



Organisation  
Mondiale  
de la Santé  
Animale

World  
Organisation  
for Animal  
Health

Organización  
Mundial  
de Sanidad  
Animal

Original : anglais  
Janvier 2018

## RAPPORT DE RÉUNION DU GROUPE *AD HOC* ÉLECTRONIQUE SUR LE VIRUS DU TILAPIA LACUSTRE<sup>1</sup>

Novembre 2017 - janvier 2018

Le Groupe *ad hoc* sur le virus du tilapia lacustre (TiLV) a été établi en novembre 2017 afin d'évaluer les méthodes diagnostiques pour ce virus ainsi que leur validation.

Lors de sa réunion de septembre 2017, la Commission des normes pour les animaux aquatiques (ci-après désignée par la « Commission des animaux aquatiques ») a révisé l'évaluation de l'infection par le virus du (TiLV) au regard des nouveaux critères d'inclusion dans la liste des maladies figurant au chapitre 1.2. *Critères d'inclusion des maladies des animaux aquatiques dans la liste de l'OIE du Code aquatique*, en prenant acte qu'une version révisée de ces critères avait été adoptée lors de la Session générale de 2017. La Commission des animaux aquatiques a également pris en considération les nouvelles informations scientifiques disponibles, c'est-à-dire publiées depuis sa précédente réunion, en février 2017.

La Commission des animaux aquatiques a réexaminé les éléments de preuve utilisables pour le troisième critère d'inclusion d'une maladie dans la Liste de l'OIE : « Une définition de cas précise est disponible et il existe une méthode fiable de détection et de diagnostic. ». La Commission des animaux aquatiques a pris en compte les informations d'une publication récente décrivant un nouveau test de diagnostic pour le TiLV (Dong *et al.*, Emergence of tilapia lake virus in Thailand and an alternative semi-nested RT-PCR for detection. *Aquaculture*, doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.04.019). Elle a conclu que cette contribution additionnelle ne permettait pas la satisfaction du critère en raison de l'insuffisance d'information concernant la sensibilité et la spécificité diagnostiques et analytiques du test.

En raison de la propagation actuelle du TiLV dans le monde, la Commission des animaux aquatiques a décidé d'établir un groupe *ad hoc* électronique afin de procéder à l'évaluation des méthodes diagnostiques et leur validation. Ce Groupe *ad hoc* devra établir un rapport destiné à la Commission des animaux aquatiques, qui l'examinera lors de sa réunion de février 2018.

### Conclusions et recommandations du Groupe *ad hoc*

Il est recommandé de poursuivre l'évaluation et la comparaison des tests moléculaires. Les méthodes de PCR en temps réel présentent usuellement la sensibilité et la spécificité les plus élevées. Par conséquent, leur utilisation est recommandée pour la validation.

Le matériau utilisé dans le cadre des essais interlaboratoires pourrait être préparé au sein du laboratoire australien de santé animale (Australian Animal Health Laboratory ou AAHL), qui détient l'expertise requise. Ce laboratoire est accrédité ISO 17043 pour la production, l'analyse et l'élaboration de rapports sur le contrôle de la qualité des essais d'aptitude conduits par des panels dans le cadre de programmes d'essais d'aptitude nationaux et internationaux. Cette activité s'inscrirait également dans le mandat d'AAHL en tant que Centre collaborateur de l'OIV pour la Science de validation des tests diagnostiques et pour les Maladies nouvelles et émergentes.

La disponibilité d'informations suffisantes sur la pertinence respective des tests à l'étude au regard de l'usage attendu est une étape préalable à leur engagement ultérieur dans le processus de validation. Ce dernier nécessitera également la mise à disposition des résultats obtenus avec les tissus dont le prélèvement est recommandé ainsi qu'avec d'autres types de prélèvements tels que le mucus (Liamnimitr *et al.*, 2018). Les prélèvements devront en outre être représentatifs des différents stades du cycle de vie. Enfin, il devra être déterminé si le mélange d'échantillons est approprié.

Des études de validation plus complètes sont nécessaires pour déterminer la sensibilité et la spécificité diagnostiques de la méthode destinée aux animaux présentant des signes cliniques ainsi qu'aux animaux apparemment sains. Par exemple, Senapin *et al.* (2018) ont publié les résultats de tests obtenus sur des cas d'infection inapparente de TiLV.

<sup>1</sup> Note : les points de vue et opinions exprimés dans le rapport du présent groupe *ad hoc* traduisent l'opinion des experts qui l'ont rédigé et ne reflètent pas nécessairement une prise de position de l'OIE. Ce rapport doit être lu parallèlement au rapport de la réunion de février 2018 de la Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques, car il intègre les considérations et observations émanant de ladite Commission. Il est disponible en cliquant sur le lien suivant : <http://www.oie.int/fr/normes-internationales/commissions-specialisees-et-groupes/commission-animaux-aquatiques-et-rapports/rapports/>

Il a donc été demandé à la Commission des animaux aquatiques de l'OIE d'examiner les résultats figurant dans ce rapport et de bien vouloir approuver les recommandations formulées par le Groupe *ad hoc*.

Les recommandations spécifiques du Groupe *ad hoc* sur le virus du tilapia lacustre sont les suivantes :

1. Le siège de l'OIE doit prendre contact avec les Délégués des États membres de l'OIE dans lesquels la présence du TiLV a été rapportée. Il doit leur demander de faire parvenir leur matériau de contrôle positif au Dr Collin, du Centre collaborateur pour les Maladies nouvelles et émergentes (Australian Animal Health Laboratory), afin que ce dernier puisse procéder à l'évaluation des tests moléculaires et conduire des essais interlaboratoires (se référer à l'annexe I pour les coordonnées du laboratoire).
2. La Commission des normes sanitaires pour les animaux aquatiques révisera les termes de référence du Groupe *ad hoc* afin d'y introduire un plan de travail détaillé et tenant compte des tâches à réaliser décrites aux points 3., 4. et 5. ci-dessous. Dès lors que le Groupe *ad hoc* sera satisfait de la façon dont les essais auront été réalisés, il pourra encourager l'introduction, dans les termes de référence, de dispositions concernant les panels d'échantillons utilisés dans le cadre des essais interlaboratoires pour le TiLV et qui seront destinés aux pays fournissant le matériau.
3. L'OIE a pris note du fait que le Groupe *ad hoc* évaluera les ressources nécessaires à la réalisation des travaux qu'il propose d'entreprendre.

---

.../Annexes

## RAPPORT DE RÉUNION DU GROUPE AD HOC ÉLECTRONIQUE SUR LE VIRUS DU TILAPIA LACUSTRE

Novembre 2017 - janvier 2018

### Liste des participants

#### MEMBRES DU GROUPE AD HOC ÉLECTRONIQUE

**Dr Axel Colling** (Président)  
OIE Collaborative Centre for Diagnostic  
Test Validation Science  
Po bag 24 Geelong VIC 3220  
AUSTRALIE  
Tél. : +61 3 5227 5255  
Tél. : +61 457 515 014  
axel.Colling@csiro.au

**Dr Hong Liu**  
Director  
The National Key laboratory of Aquatic  
Animal Diseases  
Animal and Plant Inspection and  
Quarantine Technical Centre  
Shenzhen Exit & Inspection and  
Quarantine Bureau  
General Administration of Quality  
Supervision, Inspection and Quarantine  
(AQSIQ) of P. R. China  
Room 702 of Inspection and Quarantine  
Building  
1011 of Fuqiang Road, Futian Qu,  
Shenzhen City, Guangdong Province,  
518045  
RÉPUBLIQUE POPULAIRE DE CHINE  
Tél. : 86-755-25588410  
LiuHong@szciq.gov.cn  
709274714@qq.com

**Dr Mona Dverdal Jansen**  
Veterinarian, Researcher, PhD  
Norwegian Veterinary Institute  
PO Box 750 Sentrum  
NO-0106 Oslo  
NORVÈGE  
Tél. : + 47 23 21 64 79  
Tél. : + 47 934 99 808  
mona-dverdal.jansen@vetinst.no  
www.vetinst.no

**Dr Sergio Hernan Marshall Gonzalez**  
Pontificia Universidad Católica  
de Valparaiso  
Av. Brazil 2950  
Valparaiso  
CHILI  
Tél. : +55 32-2273444  
sergio.marshall@pucv.cl

**Dr Henrique César Pereira  
Figueiredo**  
Head  
National Reference Laboratory for  
Aquatic Animal Diseases/MAPA  
Federal University of Minas Gerais  
BRÉSIL  
Tél. : +55 31 3409-2077  
figueiredoh@yahoo.com

**Dr Nadav Davidovich**  
Veterinary Services and Animal  
Health  
Ministry of Agriculture & Rural  
Development  
P.O. Box 12, Bet Dagan 5025001,  
ISRAËL  
Tél. : +972-50-6241511  
Tél. : Office: +972-3-9681728  
Nadavd@moag.gov.il

**Dr Nick Moody**  
Senior Research Scientist  
Team Leader – Aquatic Diagnostic  
Capability  
CSIRO AAHL Fish Diseases  
Laboratory  
5 Portarlington Rd, East Geelong  
VIC 3219  
Private Bag 24, Geelong VIC, 3220  
AUSTRALIE  
Tél. : +61 3 5227 5749  
nick.moody@csiro.au

**Dr Dong Thanh**  
Researcher, Department of  
Microbiology, Faculty of Science,  
King Mongkut's University of  
technology Thonburi (KMUTT)  
Bangkok 10140  
THAÏLANDE  
hadongntu@gmail.com

#### REPRÉSENTANT DE LA COMMISSION DES NORMES SANITAIRES POUR LES ANIMAUX AQUATIQUES

**Dr Edmund Peeler**  
(Vice-Président)  
Group Manager Aquatic Pest & Pathogens  
CEFAS  
Barrack Road, Weymouth  
Dorset, DT4 8UB UK  
ROYAUME-UNI  
ed.peeler@cefass.co.uk

#### SIÈGE DE L'OIE

**Dr Stian Johnsen**  
Chargé de mission  
Service des Normes  
s.johnsen@oie.int



## **GROUPE AD HOC ÉLECTRONIQUE SUR LE VIRUS DU TILAPIA LACUSTRE**

### **TERMES DE RÉFÉRENCE**

---

#### **Objectif du Groupe *ad hoc***

Le Groupe *ad hoc* électronique sur le virus du tilapia lacustre (TiLV) procédera à l'évaluation des méthodes de détection du TiLV, qu'elles aient ou non fait l'objet de publications. Il déterminera, pour chacune de ces méthodes, son degré d'avancement dans le processus de validation et déterminera les exigences complémentaires à satisfaire. Il recommandera le développement d'essais complémentaires s'ils sont jugés nécessaires. Il facilitera l'approvisionnement et la distribution de matériel de contrôle positif bien caractérisé aux fins de l'évaluation des méthodes, de leur mise en place et des essais interlaboratoires.

#### **Contexte**

Lors de sa réunion de septembre 2017, la Commission des normes pour les animaux aquatiques a procédé à l'évaluation de l'infection par le virus du tilapia lacustre (TiLV) au regard des critères d'inclusion dans la liste des maladies figurant au chapitre 1.2. *Critères d'inclusion des maladies des animaux aquatiques dans la liste de l'OIE du Code aquatique.*

La Commission des animaux aquatiques a passé en revue les nouvelles informations scientifiques disponibles au regard du troisième critère d'inclusion d'une maladie dans la liste de l'OIE : « Une définition de cas précise est disponible et il existe une méthode fiable de détection et de diagnostic. ». Elle a conclu que ce critère n'était pas satisfait en raison de l'insuffisance d'information concernant la sensibilité et la spécificité diagnostiques et analytiques du test.

#### **Termes de référence**

Le Groupe *ad hoc* électronique doit :

1. examiner de façon critique l'ensemble de la littérature traitant des méthodes de détection du TiLV ainsi que les méthodes n'ayant pas fait l'objet de publication et qui seraient également disponibles ;
2. formuler des recommandations sur les exigences requises en matière de développement de méthodes additionnelles ;
3. formuler des recommandations sur les exigences requises en matière de validation ;
4. déterminer les sources d'approvisionnement de matériel de contrôle positif bien caractérisé, viable et non viable, aux fins de l'évaluation des méthodes et de leur mise en place dans les laboratoires ;
5. élaborer un programme de travail pour les essais interlaboratoires ;
6. élaborer un rapport, avant la fin janvier 2018, qui sera examiné par la Commission des animaux aquatiques lors de sa réunion de février 2018.

Les membres du Groupe *ad hoc* doivent prendre connaissance du chapitre 1.2. *Critères d'inclusion des maladies des animaux aquatiques dans la liste de l'OIE*, des définitions figurant dans le glossaire du *Code aquatique* ainsi que des principes et méthodes de validation des épreuves de diagnostic des maladies infectieuses décrites dans le chapitre 1.1.2. *Principles and methods of validation of diagnostic assays for infectious diseases* du *Manuel aquatique*.

---



## ÉVALUATION DU GROUPE *AD HOC* SUR LE VIRUS DU TILAPIA LACUSTRE

### 1. Examen critique de l'ensemble de la littérature traitant des méthodes de détection du TiLV ainsi que des méthodes n'ayant pas fait l'objet de publication et qui seraient éventuellement disponibles

L'examen de la littérature d'intérêt<sup>2</sup> a permis d'identifier trois méthodes moléculaires qui pourraient potentiellement faire l'objet d'études de validation ultérieures :

- a) la méthode mettant en œuvre une RT-PCR semi-nichée (RT-nPCR) conventionnelle, décrite par Dong *et al.* (2017a) : les amorces utilisées sont celles conçues par Eyngor *et al.* (2014), auxquelles les modifications décrites par Tsofack *et al.* (2017) ont été apportées ;
- b) la méthode mettant en œuvre une RT-PCR en temps réel (RT-qPCR) et le colorant fluorescent SYBR, décrite par Tattiyapong *et al.* (2017b) ;
- c) la méthode mettant en œuvre une RT-PCR en temps réel (RT-qPCR), non publiée à ce jour, et qui a été communiquée au Groupe *ad hoc* par le Dr Hong.

La pertinence du choix de l'amorce et de la sonde pour chacune des méthodes moléculaires a été évaluée. Il a été confirmé que leur utilisation était appropriée dans le cadre des travaux de validation qui seraient conduits ultérieurement. Ces travaux consisteront en l'analyse *in silico* des séquences du TiLV, disponibles en libre accès et contenant des sites de liaison pour les amorces et sondes à l'étude.

L'isolement du virus par sa mise en culture sur des lignées cellulaires E-11, selon des procédures normalisées, a déjà été décrit. Il est possible de se procurer la lignée cellulaire E-11 auprès de banques de lignées cellulaires internationales telles que l'European Collection of Authenticated Cell Cultures (ECACC).

Le détail des informations recueillies dans les articles sélectionnés figure dans le document Excel fourni en pièce jointe. Dans ce document figurent notamment : a) l'objectif de l'étude, b) la source des animaux, c) la description de la PCR, d-g) la sensibilité analytique, la spécificité analytique, la sensibilité diagnostique, la spécificité diagnostique, h) la nature du tissu (le prélèvement), i) les espèces de tilapia concernées (domestiques ou sauvages) et j) les commentaires.

### 2. Formulation de recommandations sur les exigences requises en matière de développement de méthodes additionnelles

Le Dr Marshall a suggéré que soit développée une méthode LAMP (loop-mediated amplification) afin de compléter la gamme de tests moléculaires mis à la disposition des laboratoires pour la détection du TiLV. Il a offert de mettre lui-même au point cette méthode.

### 3. Formulation de recommandations sur les exigences requises en matière de validation

Les méthodes moléculaires mentionnées au point 1 ci-dessus présentent des niveaux d'avancement variés dans le processus de validation. Généralement, seul un faible nombre d'échantillons, prélevés localement sur des tilapias présentant des signes cliniques, a été testé. La détermination de la sensibilité analytique, de la spécificité analytique, de la sensibilité diagnostique et de la spécificité diagnostique, pour chacune des méthodes, n'a pas été achevée. Une méthode LAMP pour la détection du TiLV pourrait également être incluse dans l'évaluation initiale décrite ci-dessous.

Les recommandations concernant de futurs travaux de validation peuvent être appliquées de façon conjointe avec les recommandations concernant les essais interlaboratoires figurant au point 5 ci-dessous. Une évaluation initiale des méthodes devrait permettre :

- a) de déterminer la sensibilité analytique de chacune des méthodes moléculaires au moyen de dilutions décimales de solutions quantifiées d'ARN transcrits à partir de plasmides ;
- b) de déterminer la comparabilité des résultats d'analyse obtenus par les différentes méthodes moléculaires, en utilisant des dilutions décimales de solution d'ARN génomique de TiLV ;

<sup>2</sup> Douze articles ont été identifiés au moyen de moteurs de recherche en ligne tels que « Web of Science » et « PubMed ». En outre, dix articles en cours d'examen par des comités de lecture ainsi qu'une publication de la Food and Agriculture Organisation (FAO) ont été mis à disposition par certains des membres du Groupe *ad hoc* et par l'OIE.

### Annexe III (suite)

- c) de déterminer la spécificité analytique pour chacune des méthodes moléculaires, en utilisant les virus de poissons mis à disposition par les laboratoires des membres du Groupe *ad hoc* ;
- d) de déterminer la spécificité analytique pour chacune des méthodes moléculaires appliquées aux isolats de TiLV provenant de différentes localisations géographiques ; au préalable, ces isolats auront été caractérisés au moyen d'une PCR conventionnelle et du séquençage des segments 1, 5 et 9 ;
- e) d'obtenir des premières estimations de la répétabilité et de la reproductibilité.

Si l'évaluation initiale proposée ci-dessus, en association avec des essais interlaboratoires, donne des résultats acceptables, il sera alors possible de planifier et de conduire des études de validation plus complètes afin de déterminer la sensibilité et la spécificité diagnostiques des tests destinés aux animaux infectés, présentant ou non des signes cliniques.

#### **4. Détermination des sources d'approvisionnement en matériau de contrôle positif bien caractérisé, viable et non viable, aux fins de l'évaluation des méthodes et de leur mise en place dans les laboratoires**

Le Dr Nadav a indiqué qu'Israël pouvait fournir le matériau de contrôle positif. Deux chercheurs, le Dr Avi Eldar de l'Institut vétérinaire de Kimron (Kimron Veterinary Institute) et le Professeur Eran Bacharach de l'Université de Tel Aviv (Tel Aviv University), étudient le virus depuis qu'il a été décrit pour la première fois.

AAHL peut recevoir du matériel infectieux viable destiné aux travaux *in vitro* et *in vivo* sur des agents pathogènes exotiques pour l'Australie. Le laboratoire du Dr Moody est en capacité de réceptionner des souches infectieuses du TiLV. Elles seront alors mises en culture sur des lignées cellulaires E-11. Dès lors qu'elles auront perdu leur pouvoir pathogène, ces souches seront envoyées aux laboratoires des membres du Groupe *ad hoc*, qui pourront les utiliser à des fins d'évaluations et d'études de comparabilité. Certains travaux devront être menés afin de déterminer le niveau de dégradation de l'ARN du TiLV exposé aux rayons gamma. Toutefois, les travaux conduits par AAHL sur d'autres virus des poissons suggèrent que ce traitement ne rend pas le matériel irradié impropre à l'usage.

Une des recommandations du Groupe *ad hoc* est que le siège de l'OIE prenne contact avec les Délégués des États membres de l'OIE dans lesquels la présence du TiLV a été rapportée et qu'il leur demande de bien vouloir fournir leur matériau de contrôle positif. Ainsi, ce dernier sera utilisé aux fins de l'évaluation des méthodes moléculaires et d'essais interlaboratoires. Des accords de transfert de matériau devraient être conclus afin de garantir que le matériau faisant l'objet du transfert sera uniquement utilisé dans le cadre des activités du Groupe *ad hoc*.

#### **5. Élaboration d'un programme de travail pour les essais interlaboratoires**

Idéalement, le matériau utilisé dans le cadre des essais interlaboratoires doit être représentatif des tissus prélevés sur le terrain et doit être adressé au laboratoire pour être testé. Cependant, en raison des difficultés inhérentes au transfert transfrontalier de matériel infectieux et du risque de défaut d'homogénéité associé à l'utilisation de poissons infectés, il peut être opportun d'utiliser le surnageant des lignées cellulaires infectées comme source d'approvisionnement alternative pour les essais interlaboratoires. Les échantillons du panel seront donc testés afin de s'assurer que les exigences en matière d'homogénéité et de stabilité sont satisfaites. Le matériau sera préparé en quantité suffisante afin d'en permettre la distribution aux autres laboratoires désireux de réaliser les essais recommandés par le Groupe *ad hoc*, sous réserve qu'ils aient été approuvés au préalable par la Commission des animaux aquatiques.

Chacun des panels utilisés à des fins de comparaison sera composé de 20 échantillons positifs et 10 échantillons négatifs, préparés de la façon suivante :

- a) 7 échantillons obtenus par dilution décimale en série afin de permettre l'estimation de l'efficacité des méthodes moléculaires en temps réel ;
- b) 2 échantillons moyennement positifs ;
- c) 2 échantillons faiblement positifs ;
- d) 4 échantillons obtenus par dilution décimale d'échantillons moyennement et faiblement positifs ;
- e) 5 échantillons positifs présentant des titres viraux variés ;
- f) 10 échantillons négatifs, préparés à partir du surnageant des cultures de lignées cellulaires non infectées.



Les laboratoires participant recevront les échantillons sous forme de tubes numérotés et les testeront ainsi à l'aveugle. Les panels d'échantillons seront testés au moins trois fois. Les résultats seront communiqués au président du Groupe *ad hoc* afin qu'il les compile. Il les communiquera en retour sous format non codé aux laboratoires participants afin de pouvoir initier les discussions. La duplication des échantillons et l'utilisation de dilutions décimales permettent d'effectuer l'analyse statistique qui peut être utilisée pour la détermination de la répétabilité et de la reproductibilité.

Les résultats de l'évaluation des méthodes moléculaires pour l'identification du TiLV, la production de données de validation préliminaires ainsi que les essais interlaboratoires pourront faire l'objet de présentations lors de conférences organisées par l'OIE. Ils pourront également faire l'objet de publication dans la *Revue scientifique et technique* de l'OIE ou dans d'autres revues à comité de lecture.

#### **Références :**

Dong *et al.* (2017a). Emergence of tilapia lake virus in Thailand and an alternative semi-nested RT-PCR for detection. *Aquaculture*, 476:111.

Eyngor *et al.* (2014). Identification of a novel RNA virus lethal to tilapia. *J. Clin. Micro.*, 52(12): 4137.

Tattiyapong *et al.* (2017b). Development and validation of a reverse transcription quantitative polymerase chain reaction for tilapia lake virus detection in clinical samples and experimentally challenged fish. *J. Fish Dis.*, 12708.

Tsofack *et al.* (2017). Detection of Tilapia Lake Virus in clinical samples by culturing and nested reverse transcription-PCR. *J. Clin. Micro.*, 55(3): 759.

Liamnimitr *et al.* (2018). Non-lethal sampling for Tilapia Lake Virus by RT-qPCR and cell culture. *Aquaculture*, 486:75–80.

Senapin *et al.* (2018). Inapparent infection cases of tilapia lake virus (TiLV) in farmed tilapia. *Aquaculture*.

---

