (27-12) 319.60.24
Fax : (27-12) 319.63.29
E-mail : smgrm@nda.agric.za

Dr Yiseok Joo

Director of Foreign Animal Disease
Division, National Veterinary Research
and Quarantine Service (NVRQS)
Ministry of Agriculture and Forestry
(MAF), 480 Anyang-6-dong
Anyang, # 430-824
CORÉE (RÉPUBLIQUE DE)
Tél : (82-31) 467-1855
Fax : (82-31) 449-5882
E-mail : jooy@s@nvrqs.go.kr

Dr Hiroshi Yoshikura

Chairman, Codex Ad Hoc Intergovernmental
Task Force on Food Derived from
Biotechnology, Food Safety Division,
Ministry of Health Labour and Welfare, 1-2-2
Kasumigaseki Chiyoda-ku, Tokyo 100-8916
JAPON
Tél : (81-3) 35.95.21.42/52.53.11.11
Fax : (81-3) 35.03.79.65
E-mail : yoshikura-hiroshi@mhlw.go.jp

Dr Oscar Burrone

Head of the Molecular Immunology
Laboratory, International Centre for
Genetic Engineering and
Biotechnology (ICGEB),
Padriciano 99, 34012 Trieste
ITALIE
Tél : (39-040) 375.73.14
Fax : (39-040).22.65.55
E-mail : burrone@icgeb.org

Dr Lino Baranao

Presidente de la Agencia Nacional de
Promoción Científica y Tecnológica
Av. Córdoba 831, 1º piso, Buenos Aires
ARGENTINE
Tél : (54.11) 43.11.96.50
Fax : (54.1) 43.11.96.50
E-mail : lbaranao@agencia.secyt.gov.ar

Dr Wendelyn Jones

USDA/APHIS/BRS, International
Biotechnology Policy, 4700 River Road, Unit
146, Riverdale, MD 20737
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE
Tél : (1-301) 734.56.89
Fax : (1-301) 734.31.35
E-mail : wendelyn.r.jones@aphis.usda.gov

AUTRE PARTICIPANT

Dr Eric Schoonejans

83 Boulevard Auguste Blanqui

75013 Paris

FRANCE

Tél : 06 22 39 95 66

E-mail : ericschoonejans@yahoo.fr ;

eric.schoonejans@paris.inra.fr

BUREAU CENTRAL DE L'OIE

Dr Bernard Vallat

Directeur général

12 rue de Prony, 75017 Paris

FRANCE

Tél : 33 - (0)1 44 15 18 88

Fax : 33 - (0)1 42 67 09 87

E-mail : oie@oie.int

Dr Gideon Bruckner

Chef du Service scientifique et
technique

E-mail : g.bruckner@oie.int

Dr Elisabeth Erlacher-Vindel

Adjoint au Chef du Service scientifique et
technique

E-mail : e.erlacher-vindel @oie.int

Mme Sara Linnane

Secrétaire de rédaction scientifique

Service scientifique et technique

E-mail : s.linnane@oie.int

Recommandations du Groupe ad hoc pour la préparation de lignes directrices sur la biotechnologie axées sur les biotechnologies de la reproduction animale

1. Afin de résoudre le problème de la limitation du champ couvert par la définition actuelle de « biotechnologie moderne », en incluant les animaux issus des techniques transgéniques mais pas du clonage, la définition de « biotechnologies de la reproduction animale » est proposée comme suit : « la production d'animaux grâce à l'utilisation des TRA³⁶ impliquant des méthodes d'accouplement non naturelles ».
2. La méthode appliquée à l'analyse des risques pourrait être subdivisée en catégories selon le principe du cycle de vie qui suit le schéma suivant :
 - a) embryons
 - b) receveur
 - c) descendance
 - d) progéniture des animaux clonés

Les quatre entités restent la base d'examen du clonage et de la transgénèse (le cas échéant). En outre, les questions liées à chaque entité doivent être analysées dans le cadre de différentes rubriques : santé animale, environnement, problèmes liés à l'alimentation animale, questions commerciales et questions horizontales.

3. Risques zoonosaires associés aux entités suivantes :
 - a) Embryons : le choix des cellules donneuses est crucial dans les techniques de clonage. C'est pourquoi les lignes directrices sur la sélection des cellules donneuses doivent être élaborées de manière à ce qu'elles engendrent un risque minimal au moment de leur transfert ;
 - b) Receveur : selon l'état actuel des connaissances, un suivi sanitaire actif doit être exercé sur le receveur pendant la gestation jusqu'à la période de post-partum. Un Groupe de travail de l'IETS³⁷ a entamé des travaux dans ce domaine chez différentes espèces de mammifères. Ces travaux aideront le sous-groupe à élaborer des lignes directrices ;
 - c) Descendance : un suivi sanitaire actif doit être assuré chez les animaux clonés jusqu'au stade de la puberté. Au besoin, des soins vétérinaires supplémentaires doivent être prodigués, en cas de besoin, pendant la phase post-natale ;
 - d) Progéniture des animaux clonés : jusqu'ici, aucun problème de santé apparent n'a été observé ou signalé chez les descendants des animaux clonés.
4. Des recherches sur le choix des cellules, les receveurs, la descendance, la progéniture etc., en rapport avec la santé et le bien-être des animaux sont nécessaires.
5. Les débats portant sur d'autres problèmes, comme l'environnement, l'alimentation animale, les échanges et les questions horizontales, seront poursuivis lors des prochaines réunions au cours desquelles des recommandations seront formulées.

³⁶ TRA : techniques de reproduction assistée

³⁷ IETS: International Embryo Transfer Society (Société internationale de transfert d'embryons)

Recommandations du Groupe ad hoc pour l'élaboration de Lignes directrices sur la biotechnologie axées sur les vaccins

Le Groupe ad hoc examine les nouveaux outils disponibles permettant d'améliorer l'efficacité et l'innocuité des vaccins. Il étudie également comment ces vaccins pourraient améliorer radicalement la santé et le bien-être des animaux et comment agir sur la transmission des maladies animales à l'homme. Ces technologies pourraient permettre de réduire considérablement l'obligation inutile de tuer et d'éliminer des animaux sains. Ces avancées peuvent aussi être utiles pour le suivi de l'évolution et de l'éradication des maladies dans un pays et être associées à des effets positifs importants sur les risques. Enfin, l'emploi de technologies plus performantes permettrait de réduire le nombre d'animaux, par ex., tests initiaux des vaccins, études d'interférence et tests d'efficacité (règle des trois R – remplacer, réduire, raffiner³⁸). Comme de nombreuses réglementations relatives à l'autorisation et au suivi des vaccins à usage vétérinaire sont d'ores et déjà bien établies et acceptées par la communauté internationale, il n'est pas utile de procéder à une reformulation des réglementations. Le Groupe reconnaît également que les vaccins issus des biotechnologies pourraient être plus sûrs que les vaccins conventionnels ; en conséquence, les réglementations actuelles sont valables pour le développement des vaccins issus des biotechnologies et des vaccins conventionnels, ainsi que pour la pharmacovigilance.

Les questions suivantes doivent être prises en compte pour la production des Lignes directrices :

1. Les lignes directrices pour l'évaluation des vaccins vivants issus de toute technique doivent être concordantes.
2. Les mécanismes permettant de réaliser l'analyse du rapport coût/bénéfice doivent être identifiés, ce qui encouragerait les pays à utiliser les vaccins issus des biotechnologies, le cas échéant.
3. Lors de l'élaboration des lignes directrices pour tous les vaccins, l'application de la pathogénomique, de l'épidémiologie, de la vaccinologie et de l'immunologie doit être utilisée. À long terme, cette approche sera plus économique et complètera l'utilisation de la règle des trois R (remplacer, réduire, raffiner).
4. Le développement de tests de diagnostic correspondants qui permettrait de différencier les animaux vaccinés des animaux peut-être infectés doit être envisagé, réduisant ainsi la nécessité d'abattre et d'éliminer des animaux sains.
5. Les autorités vétérinaires du monde entier doivent être encouragées à rechercher des mesures permettant de réduire rapidement l'apparition et la transmission de maladies touchant les cheptels nationaux grâce à des vaccins issus des biotechnologies.
6. L'importance de la faune sauvage en tant que sources d'infection des animaux d'élevage et vice versa doit être reconnue, les animaux sauvages et d'élevage étant des sources de maladies pour l'homme, ce qui souligne l'importance du développement des vaccins dans ce domaine crucial.
7. L'utilisation des lignes directrices existantes³⁹ sur l'importation des vaccins doit être encouragée dans un souci d'harmonisation.
8. L'utilisation des nouvelles technologies permettant d'améliorer la durée de conservation des vaccins et de mettre fin à la nécessité de disposer d'une chaîne du froid dans les pays tropicaux doit être envisagée.
9. Les avantages des vaccins issus des biotechnologies par opposition aux vaccins conventionnels doivent être pris en compte puisque les vaccins issus des biotechnologies peuvent être plus sûrs, plus efficaces, constituer un produit plus uniforme et permettre d'en suivre la stabilité.
10. Le recours aux méthodes modernes de détection et d'identification virales, telles que le séquençage, pour s'assurer que la souche virale est identifiée dans tous les types de vaccins utilisant le virus***, doit être encouragé.
11. Encourager le VICH en collaboration avec l'OIE et d'autres organisations internationales compétentes, à accélérer l'harmonisation internationale dans le domaine des produits biopharmaceutiques vétérinaires, notamment les vaccins issus des biotechnologies.

³⁸ Règle des trois R : remplacer, réduire, raffiner. Association internationale de normalisation biologique (IABs) (2002). Advancing Science and Elimination of the Use of Laboratory Animals for Development and Control of Vaccines and Hormones, Brown F., Hendricksen C., Sesardic D. & Cussler K., eds. Developments in Biologicals, vol. 111, Karger, Basel, Suisse.

³⁹ Roth H.J., Gay C.G. & Espeseth D.A. (1994). Models used in the U.S.A in risk assessments for biological s or related products. World Organisation for Animal Health (OIE). First International Symposium on Risk Assessment for Veterinary Biologicals: The Next Step in International Harmonization. Washington D.C

**Symposium « La génomique animale au service de la santé animale
octobre 2007, siège de l'OIE, Paris, France**

Ordre du jour proposé

Comité de pilotage : OIE, ARS-USDA, INRA, BBSRC, IABs, autres à déterminer

Organismes collaborateurs : OIE, FAO, OMS, BBSRC, IABs, ARS-USDA, EADGENE, (à contacter : AIEA, CBD, GCRAI-ILRI, etc.)

Bailleurs de fonds : à définir

Objectif du Symposium : identifier les besoins fondamentaux et les possibilités de faire progresser l'utilisation de la génomique animale pour résoudre les problèmes de santé animale.

Thème pour J 1 – En quoi la génomique animale révolutionnera-t-elle la recherche en santé animale ?

J 1 – Matin

8h00 . Accueil Docteur Vallat

1^{ère} Partie

Objectif 1 – *Qu'est-ce que le génome humain a permis d'accomplir ?*

La première partie de la matinée sera consacrée à définir ce que la connaissance du génome humain a permis d'accomplir. Quels ont été les outils les plus importants développés en matière de génomique (par ex., le Hapmap) ? Quelles sont les applications en santé humaine. Quels sont les résultats attendus par opposition aux résultats imprévus.

Orateur principal

Le génome humain – Résultats et conséquences sur la recherche biomédicale

Découvertes réalisées dans la compréhension des maladies humaines : deux présentations

Objectif 2 – *Bref aperçu de l'état actuel des connaissances en matière de génomes animaux. Quels sont les outils actuellement disponibles (enseignements) ? Comment ces outils sont-ils intégrés pour faire progresser les programmes de recherche ?*

Intervenants et abstracts choisis par le comité scientifique.

- Séquence et annotation des génomes complets
- Hapmap et autres marqueurs génétiques
- Transcriptomique ; par ex., ESTs (étiquettes de séquences exprimées)
- Protéomique
- Consortiums sur la génomique animale
- Espèces : poulets, bovins, porcs, ovins, aquaculture, chiens, chevaux

J 1 – Après-midi

Objectif 3 – Comment pouvons-nous utiliser les outils de la génomique pour faire progresser les programmes de recherche en santé animale (enseignements) ?

Intervenants et abstracts choisis par le comité scientifique.

- Développer des phénotypes pour identifier les gènes qui influent sur les caractères liés à la santé
- Utiliser la génétique et la génomique pour identifier les gènes qui influent sur les caractères liés à la santé
- Analyse des données sur l'expression des gènes/génomique fonctionnelle/interaction hôte- pathogène
- Génomique animale comparative pour faire progresser la recherche biomédicale en matière de santé animale et de santé humaine
- Applications pour les diagnostics, les vaccins et la découverte des médicaments
- Génomique animale pour le maintien de la biodiversité
- La génomique animale pour comprendre le comportement humain et améliorer le bien-être animal

Thème de J 2 – Renforcer l'utilité de l'approche basée sur la génomique animale.

Objectif 4 – Exemples de projets de recherche qui font appel à la génomique animale pour comprendre les maladies animales, la sensibilité aux maladies et les caractères souhaitables en matière de santé animale ?

Intervenants et abstracts choisis par le comité scientifique.

Objectif 5 – Exemples de projets de recherche qui font appel à la génomique animale pour découvrir de nouveaux outils permettant de prévenir et de contrôler les maladies animales ?

Intervenants et abstracts choisis par le comité scientifique.

Thème de J 3 – Quels sont les domaines prioritaires de recherche et quelles sont les actions à entreprendre pour permettre l'utilisation de la génomique animale pour améliorer la santé animale ?

Objectif 6 – Quels sont les besoins critiques/ les applications futures en santé animale ?

- Comprendre l'influence de la génétique des populations sur l'épidémiologie des maladies
- Comprendre les variations du système immunitaire en matière de sensibilité et de résistance aux maladies
- Comprendre les déterminants génétiques et biologiques qui influent sur la sensibilité et la résistance aux maladies
- Utilisation de la génomique pour la découverte des vaccins, la sélection des répondants (Vaccinogénétique)
- Utilisation de la génomique pour la découverte des tests de diagnostic
- Découverte des médicaments/pharmacogénétique
- Avons-nous besoin d'outils supplémentaires : par ex., transcriptomes d'autres tissus ?
- Bioinformatique
- Sélection assistée par des marqueurs/sélection des génomes/Sélection visant la robustesse
- La transgénique pour résoudre les problèmes agricoles

Objectif 7 - Conclusions et Recommandations

**RAPPORT DU GROUPE AD HOC DE L'OIE
CHARGÉ DE LA RÉVISION DES LIGNES DIRECTRICES DE L'OIE
APPLICABLES AUX RÉACTIFS DE RÉFÉRENCE INTERNATIONAUX
DESTINÉS AU TITRAGE DES ANTICORPS**

septembre 2006

1. Rappel des faits

L'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) a élaboré des lignes directrices pour la préparation des sérums standards de référence utilisables dans les tests de diagnostic sérologique des maladies animales. Ces lignes directrices sont publiés dans une brochure intitulée '*OIE Quality Standard and Guidelines for Veterinary Laboratories: Infectious Diseases*' (« Normes de qualité et lignes directrices de l'OIE applicables aux laboratoires vétérinaires : maladies infectieuses »). Comme le sang et les produits sanguins peuvent être des vecteurs d'agents pathogènes, les lignes directrices de l'OIE recommandent le traitement des échantillons de sérum par irradiation gamma pour inactiver les agents pathogènes potentiels. Il existe toutefois des preuves de plus en plus nombreuses indiquant que l'irradiation gamma modifie les performances du sérum dans certaines épreuves sérologiques telles que la fixation du complément. En conséquence, la Commission des normes biologiques de l'OIE estime que les lignes directrices doivent être révisées pour prendre en compte les inconvénients du recours à l'irradiation gamma destinée à l'inactivation des agents pathogènes au moment de la préparation des sérums standard de l'OIE. Le Directeur général de l'OIE a invité quatre experts à constituer un Groupe ad hoc pour réviser les lignes directrices ; le Groupe a communiqué par courriel (la liste des membres du Groupe ad hoc est reproduite à l'[annexe I](#)). Le Groupe a reçu les Lignes directrices de l'OIE ainsi qu'un document traitant du sujet préparé par le Docteur Adama Diallo, FAO/AIEA en Autriche (Centre collaborateur de l'OIE) à l'intention de la Commission des normes biologique lors de la réunion de janvier 2006. Le présent rapport est une synthèse des communications électroniques du Groupe ad hoc.

2. Intitulé des Lignes directrices

Comme les lignes directrices traitent seulement du sérum et pas des antigènes, le Groupe ad hoc estime qu'un intitulé approprié serait « *Lignes directrices de l'OIE applicables aux réactifs sérologiques de référence internationaux destinés au titrage des anticorps* » au lieu de « *Lignes directrices de l'OIE applicables aux réactifs de référence internationaux destinés au titrage des anticorps* ».

3. Traitement des sérums destiné à inactiver les agents adventices

Trois techniques sont citées :

a) *Inactivation par la chaleur*

L'inactivation par la chaleur à 56°C pendant 30 minutes est recommandée quand le risque d'infection est considéré comme faible. En général, le traitement par la chaleur doit être réalisé à 65°C pendant 20 minutes ou à 56°C pendant 2 heures.

b) *Irradiation gamma*

Pour les échantillons à l'état frais, la dose d'irradiation gamma actuellement recommandée par l'OIE de 25–30 kilogray (kGy) est appropriée mais l'irradiation doit être réalisée à -78°C pour préserver les performances du sérum traité. Cette dose n'est pas suffisante si l'échantillon a été lyophilisé avant irradiation : une dose d'irradiation supérieure à 40 kGy est nécessaire pour éliminer dans les échantillons lyophilisés le virus de la fièvre aphteuse. Il est également noté que dans certains cas la lyophilisation des sérums après irradiation nuit à leur activité biologique (par ex., les sérums anti-virus de la maladie de Newcastle et anti-virus de l'influenza aviaire).

c) *Traitement par la BEI (bromoéthylèneimine)*

La BEI (bromoéthylèneimine) est un réactif chimique utilisé avec succès pour inactiver le virus de la fièvre aphteuse, le virus de la maladie vésiculeuse du porc et le virus de la stomatite vésiculeuse. Ce réactif représente actuellement la meilleure solution de rechange à la technique basée sur l'irradiation gamma. Un protocole utilisé à l'Institute for Animal Health au Royaume-Uni est reproduit à l'annexe II.

4. Test d'innocuité

Les échantillons de sérums qui ont subi un traitement destiné à inactiver les agents pathogènes potentiels doivent être soumis à des tests d'innocuité appropriés. Un exemple de protocole pour la vérification de la présence du virus vivant de la fièvre aphteuse ou de la stomatite vésiculeuse est présenté à l'annexe II.

5. Stockage

Le paragraphe 4.2 des Lignes directrices de l'OIE applicables aux réactifs de référence internationaux destinés au titrage des anticorps recommande que le réactif final soit lyophilisé dans des ampoules en verre plutôt qu'utiliser des bouchons en caoutchouc. Une autre solution consiste à entreposer les réactifs lyophilisés dans des cryotubes à -80°C . Cette solution offre les avantages suivants :

- a) Elle évite les erreurs survenant lors de la reconstitution du réactif, par ex., volume incorrect du diluant utilisé ; emploi d'un diluant non adapté ; perte de matériel à l'ouverture ; la reconstitution est incomplète avant utilisation du réactif, etc.
- b) Les cryotubes sont équipés de systèmes de fermeture sécurisés et le conteneur est suffisamment résistant en cas de manipulation brutale ou de chute.
- c) Les cryotubes permettent d'utiliser efficacement l'espace dans des systèmes classiques de stockage à une température inférieure ou égale à -80°C .
- d) Il existe des étiquettes cryogéniques qui garantissent un étiquetage approprié.

Le principal inconvénient de cette solution tient au fait qu'elle n'est pas idéale pour l'expédition des échantillons : il y a un risque de décongélation des échantillons sans garantie que leur qualité soit conservée.

6. Conclusions

En conclusion, le Groupe ad hoc propose d'apporter les modifications suivantes aux Lignes directrices de l'OIE applicables aux réactifs internationaux destinés au titrage des anticorps :

- a) Modifier l'intitulé qui deviendrait « *Lignes directrices de l'OIE applicables aux réactifs sérologiques de référence internationaux destinés au titrage des anticorps* ». L'OIE pourrait envisager d'élaborer d'autres lignes directrices applicables à la préparation des antigènes de référence.
- b) Inclure à la fois l'irradiation gamma et le traitement par la BEI en tant que méthodes recommandées pour l'inactivation des agents adventices dans les sérums de référence.
- c) Indiquer clairement que les tests d'innocuité doivent être réalisés sur les échantillons des sérums de référence.

Compte tenu de ces suggestions, les Lignes directrices sont examinées et modifiées comme il se doit (voir annexe III pour la version modifiée).

Annexe I - Rapport du GAH chargé de la révision des Lignes directrices de l'OIE

**GROUPE AD HOC DE L'OIE CHARGÉ DE LA RÉVISION DES LIGNES DIRECTRICES DE L'OIE
APPLICABLES AUX RÉACTIFS DE RÉFÉRENCE INTERNATIONAUX
DESTINÉS AU TITRAGE DES ANTICORPS**

Liste des membres du Groupe ad hoc

Dr Adama Diallo

(Président)

Head, Animal Production Unit
FAO/IAEA Agriculture & Biotechnology Laboratory
Agency's Laboratories
Wagramer Strasse 5, P.O. Box 100, A-1400 Vienna
AUTRICHE
Tél : (+43-1) 2600 28355;
Fax : (+43-1) 2600 28222
E-mail : adama.diallo@iaea.org

Dr Peter J. Cairns

National Co-ordinator, Safety and Biosecurity, National
Aquatic Animal Health, Laboratory System, Science
Branch, Department of Fisheries and Oceans
CANADA
Tél : (1-506) 851.21.55
Fax : (1-506)
E-mail : CairnsP@DFO-MPO.GC.CA

Mr Peter Le Blanc Smith

Biocontainment Microbiologist, CSIRO Livestock Industries,
Australian Animal Health Laboratory (AAHL), Private Bag 24,
Geelong Victoria 3220
AUSTRALIE
Tél : (61-3) 52.27.54.51
Fax : (61-3) 52.27.55.55
E-mail : Peter.LeBlancSmith@csiro.au

Dr Nigel Ferris

Institute for Animal Health,
Pirbright Laboratory, Pirbright, Surrey, GU 24 0NF
ROYAUME-UNI
Tél : (44-1483) 23.11.09
Fax : (44-1483) 23.74.48
E-mail : nigel.ferris@bbsrc.ac.uk

PROTOCOLE POUR L'INACTIVATION DU SÉRUM PAR DU BEI

1. Procédure

- i) Préparer 0,1 M de BEI (bromoéthylèneimine) en commençant par peser 0,205 g de 2-Bromoéthylamine hydrobromide (BEA) et en transférant cette quantité dans un flacon universel en verre placé dans une hotte d'aspiration qui répond aux normes ISO de sécurité.
- ii) Ajouter 10 ml d'hydroxyde de sodium 0,2 M pour dissoudre le BEA.
- iii) Placer le flacon universel au bain marie ou dans un incubateur à 35–39°C pendant 1 heure pour obtenir du BEI.
- iv) Dans une armoire de sûreté, transférer avec précaution le sérum à inactiver dans un flacon/récipient muni d'un bouchon à vis (par ex., pot stérile en plastique d'1 litre avec bouchon) contenant une barre magnétique stérile et éviter de contaminer le rebord du flacon où le bouchon, une fois ajusté, peut empêcher le contact du la BEI avec le sérum.
- v) Ajouter 10 ml de BEI à chaque 1000 ml de sérum (ç-à-d une concentration finale de BEI de 0,001 M). Eliminer les embouts et les pipettes qui sont entrés en contact avec la BEI par trempage dans une solution d'acide sulfurique à 1% pour inactiver la contamination de la BEI.
- vi) S'assurer que le bouchon du conteneur est resserré puis retourner le conteneur plusieurs fois pour bien mélanger le sérum et la solution de BEI.
- vii) Incuber le mélange à 35–39°C pendant 24 heures dans un incubateur ou dans une étuve (ou encore au bain marie). S'assurer que tout le sérum est en contact avec la BEI en faisant tourner la barre magnétique dans la solution à l'aide d'un agitateur magnétique. Retourner périodiquement le conteneur pour mélanger le sérum et la solution de BEI tout au long de la journée. Mesurer la température à une fréquence appropriée et entrer dans un registre.
- viii) Après 24 heures, neutraliser toute BEI restante dans la solution de sérum en ajoutant une concentration de 10 % d'une solution de thiosulfate de sodium à 20 % (concentration finale de 2 %).

N.B. :

L'ajout de thiosulfate de sodium, à cette étape, est facultatif. L'opération n'est pas essentielle mais elle peut être nécessaire si le processus d'inactivation fait partie d'un accord contractuel passé pour la préparation du matériel inactivé pour le compte d'une partie tierce extérieure et est par conséquent stipulé par écrit dans un protocole convenu.

Dans le cas contraire, l'étape peut être négligée puisqu'il est considéré comme impossible que tout produit chimique à base de BEI reste intact après 24 heures à une température comprise entre 35 et 39°C.

2. Procédure du test d'innocuité

- i) Recueillir dans le nombre requis de tubes (ou de fioles, par ex., 25 cm²) des monocouches confluentes de cellules thyroïdiennes primaires de veaux (dans le cas du virus de la fièvre aphteuse), de cellules IB-RS-2 (dans le cas de la maladie vésiculeuse du porc) ou de cellules BHK-21 (dans le cas du virus de la stomatite vésiculeuse), pour rechercher dans une proportion (par ex., 5 %) du sérum 'inactivé' la présence de tout virus (infectieux) vivant restant.
- ii) Laver les monocouches de cellules en vidant le milieu qui a servi dans un becher (en employant une technique aseptique) et en ajoutant un volume approprié de solution saline tampon au phosphate (PBS) (2 ml/tube, 5–10 ml par fiole). Jeter la PBS dans le becher.
- iii) Ajouter 0,2 ml (200 µl) de sérum inactivé à tester dans chaque tube (ou 1 ml de sérum inactivé par 25 cm² de fiole).

- iv) Incuber les cultures cellulaires en position stationnaire à 35–39°C (monocouches cellulaires vers le bas) pendant 1 heure dans une étuve ou un incubateur.
- v) Après 1 heure d'incubation, remettre les cultures dans l'armoire de sûreté et verser le sérum à tester dans une solution désinfectante contenue dans la poissonnière ; laver les tubes avec 2 ml de PBS (ou 10 ml pour 25 cm² de fiole) et éliminer les milieux. Répéter cette opération de lavage au PBS deux fois encore avant d'ajouter 2 ou 15 ml de milieu de culture cellulaire complet par tube ou fiole.
- vi) Incuber les tubes (rotation) ou les fioles (stationnaire) à 35–39°C pendant 3 jours, en observant la monocouche cellulaire au microscope chaque jour pour rechercher un effet cytopathique (ECP). Consigner les résultats chaque jour sur une fiche technique.
- vii) La présence d'un ECP peut indiquer qu'une réplication virale a pu avoir lieu mais cela devra être confirmé en réalisant une épreuve adaptée de détection des antigènes (par ex., ELISA de détection des antigènes) sur une fraction aliquote de liquide surnageant de culture cellulaire clarifiée recueillie quand l'ECP est suffisamment avancé.
- viii) Si après 3 jours, on n'observe aucun signe d'ECP, congeler les tubes dans un congélateur soit à une température comprise entre –30 et –5°C soit entre –90 et –50°C.
- ix) Décongeler les tubes ou les fioles et transférer le contenu dans un conteneur stérile ; clarifier par centrifugation à environ 2000 g (par ex., 4 500 tours par minute dans une centrifugeuse de paillasse) pendant 10 minutes. Transférer le surnageant dans un nouveau conteneur et entreposer à 1–8°C jusqu'à ce qu'on en ait besoin.
- x) Recueillir de nouvelles cultures et répéter les **étapes 1 à 6** mais, à cette occasion, inoculer un plus grand volume du surnageant stocké à partir du premier passage, c-à-d 1 ml par tube ou 5 ml par fiole, puis utilisé pour le premier passage décrit dans l'**étape 3**.
- xi) Vérifier les cultures cellulaires comme précédemment pendant les trois jours suivants et enregistrer les résultats sur une fiche technique. Si aucun ECP n'a été observé après trois jours, les tubes seront congelés et le surnageant collecté après décongélation selon le procédé décrit dans les **étapes 8 et 9**. Le surnageant sera ensuite soumis à un dépistage à l'aide d'un test de détection adapté. Si les résultats sont négatifs, le sérum est considéré comme inactivé.
- xii) Le sérum inactivé peut alors être stocké à une température de –30 à –5°C dans un conteneur étiqueté ou en vrac.

BIBLIOGRAPHIE

BAHNEMANN H.G. (1975). Bromine ethyleneimine as an inactivant for foot and mouth disease virus and its application for vaccine production. *Arch. Virol.*, **47**, 47–56.

LIGNES DIRECTRICES DE L'OIE APPLICABLES AUX RÉACTIFS SÉROLOGIQUES DE RÉFÉRENCE INTERNATIONAUX DESTINÉS AU TITRAGE DES ANTICORPS

1. Introduction

1.1. Objectif

Le présent document fournit des lignes directrices applicables à la préparation, à la validation et à la distribution d'anticorps en tant que réactifs internationaux de référence destinés au titrage des anticorps pour le dépistage des maladies infectieuses des animaux. Dans ces lignes directrices, le terme « réactifs » désigne les anticorps sauf indication contraire. Ces préparations sont désignées par l'OIE en tant que réactifs de référence primaires et doivent être utilisées parallèlement aux épreuves décrites dans le *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres* de l'OIE.

1.2. Définitions

1.2.1. Protocole d'essai standard

Protocole d'essai standard désigne une procédure validée, acceptée à l'échelle internationale, souvent une « épreuve prescrite de l'OIE en vue des échanges internationaux », qui est décrite dans le *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres* de l'OIE.

1.2.2. Réactif de référence international

L'expression « réactif de référence international » est synonyme de « réactif de référence primaire » et désigne le réactif par rapport auquel tous les autres sont comparés et calibrés.

1.2.3. Réactifs secondaires et réactifs de travail

Les réactifs secondaires sont préparés par comparaison directe avec le réactif de référence international ; ils doivent dans toute la mesure du possible reproduire les mêmes caractéristiques que celles de l'étalon primaire lors de son utilisation dans le cadre du Protocole d'essai standard. Un réactif secondaire sera classiquement préparé par un Laboratoire national de référence et sera désigné en tant que réactif national ou local.

Les réactifs de travail peuvent être synonymes des réactifs secondaires ou être des réactifs tertiaires calibrés par rapport au réactif secondaire. Les réactifs de travail doivent être disponibles en quantités suffisantes pour que les laboratoires de diagnostic puissent les utiliser pour standardiser les tests de routine quotidiens.

1.3. Champ d'application

Les réactifs de référence internationaux sont nécessaires pour assurer qu'une épreuve de titrage des anticorps est capable de mesurer la réponse humorale à un niveau spécifié de sensibilité diagnostique. La sensibilité diagnostique correspond au risque d'apparition de faux négatifs lors d'un titrage d'anticorps, quand un animal est ou a été infecté. Les réactifs de référence internationaux sont normalement destinés à être utilisés par les laboratoires de référence internationaux, nationaux et autres pour l'étalonnage des épreuves standard et comme modèles pour la production de réactifs secondaires. Le réactif secondaire ou un autre réactif de travail doit être utilisé quotidiennement pour normaliser l'épreuve, ce qui n'est pas le cas du réactif standard international.

Pour un nombre limité de maladies, un accord international a été passé concernant un système d' « Unités internationales » caractérisant l'activité anticorps. Dans ces cas, les réactifs de référence internationaux définissent l'échelle de ces unités. Pour la grande majorité des maladies animales, un tel système n'existe pas et les systèmes de dosage, les réactifs de travail et les échantillons à tester sont définis par rapport aux réactifs de référence internationaux.

1.4. Méthode

Pour la plupart des dosages, trois réactifs de référence primaires doivent être créés : fortement positif, faiblement positif et négatif. Trois réactifs doivent être sélectionnés et caractérisés par un Laboratoire de référence désigné en utilisant un Protocole d'essai standard agréé et des réactifs acceptés à l'échelle internationale.

Le réactif faiblement positif est essentiel pour fournir l'assurance de la sensibilité diagnostique de l'épreuve. Pour les épreuves non quantitatives (par ex., immunodiffusion) le réactif de référence faiblement positif peut être le seul réactif positif requis.

Pour les épreuves quantitatives qui ne sont pas des dosages, telles que l'épreuve ELISA indirecte, le réactif fortement positif doit définir un niveau arbitraire de 100 % de positivité. Les réactifs faiblement positif et négatif doivent alors être associés à un pourcentage de positivité proportionnelle correspondant à leur réactivité au moment de leur utilisation dans le protocole d'essai standard.

2. Sélection des matériels utilisés comme réactifs

2.1. Types de matériels

La majorité des réactifs de référence internationaux seront préparés à partir de sérum sanguin. Celui-ci doit être exempt d'hémolyse et ne doit pas présenter une lipémie excessive. Les antisérums doivent autant que possible être produits chez des animaux indemnes de certains agents pathogènes ou chez des animaux gnotobiotiques d'une espèce adaptée à l'épreuve à standardiser. D'autres matériels, par exemple du lait écrémé ou des anticorps monoclonaux, peuvent être utilisés le cas échéant pour l'épreuve à standardiser.

2.2. Sécurité

Les réactifs de référence doivent être préparés de manière à ce qu'ils soient exempts de matériels infectieux. Pour faciliter le transport entre pays il est recommandé que les réactifs **à l'état frais soient soit traités par la BEI (bromoéthylèneimine) soit irradiés à la dose de 25–30 kilograys (2,5–3,0 Mrad) en maintenant les échantillons à une température de 78°C. L'irradiation des échantillons lyophilisés n'est pas préconisée puisque la dose recommandée peut ne pas suffire pour inactiver complètement les agents pathogènes. Après traitement, les échantillons doivent être soumis à des tests d'innocuité appropriés pour s'assurer qu'ils sont indemnes d'agents vivants détectables.** Les sérums provenant de bovins doivent être issus d'une source indemne d'ESB.

2.3. Réactifs de référence positifs

Les réactifs de référence positifs doivent être sélectionnés à partir d'animaux qui présentent une réponse immunitaire humorale typique (anticorps) vis-à-vis du micro-organisme en question. Les animaux hyperimmuns ne sont pas considérés comme typiques et doivent si possible être évités. La réponse immunitaire peut être déclenchée par une infection expérimentale ou par une vaccination. Le moment choisi après la vaccination pour le recueil du matériel doit être déterminé par la réponse de l'animal mesuré par le protocole d'essai standard. Ce choix peut varier en fonction de la nature de la maladie et de l'épreuve. Tous les détails concernant le calendrier de vaccination et la nature de l'immunogène doivent être fournis afin de pouvoir préparer les réactifs secondaires selon des méthodes équivalentes. Les réactifs doivent être exempts d'anticorps dirigés contre des micro-organismes susceptibles de produire une réaction croisée dans l'épreuve standard **ou alors des informations relatives à cette réaction croisée doivent être fournies.** Le réactif peut être issu d'un animal unique ou d'un pool d'échantillons obtenus à partir de plusieurs animaux. Exceptionnellement, des animaux naturellement infectés peuvent être utilisés comme source du réactif lorsqu'une vaccination contrôlée ou une infection n'est pas réalisable.

2.4. Réactifs de référence négatifs

Les réactifs de référence négatifs doivent être sélectionnés à partir d'animaux qui n'ont jamais été ni exposés au micro-organisme en question ni vaccinés contre celui-ci. Ils doivent être exempts d'anticorps dirigés contre des micro-organismes susceptibles de produire des réactions croisées dans les épreuves standard. Le réactif négatif peut être produit à partir d'un sérum unique ou d'un pool de sérums.

3. Caractéristiques des réactifs de référence internationaux

3.1. Réactif de référence fortement positif

Pour des épreuves telles que la fixation du complément, la neutralisation virale ou la méthode ELISA indirecte qui produisent des courbes dose-réponse de forme sigmoïde typique, le réactif de référence fortement positif doit présenter une activité anticorps située sur la portion linéaire de la courbe juste sous la phase de plateau. Dans d'autres épreuves, le réactif de référence fortement positif doit contenir suffisamment d'anticorps pour produire systématiquement la réaction maximale au sein des limites choisies de l'épreuve, par ex., arc de précipitation bien net dans une épreuve d'immunodiffusion ou 100 % d'inhibition dans une technique ELISA de compétition/inhibition.

3.2. Réactif de référence faiblement positif

Le réactif de référence faiblement positif doit présenter une activité anticorps qui se situe sur la portion linéaire de la courbe juste au-dessus du seuil positif/négatif. La réaction produite ne doit jamais être équivoque. Dans d'autres épreuves, le réactif de référence faiblement positif doit contenir suffisamment d'anticorps pour produire systématiquement la réaction minimale détectable, par ex., un arc de précipitation peu marqué mais sans équivoque dans une épreuve d'immunodiffusion. Pour les méthodes de compétition/inhibition qui présentent souvent une transition nette du positif au négatif, la sélection du réactif faiblement positif peut être particulièrement difficile. Les mêmes principes s'appliquent, dans la mesure où le réactif doit produire une réponse positive systématique, juste au-dessus du seuil positif/négatif, dans le Protocole d'essai standard.

3.3. Réactif de référence négatif

Ce réactif doit toujours produire une réaction au-dessous du seuil positif/négatif dans le Protocole d'essai standard. La réaction produite ne doit jamais être équivoque.

4. Préparation des réactifs de référence

4.1. Constitution des réactifs

Les réactifs de référence positifs doivent si possible être préparés à partir de matériels présentant le niveau de réactivité souhaité sans dilution ultérieure. Cependant, il est souvent nécessaire que le Laboratoire de référence réalise une dilution unique d'un sérum positif dans le sérum négatif pour obtenir le niveau souhaité de réactivité comme décrit au point (3) ci-dessus. Dans ces cas, le réactif de référence faiblement positif peut être obtenu à partir du même stock de sérum positif que le réactif de référence fortement positif.

Un réactif de référence international ne doit exiger de la part du laboratoire de destination aucune manipulation particulière (par ex., prédilution) avant son utilisation dans l'épreuve en question. Le réactif doit être testé comme le serait tout échantillon prélevé sur le terrain dans des conditions de routine (comprenant les étapes de dilution qui font normalement partie de la procédure de l'épreuve de dosage). Cette condition empêche la survenue d'une erreur ou d'un biais lié à une manipulation particulière ou à la préparation. Par conséquent, le degré d'activité anticorps dans un réactif de référence positif doit s'inscrire dans les limites exactes de détection de l'épreuve de diagnostic.

4.2. Stabilité et stockage

Tous les matériels doivent être stockés congelés ou réfrigérés en attendant l'évaluation. Il faut éviter les cycles répétés de congélation-décongélation. Pour en garantir la stabilité, il est recommandé que le réactif final, **après traitement de l'échantillon visant à inactiver les agents adventices**, soit lyophilisé, et il serait intéressant de fournir le diluant stérile servant à la reconstitution du matériel, avec le réactif lyophilisé. Des ampoules scellées en verre, plutôt que des bouchons en caoutchouc sont préférables pour le stockage à long terme. Les stocks lyophilisés doivent être entreposés à 4°C, bien que les courts séjours à température ambiante (par ex., pendant le transport) ne devraient pas avoir d'effets néfastes. **Le processus de lyophilisation peut modifier la qualité biologique des sérums ; la solution de rechange recommandée est le stockage des réactifs dans des cryotubes à -78°C.**

Après lyophilisation, plusieurs flacons contenant le réactif doivent être reconstitués et réévalués. On ne doit trouver aucune preuve de la présence d'anticorps dus à une réaction croisée ni de l'existence d'autres facteurs non spécifiques susceptibles de perturber l'interprétation des résultats du dosage. **En cas de possibilité de réaction croisée avec des agents étroitement apparentés, cette information doit être mentionnée.**

4.3. Contrôle des lots

Le matériel de référence d'origine doit initialement constituer un stock unique suffisant pour durer 5 ans au moins. Il peut être conservé congelé (de préférence à une température de -70°C ou inférieure) et un lot peut être lyophilisé en vue d'un approvisionnement pour 2 ans au minimum (environ 500 tests). Pour chaque lot, congelé ou lyophilisé, des références de lot doivent être attribuées et des données complètes de contrôle de qualité doivent être conservées.

Chaque lot lyophilisé doit être réétalonné. Chaque flacon ou ampoule doit contenir 0,5–1 ml.

4.4. Étiquetage

L'étiquette doit contenir les informations minimales suivantes : logo de l'OIE ; réactif de référence international de l'OIE pour (épreuve) de dépistage de (maladie) ; préciser la nature du réactif : fortement positif, faiblement positif ou négatif ; nom du Laboratoire de référence ; méthode de reconstitution ; conditions de stockage. L'espace disponible sur l'étiquette peut empêcher l'insertion de tous ces éléments d'information ; il est possible d'utiliser des abréviations et il peut être nécessaire de consigner certaines informations sur la fiche technique au lieu de les rapporter sur l'étiquette.

4.5. Fiches techniques

Les Laboratoires de référence de l'OIE produisant des sérums standards de référence internationale doivent veiller à ce que toutes les portions aliquotes soient accompagnées d'une Fiche technique appropriée. Il doit être clairement signifié aux laboratoires demandeurs que les réactifs de référence internationaux sont destinés à être utilisés pour l'étalonnage de leur propre méthode de dosage et pour favoriser l'harmonisation internationale.

Pour qu'un laboratoire de diagnostic puisse préparer un réactif de référence secondaire pour son propre usage, il sera nécessaire que le Laboratoire de référence de l'OIE fournisse des données spécifiques sur la sélection et/ou la préparation des réactifs de référence primaires. Cela vaut en particulier dans le cas où les réactifs de référence primaires ont été préparés par dilution de sérums fortement positifs ou hyperimmuns dans des sérums négatifs.

4.5.1. Données requises

La fiche technique doit reproduire toutes les informations spécifiées pour l'étiquetage (voir 4.4). Les informations suivantes doivent également être fournies afin de faciliter la sélection et/ou la préparation des réactifs de référence secondaires qui reproduisent aussi fidèlement que possible le réactif de référence primaire.

- i) Description de l'animal donneur du sérum positif et négatif, y compris espèce, âge, statut reproducteur et origine (production naturelle, exempt d'agent pathogène spécifique, gnotobiotique, etc.).
- ii) Nature de la réponse humorale, c-à-d à l'infection naturelle, infection expérimentale, vaccination, etc.
- iii) Informations sur le micro-organisme utilisé pour obtenir la réponse immunitaire, c-à-d source, souche, sérotype, etc.
- iv) Informations sur les protocoles d'infection expérimentale ou de vaccination, c-à-d mode, dose, programmes de vaccination, méthode et moment du prélèvement des échantillons etc.
- v) Tests de référence utilisés pour sélectionner les sérums candidats positifs et négatifs et pour caractériser la réponse humorale, par ex., ELISA, immunodiffusion en gélose, neutralisation virale, etc.
- vi) Échantillon de profils de titration des sérums hyperimmuns et critères de sélection des dilutions appropriées d'activité définie.
- vii) Présence d'anticorps hétérologues, s'ils sont connus, et épreuves utilisées pour leur détection.
- viii) Informations sur les tests d'innocuité effectués sur les matériels
- ix) Une déclaration attestant que le réactif est uniquement destiné à un usage *in vitro*.

- x) Description des méthodes de stérilisation, y compris type d'irradiation et dose ; état de l'échantillon au moment de la stérilisation (liquide, congelé, lyophilisé, etc.).
- xi) Numéro de lot et date de production.
- xii) Reconstitution (type de liquide de reconstitution et volume), manipulation et conditions de stockage recommandés.
- xiii) Nom et coordonnées complètes, télécopie et courriel du Laboratoire de référence en tant que source d'informations complémentaires.

5. Approbation des réactifs de référence par l'OIE

Un Réactif de référence international ne peut pas être diffusé sous le nom de l'OIE à moins d'avoir été approuvé par la Commission des normes de l'OIE agissant sous l'autorité du Comité international de l'OIE.

Les données techniques et statistiques complètes sur l'évaluation des réactifs de référence candidats, ainsi que les informations complètes contenues dans les fiches techniques comme indiqué plus haut, doivent être soumises à l'OIE. La Commission des normes de l'OIE examinera les informations. En cas d'approbation par la Commission des normes, le réactif de référence sera ajouté à la liste des Réactifs de référence internationaux disponibles. La liste sera fournie à tous les Pays Membres de l'OIE sur demande ; elle figure sur le site web de l'OIE (<http://www.oie.int>).

6. Bibliographie

BAHNEMANN H.G. (1975). Bromine ethyleneimine as an inactivant for foot and mouth disease virus and its application for vaccine production. *Arch. Virol.*, **47, 47-56.**

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2002). Guidelines on viral inactivation and removal procedures intended to assure the viral safety of human blood plasma products. WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO, Geneva, Switzerland.

WRIGHT P.F. (1998). International standards for test methods and reference sera for diagnostic tests or antibody detection. *In: Veterinary Laboratories for Infectious Diseases*, Pearson J.E., ed. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **17** (2), 527-533.

© **Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE), 2006**

Le présent document a été préparé par des spécialistes réunis par l'OIE. En attendant son adoption par le Comité international de l'OIE, les points de vue qui y sont exprimés traduisent exclusivement l'opinion de ces spécialistes.

Toutes les publications de l'OIE (Organisation mondiale de la santé animale) sont protégées par la législation sur le droit d'auteur. Des extraits peuvent être copiés, reproduits, traduits, adaptés ou publiés dans des revues, documents, ouvrages, moyens de communication électronique et tout autre support destiné au public à des fins d'information, pédagogiques ou commerciales, à condition que l'OIE ait préalablement donné son accord écrit.

Les appellations et dénominations employées et la présentation du matériel utilisé dans ce rapport n'impliquent aucunement l'expression d'une opinion quelle qu'elle soit de la part de l'OIE concernant le statut juridique de tout pays, territoire, ville ou zone relevant de son autorité, ni concernant la délimitation de ses frontières ou de ses limites.

La responsabilité des opinions exprimées dans les articles signés incombe exclusivement à leurs auteurs. Le fait de citer des entreprises ou des produits de marque, qu'ils aient ou pas reçu un brevet, n'implique pas qu'ils ont été approuvés ou recommandés par l'OIE préférentiellement à d'autres de nature similaire qui ne sont pas mentionnés.