



**HAL**  
open science

# Évaluation et prise en compte de l'incertitude diagnostique des tests utilisés pour le dépistage sérologique des infections par *Coxiella burnetii* chez les ruminants domestiques

Thibaut Lurier

► **To cite this version:**

Thibaut Lurier. Évaluation et prise en compte de l'incertitude diagnostique des tests utilisés pour le dépistage sérologique des infections par *Coxiella burnetii* chez les ruminants domestiques. Agronomie. Université Clermont Auvergne, 2021. Français. NNT : 2021UCFAC069 . tel-03651999

**HAL Id: tel-03651999**

**<https://theses.hal.science/tel-03651999v1>**

Submitted on 26 Apr 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITÉ  
DE LYON



VetAgro Sup



**École doctorale Sciences de la Vie, Santé, Agronomie, Environnement,  
Université Clermont Auvergne**

# Thèse

pour l'obtention du grade de

**DOCTEUR EN SCIENCES**

(Spécialité : Biologie et Santé)

Soutenue publiquement le 05/10/2021

---

**Évaluation et prise en compte de l'incertitude diagnostique des  
tests utilisés pour le dépistage sérologique des infections par  
*Coxiella burnetii* chez les ruminants domestiques**

---

**Thibaut LURIER**

Directrice de thèse : Dr Elsa JOURDAIN

Co-directrice de thèse : Dr Florence AYRAL

Co-encadrants : Pr Marie-Laure DELIGNETTE-MULLER & Dr Elodie ROUSSET

Devant les membres du jury composé de :

Président	Marc TABOURET, Directeur Centre Anses de Niort
Rapporteurs	Christine FOURICHON, Professeur à Oniris Nantes Claude SAEGERMANN, Professeur à l'université de Liège
Examineurs	Fabien SUBTIL, Maître de conférences à l'université de Lyon 1
Directrice et co-directrice	Elsa JOURDAIN, Chargée de Recherche à l'INRA Auvergne-Rhône-Alpes de Theix Florence AYRAL, Maître de conférences à VetAgro Sup
Encadrant	Elodie ROUSSET, Chargée de Projet Anses Marie-Laure DELIGNETTE MULLER, Professeur à VetAgro Sup

Unités d'accueil :

UMR0346 : Épidémiologie des Maladies Animales et Zoonotiques, Inrae Auvergne-Rhône-Alpes, Route de Theix, 63122 Saint-Genès Champanelle & VetAgro Sup, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy L'Etoile

USC 1233/UR RS2GP : Université de Lyon, INRAE, VetAgro Sup, 1 avenue bourgelat 69 280 Marcy l'Etoile, France



## RÉSUMÉ

---

### Évaluation et prise en compte de l'incertitude diagnostique des tests utilisés pour le dépistage sérologique des infections par *Coxiella burnetii* chez les ruminants domestiques

La fièvre Q est une maladie zoonotique causée par la bactérie *Coxiella burnetii*. La plupart des cas cliniques humains recensés sont liés à une exposition à des ruminants domestiques excréteurs de la bactérie. Chez les ruminants domestiques, en raison de la présence de porteurs latents et de l'excrétion intermittente de la bactérie, les tests sérologiques de type ELISA sont recommandés par l'OIE pour témoigner d'infections passées ou en cours. Cependant, il n'existe pas de méthode *gold standard* permettant de déterminer avec certitude le statut sérologique des individus. À ce jour, trois tests ELISA (ci-après nommés test 1, 2, 3) sont commercialisés en Europe, mais leurs performances diagnostiques sont mal connues. La thèse est divisée en trois parties avec respectivement pour objectifs : (1) d'estimer les performances diagnostiques chez les bovins, ovins et caprins des trois tests ELISA commercialisés en Europe pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii* ; (2) d'estimer les séroprévalences réelles des infections par *C. burnetii* chez ces trois espèces de ruminants domestiques sur la base du test 2 en prenant en compte son incertitude diagnostique ; (3) de construire un outil en ligne d'aide à l'interprétation des plans de dépistage sérologique en intégrant les estimations réalisées dans les parties 1 et 2.

Les travaux s'appuient sur les données collectées dans le cadre du dispositif de surveillance de la fièvre Q mis en place entre 2012 et 2014 dans dix départements français. La base de données comprend 9 972 bovins, 5 024 caprins et 7 632 ovins échantillonnés dans 1 602 élevages sélectionnés de façon aléatoire. Tous les échantillons de sérum ont été analysés avec le test 2 par un panel de laboratoires d'analyses vétérinaires et environ 20 % (n= 4 319) ont également été analysés avec les tests 1, 2 et 3 au laboratoire national de référence de la fièvre Q.

Les performances diagnostiques des trois tests ELISA pour chaque espèce de ruminant ont été estimées à l'aide d'un modèle à classes latentes prenant en compte la dépendance conditionnelle entre les trois tests. L'incertitude diagnostique estimée pour le test 2 a permis d'étudier la distribution de la proportion d'élevages séropositifs selon les départements (séroprévalence inter-élevage) et la proportion d'animaux séropositifs selon les élevages (séroprévalence intra-élevage) pour chacune des espèces. Enfin, une application Shiny libre d'accès à destination des acteurs de terrain a été développée pour permettre d'estimer la probabilité que l'individu testé ou le troupeau dépisté soit réellement séropositif sachant les caractéristiques de l'élevage, le contexte épidémiologique et les résultats du plan de dépistage réalisé.

L'ensemble de ces travaux permet de mieux interpréter les résultats obtenus avec ces tests ELISA dans le cadre d'un dépistage ciblé ou d'un programme de surveillance de la fièvre Q à l'échelle d'élevages, de régions, voire de pays. Ils proposent donc des éléments de réponses aux exigences réglementaires récemment mises en application dans le cadre du Règlement (UE) 2018/1882 et catégorisant la fièvre Q comme une maladie de catégorie E à surveillance obligatoire.

## MOTS-CLEFS

---

Fièvre Q, Modèle à classes latentes, Bayésien, Performance diagnostique, Facteurs de risque, Valeurs prédictives, Surveillance, Bovin, Caprin, Ovin.

## SUMMARY

---

### **Evaluation and consideration of the diagnostic uncertainty of tests used for the serological screening of *Coxiella burnetii* infections in domestic ruminants**

Q fever is a zoonotic disease, caused by the bacterium *Coxiella burnetii*. Most of human clinical cases are related to an exposition to domestic ruminants. Because domestic ruminants may be latently infected or intermittently shed the bacterium, serological methods such as ELISA are recommended by the OIE for the detection of past or present infections by *C. burnetii*. However, no gold standard method is available to assess with certainty the serological status of an animal. To date, three ELISA tests (later referred to as test 1, 2 and 3) are commercialized in Europe but their diagnostic performances are not well known. The thesis manuscript is divided into three parts, with the objectives: (1) to assess the diagnostic performances of the three ELISA tests commercialized for the serological diagnosis of *C. burnetii* infection in cattle, sheep and goats; (2) to assess true seroprevalence levels in these three domestic ruminant species based on test 2 while accounting for the diagnostic uncertainty of this test; (3) to develop an online tool to help stakeholders interpreting the results of a serological screening plan based on the results obtained in parts 1 and 2.

This work is based on data collected for the Q fever surveillance program performed between 2012 and 2014 in 10 French departments. The database includes serological results from 9,972 cattle, 5,024 goats and 7,632 sheep sampled from 1,602 herds randomly selected. All samples were analyzed with test 2 and approximately 20% (n= 4,319) were also analyzed with tests 1, 2 and 3 at the French national reference laboratory for Q fever.

Diagnostic performances of the three ELISA tests were assessed using a latent class model accounting for the diagnostic accuracy between the three tests. Diagnostic uncertainty values estimated for test 2 were used to model the distribution of the proportion of true seropositive herds in each department (within-herd seroprevalence) and the proportion of true seropositive animals in seropositive herds (within-herd seroprevalence) for each ruminant species. Finally, a freely accessible Shiny application was designed so that stakeholders may assess the probability that an animal tested or a herd screened is truly seropositive given the herd's characteristics, the epidemiological context and the results of the screening plan performed.

This work allows better interpreting ELISA results obtained as part of a Q fever targeted screening plan or surveillance program at the scale of herds, regions or even countries. It provides first answers to the mandatory requirements related to the recent application of the EU 2018/1882 regulation, which classifies Q fever as a category E disease with a need for surveillance.

## KEY WORDS

---

Q fever, Latent class model, Bayesian, Diagnostic accuracy, Risk factor, Predictive values, Surveillance, Cattle, Goats, Sheep.

## REMERCIEMENTS

---

### À Christine FOURICHON et Claude SAEGERMANN

*Pour nous avoir fait l'honneur d'être rapporteurs de cette thèse,  
Sincères remerciements*

### À Fabien SUBTIL et Marc TABOURET

*Pour nous avoir accepté d'être examinateurs de cette thèse,  
Sincères remerciements*

### À Elsa JOURDAIN et Florence AYRAL

*Pour m'avoir encadré sans faille pendant ces trois années (y compris pendant ces derniers mois) et pour m'avoir suivi dans les méandres des modèles à classes latentes et de l'incertitude diagnostique,  
Sincères remerciements*

### À Marie-Laure DELIGNETTE-MULLER

*Pour m'avoir initié, éclairé et m'avoir remis la bonne direction dans le merveilleux monde de l'inférence bayésienne,  
Sincères remerciements*

### À Élodie ROUSSET

*Sans données la méthode n'est rien ! Pour m'avoir accueilli au LNR fièvre Q et pour être toujours à l'écoute de mes propositions,  
Sincères remerciements*

### Aux membres du groupe Fièvre Q de la plateforme ESA et en particulier à Renée DE CREMOUX, Kristel GACHE, Carole SALA

*Pour votre participation essentielle à ces travaux,  
Sincères remerciements*

### Aux membres du groupe de groupe de suivi surveillance recherche de la plateforme ESA en particulier à Céline DUPUY

*Pour l'animation du groupe et ta participation,  
Sincères remerciements*

### Aux différents membres des comités de thèse, Fabien CORBIÈRE, Angeli KODJO et Patrick GASQUI

*Pour vos conseils avisés sur la conduite de ces travaux,  
Sincères remerciements*

### À David ABRIAL et Guillaume KON KAM KING

*Pour votre aide dans mes errances hamiltoniennes,  
Sincères remerciements*

### À Jocelyn DE-GOER-DE-HERVE et aux serveurs d'EPIA

*Pour ta patience et ton aide qui ont compensé mes balbutiements dans la domestication des dragons d'EpiA,  
Sincères remerciements*

### À Aurélie SIBERCHICOT

*Pour m'avoir partagé les scripts de l'application Shiny,  
Sincères remerciements*

### À Philippe DUFOUR

*Pour m'avoir montré comment fonctionnaient les tests ELISA et pour avoir réalisé les analyses du projet KitEval 4500,  
Sincères remerciements*

**Aux éleveurs** qui ont participé à l'étude, **Aux GTV et aux vétérinaires** qui ont réalisé les prélèvements, **Aux laboratoires vétérinaires départementaux** qui ont collecté et analysé les prélèvements, **À GDS France et les GDS départementaux** qui ont organisé la campagne localement,

*Sincères remerciements*

**À tous les membres d'EpiA et à Xavier BAILLY, Gwenael VOURCH, Karine CHALVET-MONFRAY et Michelle MAZALON**

*Pour m'avoir accueilli dans l'unité et accompagné tout au long de ces trois années,  
Sincères remerciements*

**À tous les membres du service de pathologie du Bétail et notamment Dominique LEGRAND, Marie Anne ARCANGIOLI, Claire BECKER, Bernard JANKOWIAK, Catherine MOTTET, Anna GORGETTE et Laurène GUILLERMIN**

*Pour m'avoir accueilli, soutenu et intégré. Au plaisir de continuer à travailler ensemble,  
Sincères remerciements*

**À toutes les personnes avec qui j'ai pu échanger au cours de ces années,**

*Aux projets réalisés, ceux qui n'ont pas abouti, à ceux qui sont encore en cours et à ceux qui viendront,  
Sincères remerciements*

***À Caroline***



# TABLE DES MATIÈRES

A.	Introduction générale.....	19
I.	Importance et conséquence clinique des infections par <i>C. burnetii</i> chez l'humain et l'animal.....	19
I.1.	Importance chez l'humain.....	19
I.1.1	Incidence et présentation clinique chez l'humain.....	19
I.1.2	Sources de contamination des humains.....	21
I.2.	Importance chez les ruminants domestiques.....	22
I.2.1	Prévalence à l'échelle européenne chez les ruminants domestiques.....	22
I.2.2	Présentation clinique chez les ruminants domestiques.....	22
I.2.3	Gestion de l'infection chez les ruminants domestiques.....	23
I.2.4	Importance de la surveillance des infections par <i>C. burnetii</i> chez les ruminants domestiques.....	23
II.	Physiopathologie des infections par <i>Coxiella burnetii</i> chez les ruminants domestiques.....	24
II.1.	<i>Coxiella burnetii</i> : une bactérie intracellulaire pléiomorphe.....	24
II.1.1	<i>Coxiella burnetii</i> : taxinomie et protéines de surface.....	24
II.1.2	Les différentes formes de la bactérie.....	24
II.2.	Pathogénie de la bactérie chez les ruminants domestiques.....	25
II.2.1	Apport des infections expérimentales.....	25
II.2.2	Pathogénie lors d'infections naturelles.....	26
II.3.	Réponse immunitaire chez les ruminants domestiques.....	26
II.3.1	Immunité humorale.....	27
II.3.2	Immunité cellulaire.....	28
II.3.3	Vaccination.....	28
III.	Diagnostic et dépistage des infections par <i>C. burnetii</i> chez les ruminants domestiques.....	29
III.1.	Objectif de la mise en place de stratégies de diagnostic et de dépistage des infections par <i>C. burnetii</i> .....	29
III.1.1	Objectifs pour les ruminants domestiques.....	30
III.1.2	Objectifs en réponse à un risque zoonotique.....	30
III.2.	Description des méthodes de diagnostic direct.....	31
III.2.1	Culture bactérienne.....	31
III.2.2	Mise en évidence de la bactérie par « coloration ».....	31
III.2.3	Diagnostic moléculaire (PCR).....	31
III.2.4	Mise en évidence d'une excrétion de <i>C. burnetii</i> par PCR.....	31
III.2.5	Imputation d'un avortement à <i>C. burnetii</i> par PCR.....	32
III.2.6	Dépistage à l'échelle de l'élevage.....	32
III.3.	Description des méthodes de diagnostic indirect.....	32
III.3.1	Diagnostic par mise en évidence de la réaction immunitaire cellulaire.....	32
III.3.2	Diagnostic par mise en évidence de la réaction immunitaire humorale.....	33
III.3.3	Descriptif des trois tests ELISA commercialisés en France.....	33
III.3.4	Dépistage sérologique à l'échelle du troupeau.....	34
III.3.5	Diagnostic sérologique et détections des infections par <i>C. burnetii</i> .....	34
III.3.6	Sérologie IgG/IgM et phase spécifique.....	35
III.4.	Recommandations d'usage des tests selon leurs performances.....	35
III.4.1	Erreurs analytiques et diagnostiques.....	35
III.4.2	Des recommandations basées sur l'expertise.....	35
III.4.3	Bilan.....	37
IV.	Évaluation des performances d'une méthode diagnostique.....	37
IV.1.	Performances analytiques.....	37
IV.1.1	Définitions.....	37
IV.1.2	Particularité des méthodes ELISA.....	38
IV.1.3	Suivis des méthodes ELISA mis en œuvre par le LNR fièvre Q.....	38
IV.1.4	Maintien des performances analytiques dans un réseau de laboratoires.....	39

IV.2.	Évaluation des performances diagnostiques à partir d'un matériel de référence.....	39
IV.2.1	Définition.....	39
IV.2.2	Évaluation des Se et Sp à partir d'échantillons de statuts connus.....	40
IV.2.3	Évaluation des Se et Sp à partir d'un test de référence imparfait.....	40
IV.3.	Évaluation des performances diagnostiques sur un échantillon représentatif en l'absence de gold standard.....	40
IV.3.1	Les modèles à classes latentes.....	40
IV.3.2	Problématique de la dépendance conditionnelle entre les tests.....	42
IV.3.3	Limites des modèles à classes latentes.....	43
V.	Incertitude diagnostique des tests ELISA et conséquences sur l'interprétation des résultats.....	44
V.1.	Performances diagnostiques évaluées par des modèles à classes latentes pour les trois tests ELISA commercialisés.....	44
V.1.1	Estimations réalisées dans les études précédentes.....	44
V.1.2	Risque de biais des études publiées à ce jour.....	44
V.1.3	Pertinence biologique des estimations.....	44
V.2.	Prise en compte de l'incertitude diagnostique.....	46
V.2.1	Interprétation des résultats à l'échelle individuelle.....	46
V.2.2	Interprétation des résultats à l'échelle de l'élevage.....	46
V.3.	Séroprévalence des infections par <i>C. burnetii</i> chez les ruminants domestiques.....	47
V.3.1	Des plans d'échantillonnage variables.....	48
V.3.2	Des tests et méthodes diagnostiques différents.....	48
V.3.3	Prise en compte de l'incertitude diagnostique pour estimer une séroprévalence.....	48
VI.	Annonce du plan de thèse.....	49
VI.1.	Contexte et données.....	49
VI.1.1	Dispositif de surveillance.....	49
VI.1.2	Projet KitEval 4500.....	49
VI.2.	Objectifs des travaux.....	49
B.	Partie 1 : Évaluation des performances diagnostiques des tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par <i>C. burnetii</i> par des modèles à classes latentes.....	51
I.	Introduction.....	53
II.	Materials and methods.....	54
II.1.	Materials.....	54
II.1.1	Data.....	54
II.1.2	Serological tests.....	55
II.2.	Statistical analysis.....	56
II.2.1	Latent status and hierarchical structure of the model.....	58
II.2.2	Conditional dependence between the three tests.....	58
II.2.3	Number of individuals in each category of the <i>cross-classified test results</i> .....	59
II.2.4	Constant accuracy across populations.....	59
II.2.5	Prior distributions.....	59
II.2.6	Accuracy of the model.....	60
II.2.7	Estimation of within-herd seroprevalence distribution.....	60
II.2.8	Herd sensitivities and specificities.....	61
III.	Results.....	61
III.1.	Validation of the hypothesis of constant accuracy across populations.....	61
III.2.	Sensitivity and specificity estimates at the individual level.....	61
III.3.	Between- and within-herd seroprevalence accounting for diagnostic errors.....	63
III.4.	Optimal sample size accounting for herd sensitivity and specificity.....	64
III.5.	Accuracy of the model.....	65
III.5.1	Comparison of Cauchy and uniform prior distributions.....	65
III.5.2	Accuracy of the latent class model retained in the current study.....	65
III.5.3	Sensitivity analysis.....	66
IV.	Discussion.....	66
IV.1.	Applicability of the data.....	66

IV.2.	Definition of the latent status.....	67
IV.3.	Constant accuracy across populations .....	67
IV.4.	Sensitivity and specificity estimates .....	67
IV.4.1	Comparison with previous studies .....	68
IV.4.2	Differences between the three ELISA tests .....	68
IV.4.3	Conditional dependences between tests .....	69
IV.5.	Between- and within-herd seroprevalence estimates .....	69
IV.5.1	Between-herd seroprevalence .....	69
IV.5.2	Within-herd seroprevalence.....	69
IV.6.	Herd sensitivity and specificity .....	70
IV.7.	Validity of the model .....	70
IV.7.1	Identifiability of the model.....	70
IV.7.2	Importance of the prior .....	71
IV.7.3	Accuracy of the model.....	71
V.	Conclusion .....	72
C.	Partie 2 : Estimation des distributions des séroprévalences intra- et inter-élevages de l'infection par <i>Coxiella burnetii</i> chez les ruminants domestiques en prenant en compte l'incertitude diagnostique du test utilisé .....	73
I.	Introduction.....	74
I.1.	Contexte de l'étude .....	74
I.2.	Méthode de prise en compte de l'incertitude diagnostique pour estimer des séroprévalences intra- et inter-élevages .....	75
II.	Matériel et méthode .....	76
II.1.	Données.....	76
II.2.	Modèle et inférence .....	78
II.2.1	Définition des statuts sérologiques à l'échelle des individus et des troupeaux.....	78
II.2.2	Principe et hypothèses principales du modèle.....	79
II.2.3	Description du modèle original .....	80
II.2.4	Loi de distribution <i>a priori</i> du modèle original.....	82
II.2.5	Inférences .....	83
II.3.	Interprétation et valorisation des résultats du modèle .....	84
II.3.1	Risques relatifs.....	84
II.3.2	Distributions des séroprévalences intra- et inter-élevages.....	85
II.4.	Vérification des hypothèses du modèle et de l'ajustement du modèle aux données .....	85
II.4.1	Impact de l'incertitude du statut vaccinal .....	85
II.4.2	Normalité des effets aléatoires .....	85
II.4.3	Ajustement du modèle aux données.....	85
II.4.4	Similarité des distributions de séroprévalences intra-élevages entre départements .....	85
II.4.5	Performance du modèle original et des modèles alternatifs .....	85
II.4.6	Calcul de puissance.....	86
III.	Résultats .....	86
III.1.	Séroprévalences apparentes sans prise en compte des Se et Sp du test 2.....	86
III.1.1	Échelle inter-élevage .....	86
III.1.2	Échelle intra-élevage .....	87
III.2.	Distribution des séroprévalences et risques relatifs estimés par le modèle.....	87
III.2.1	Comparaison des résultats du test sérologique et des estimations du modèle .....	87
III.2.2	Échelle inter-élevage .....	88
III.2.3	Échelle intra-élevage .....	93
III.2.4	Sensibilité et spécificité estimées.....	94
III.3.	Vérification des hypothèses du modèle .....	96
III.3.1	Impact de l'inclusion des élevages de statut vaccinal inconnu .....	96
III.3.2	Normalité des effets aléatoires .....	97
III.3.3	Ajustement du modèle aux données observées .....	98
III.3.4	Hypothèse d'une distribution identique des séroprévalences intra-élevages des élevages	

positifs dans tous les départements.....	98
III.3.5 Justesse du modèle et conséquences du choix des distributions <i>a priori</i> .....	99
III.3.6 Calcul de puissance.....	99
IV. Discussion.....	100
IV.1. Représentativité des données et extrapolation des résultats.....	100
IV.1.1 Échantillonnage des animaux et des élevages .....	100
IV.1.2 Méthode de sélection des 10 départements inclus .....	100
IV.1.3 Conséquences de l'exclusion des troupeaux vaccinés contre <i>C. burnetii</i> .....	101
IV.1.4 Extrapolation des données.....	102
IV.2. Définition du statut latent et interprétation épidémiologique .....	102
IV.3. Estimation des séroprévalences inter et intra-élevages.....	103
IV.4. Facteurs de risques de séropositivité .....	103
IV.4.1 Taille des élevages .....	103
IV.4.2 Type de production .....	104
IV.5. Sensibilité et spécificité du test estimées par le modèle .....	105
IV.6. Validité et intérêts du modèle .....	105
IV.6.1 Vérification des hypothèses du modèle .....	105
IV.6.2 Variabilité des séroprévalences intra-élevages entre départements .....	106
IV.6.3 Ajustement du modèle aux données observées .....	106
IV.6.4 Apport de la simulation .....	106
V. Conclusion .....	107
D. Partie 3 : Calcul des valeurs prédictives des tests .....	108
I. Introduction.....	110
I.1. À l'échelle individuelle.....	110
I.1.1 Formule de calcul des valeurs prédictives.....	110
I.1.2 Estimation de la séroprévalence intra-élevage conditionnelle sachant les résultats obtenus .....	110
I.2. À l'échelle du troupeau.....	111
I.2.1 Formule de calcul des valeurs prédictives.....	111
I.3. Variabilité et incertitude.....	112
I.3.1 Variabilité des séroprévalences intra- et inter-élevage .....	112
I.3.2 Incertitude .....	112
I.3.3 Une prise en compte possible de la variabilité et de l'incertitude par MCMC .....	113
I.4. Mise à disposition de la méthode de calculs.....	114
I.4.1 Objectifs.....	114
I.4.2 Mise à disposition.....	114
I.4.3 Utilisation des MCMC dans l'application Shiny .....	115
I.5. Annonce du plan.....	115
II. Estimation des distributions <i>a priori</i> des paramètres du modèle.....	116
II.1. Description des données et du modèle.....	116
II.2. Estimations obtenues et distribution <i>a priori</i> informative .....	117
III. Description du modèle et de l'inférence des paramètres.....	120
III.1. Séroprévalences inter- et intra-élevages attendues .....	121
III.1.1 Intra-élevage.....	121
III.1.2 Inter-élevage.....	121
III.2. Distribution alternative de la séroprévalence inter-élevage.....	121
III.2.1 Intérêt de la prise en compte du contexte épidémiologique de l'élevage.....	121
III.2.2 Méthode de prise en compte du contexte épidémiologique de l'élevage .....	122
III.3. Séroprévalence intra-élevage conditionnelle.....	123
III.4. Inférence et échantillonnage.....	123
IV. Méthode de calcul des probabilités de séropositivité .....	123
IV.1. Probabilité de séropositivité du troupeau.....	124
IV.2. Probabilité de séropositivité des individus.....	125
IV.3. Estimation ponctuelle et intervalle de crédibilité .....	126

V.	Interface utilisateur de l'application Shinycox .....	127
V.1.	Page d'accueil .....	127
V.2.	Étape 1 : Renseignement des caractéristiques de l'élevage.....	127
V.3.	Étape 2 : Renseignement des informations concernant le contexte épidémiologique .....	128
V.4.	Étape 3 : Renseignement des informations concernant le plan de dépistage .....	129
V.5.	Étape 4 : Calcul des valeurs prédictives.....	130
VI.	Résultats de l'application sur un cas pratique.....	131
VI.1.	Contexte.....	131
VI.2.	Premiers éléments de réponse sur la base des résultats acquis sur les sept individus testés.....	131
VI.3.	Seconds éléments de réponse à la suite du test de l'intégralité du troupeau .....	132
VI.4.	Bilan .....	132
VII.	Discussion .....	133
VII.1.	Cadre et objectif de l'utilisation .....	133
VII.2.	Ajustement du modèle à la situation réelle, incertitude et variabilité des estimations .....	133
VII.2.1	Largeurs des intervalles de crédibilité.....	133
VII.2.2	Lever pour améliorer la précision des estimations .....	134
VII.3.	Modèle et méthode d'inférence utilisées .....	135
VII.3.1	Information <i>a priori</i> incluse dans le modèle.....	135
VII.3.2	Distribution binomiale du nombre d'individus testés positifs .....	136
VII.4.	Interprétation de l'incertitude et seuil de décision .....	137
VIII.	Conclusion .....	137
E.	Partie 4 : Valorisation des travaux et perspectives .....	138
I.	Conséquences des performances diagnostiques estimées.....	141
I.1.	Robustesse et limites des estimations des Se et Sp .....	141
I.1.1	Données utilisées.....	141
I.1.2	Contexte d'application des estimations réalisées .....	141
I.1.3	Comparaison des Se et Sp estimées avec les études précédentes .....	141
I.2.	Conséquences de l'incertitude diagnostique des tests ELISA des infections par <i>C. burnetii</i> ...	142
I.2.1	À l'échelle individuelle.....	142
I.2.2	Conséquences des Se et Sp à l'échelle du troupeau .....	143
I.2.3	Conséquences des Se et Sp sur la séroprévalence apparente .....	145
II.	Préconisation d'utilisation des tests.....	148
II.1.	Critère de choix du test.....	148
II.1.1	Indicateurs utilisables pour comparer des tests diagnostiques .....	148
II.1.2	Conséquences des erreurs de classification.....	149
II.2.	Choix du test optimal à l'échelle individuelle .....	149
II.2.1	En maximisant l'indice de Youden.....	149
II.2.2	En minimisant le taux d'individus mal classés.....	150
II.2.3	Conclusion à l'échelle des individus .....	150
II.3.	Choix du test optimal à l'échelle du troupeau.....	151
II.3.1	En maximisant l'indice de Youden.....	151
II.3.2	En minimisant le taux d'élevages mal classés .....	152
II.3.3	Conclusion à l'échelle du troupeau .....	152
II.4.	Interprétation des résultats des plans de dépistage .....	153
II.4.1	Valeurs prédictives des plans de dépistage.....	153
II.4.2	Confirmation du statut séropositif du troupeau .....	155
III.	Plans de dépistage optimaux à l'échelle de l'élevage .....	156
III.1.	Méthodes de construction d'un plan de dépistage.....	156
III.1.1	Limite des plans de dépistage basés « sur les données ».....	156
III.1.2	Plans de surveillances basés sur leur performance ou sur le risque .....	156
III.1.3	Méthode de calcul des indicateurs.....	158
III.2.	Détection des troupeaux réellement séropositifs et confirmation d'un statut séronégatif ou « indemne » d'un élevage.....	158
III.2.1	Contexte, objectifs et indicateurs.....	158

III.2.2	Plan d'échantillonnage uniquement basé sur les performances .....	159
III.2.3	Plan d'échantillonnage basé sur les performances et les risques de séropositivité .....	160
III.2.4	Autres plans de dépistage envisageables pour certifier un statut indemne d'un élevage	162
III.3.	Évaluation du statut d'un élevage .....	163
III.3.1	Plan d'échantillonnage uniquement basé sur les performances .....	164
III.3.2	Plan d'échantillonnage basé sur les performances et les risques de séropositivité .....	165
III.3.3	Limites des plans de dépistage optimaux préconisés pour évaluer le statut d'un élevage .....	167
IV.	Perspectives.....	168
IV.1.	Perspective d'utilisation de la méthodologie de prise en compte de l'incertitude diagnostique des tests ELISA .....	169
IV.1.1	Interprétation des résultats d'un plan de dépistage.....	169
IV.1.2	Utilisation de la méthodologie dans le cadre de la surveillance .....	170
IV.2.	Perspectives d'harmonisation des trois tests ELISA .....	171
IV.2.1	Intérêt d'une harmonisation des tests ELISA commercialisés.....	171
IV.2.2	Leviers d'action pour une harmonisation.....	172
IV.2.3	Méthodologie pour choisir les seuils de positivité .....	173
IV.3.	Autres perspectives d'utilisation de la sérothèque KitEval 4500 .....	175
IV.3.1	Interprétation des valeurs quantitatives des tests ELISA .....	175
IV.3.2	Création de matériels de références qualifiés de façon probabiliste .....	175
IV.3.3	Évaluation d'autres tests ELISA .....	175
IV.4.	Autres utilisations des modèles à classes latentes pour le diagnostic des infections par <i>C. burnetii</i> .....	176
IV.4.1	Dans un contexte abortif .....	176
IV.4.2	Pour diagnostiquer ou « dater » une infection .....	177
IV.4.3	Dans d'autres contextes en l'absence de test de références parfait .....	177
F.	Conclusion générale.....	179
G.	Références bibliographiques .....	180

## TABLE DES ANNEXES

---

Annexes .....	199
A. Annexes générales thèse .....	200
I. Valorisation des travaux dans le cadre de la thèse .....	200
II. Autres publications.....	201
III. Autres activités .....	202
B. Annexes partie 1 .....	203
I. Cross-classified test results in each department and verification of the hypothesis of constant accuracy across populations .....	203
I.1. Crosse-classified test results.....	203
I.2. Hypothesis of constant accuracy across populations.....	204
II. Complete specifications of the model.....	206
III. Simulation study.....	208
III.1. Description of the five scenarios used to create simulation datasets.....	208
III.2. Assessment of estimator performances.....	211
IV. Herd sensitivity, herd specificity .....	216
V. Estimations of the model .....	218
VI. Sensitivity analysis.....	219
C. Annexes partie 2 .....	220
I. Évaluation de l'hypothèse de l'absence d'effet du département sur les séroprévalences intra-élevages des élevages séropositifs.....	220
II. Étude des performances des modèles par simulation .....	223
II.1. Objectifs.....	223
II.2. Modèles évalués .....	223
II.3. Scénarios de simulation .....	223
II.4. Résultats .....	228
III. Calcul de puissance.....	239
III.1. Méthodes.....	239
III.2. Résultats .....	240
IV. Estimations du modèle.....	243
V. Distribution <i>a posteriori</i> des quantiles des distributions inter- et intra-élevages pour chaque type d'élevage .....	244
D. Annexe partie 3.....	246
I. Détail de la formule de calcul de la probabilité de séropositivité du troupeau HVP .....	246

## TABLE DES FIGURES

Figure A-1 : Répartition géographique des cas humains de fièvre Q rapportés en 2019 à l'ECDC (ECDC, 2021) .....	19
Figure A-2 : Répartition géographique des cas métropolitains de fièvre Q diagnostiqués par le CNR en France métropolitaine en 2018 (CNR Coxiella, 2019).....	20
Figure A-3 : Cartographie des cas humains de fièvre Q aux Pays-Bas entre janvier et aout 2009 (Roest et al., 2011)....	21
Figure A-4 : Modèle du cycle de multiplication de <i>C. burnetii</i> dans la cellule eucaryote. D'après (Arricau-Bouvery and Rodolakis, 2005) .....	25
Figure A-5 : Voie de contamination et d'excrétion de <i>C. burnetii</i> et sa réplication dans l'hôte. D'après (van den Brom et al., 2015b).....	26
Figure A-6 : Cinétique de la réponse humorale après infection expérimentale chez des chèvres gestantes d'après Roest et al. (Roest et al., 2013).....	27
Figure A-7 : Réponse sérologique à la suite de la vaccination avant une infection expérimentale chez des caprins. (Source : Arricau-Bouvery et al., 2005) .....	29
Figure A-8 : Prélèvements recommandés et arbres d'interprétation pour imputer un avortement à <i>C. burnetii</i> chez les caprins dans le cadre du protocole harmonisé pour le dispositif OSCAR. Source : (OSCAR, 2020a).....	36
Figure A-9 : Données utilisées, estimations réalisées et valorisations présentées dans et à partir de chacune des trois études réalisées dans le cadre de ces travaux.....	50
Figure B-1 : Données et informations utilisées pour estimer les séroprévalences intra- et inter-élevages des infections par <i>C. burnetii</i> chez les ruminants domestiques.....	52
Figure B-2 : Capture d'écran de l'article publié dans la revue Veterinary Research correspondant à la partie 1 de la thèse (Lurier et al., 2021). .....	52
Figure B-3 : Directed Acyclic Graph of the latent class model.....	57
Figure B-4 : Posterior estimates of the Se and Sp (according to the global model) for the three tests in each species. .	62
Figure B-5 : Point estimates (dot) and 95% credibility intervals (lines) of the pairwise conditional dependence terms between each pair of tests in each species. ....	63
Figure B-6 : Posterior estimates of the between-herd seroprevalence for each department and species.....	63
Figure B-7 : Predicted cumulative distribution functions of the within-herd seroprevalence in seropositive herds for each species. ....	64
Figure B-8 : Posterior estimates of the herd sensitivities (HSe: probability that at least one animal is positive to the test in a seropositive herd) and specificities (HSp: probability that all animals are negative to the test in a seronegative herd) of the three tests for each species. ....	65
Figure C-1 : Données et informations utilisées pour estimer les séroprévalences intra- et inter-élevages des infections par <i>C. burnetii</i> chez les ruminants domestiques.....	74
Figure C-2 : Taille et types de production des élevages inclus dans l'étude.....	78
Figure C-3: Structure hiérarchique du modèle. ....	79
Figure C-4 : Diagramme acyclique dirigé du modèle original, chaque nœud étant représenté par un cercle (pour les variables) ou un carré (pour les covariables).....	80
Figure C-5 : Densité des distributions <i>a priori</i> utilisées respectivement pour les paramètres des effets fixes (A : Cauchy (0 ; 2)) et pour les écarts-types (B : demi-Cauchy (0 ; 2)) .....	83
Figure C-6 : Séroprévalences inter- et intra-élevages apparentes. ....	87
Figure C-7 : Distribution des séroprévalences inter-élevages à l'échelle des départements dans chaque espèce en fonction du type de production et de la taille des élevages.....	89
Figure C-8 : Risques relatifs associés à la multiplication par deux de la taille des élevages dans chaque type de production. ....	90
Figure C-9 : Risques relatifs à chaque type de production par rapport à la classe de référence (les élevages de type allaitant pour les ovins et bovins).....	91
Figure C-10 : Distribution des séroprévalences intra-élevages des élevages séropositifs dans chaque espèce en fonction du type de production et de la taille des élevages. ....	93
Figure C-11: Densité des distributions <i>a priori</i> (en rouge) et <i>a posteriori</i> (en noir) de la sensibilité et la spécificité du test 2 chez les bovins. ....	94
Figure C-12 : Densité des distributions <i>a priori</i> (en rouge) et <i>a posteriori</i> (en noir) de la sensibilité et la spécificité du test 2 chez les caprins.....	95
Figure C-13 : Densité des distributions <i>a priori</i> (en rouge) et <i>a posteriori</i> (en noir) de la sensibilité et la spécificité du test 2 chez les ovins. ....	95
Figure C-14 : Estimations en fonction de la connaissance ou non du statut vaccinal des troupeaux. ....	96
Figure C-15 : Distributions des effets aléatoires aux échelles intra- et inter-élevages.....	97
Figure C-16 : Ajustement des prédictions du modèle aux données observées.....	98
Figure D-1 : Données et informations utilisées pour estimer la séroprévalence réelle intra-élevage (notée $P_{cond}$ ) les	



probabilités de séropositivité de l'élevage (notée HVP) et des individus testés positifs (notée VPP) ou négatifs (noté VPN).....	109
Figure D-2 : Diagramme acyclique dirigé simplifié du modèle utilisé pour estimer la séroprévalence intra-élevage dans les élevages séropositifs sachant que Npos individus ont été testés positifs parmi les Nsample prélevés. ....	111
Figure D-3 : Prise en compte de l'incertitude des paramètres par échantillonnage dans les distributions estimées dans les Parties 1 et 2 et de la variabilité des séroprévalences inter- et intra-élevages par simulation à partir des paramètres échantillonnés. ....	113
Figure D-4 : Diagramme acyclique dirigé du modèle pour estimer la séroprévalence intra-élevage si l'élevage est séropositif ( $P_{cond}$ ) et simuler des valeurs des séroprévalences inter- et intra-élevages attendues ( $BHP$ et $WHP$ ). .....	120
Figure D-5 : Diagrammes acycliques dirigés partiels pour la distribution de la séroprévalence inter-élevage. ....	122
Figure D-6 : Schéma des paramètres intervenant dans le calcul de la probabilité de séropositivité du troupeau ( $HPV$ ). .....	124
Figure D-7 : Schéma des paramètres intervenant dans le calcul de la probabilité de séropositivité des individus testés négatifs ( $1 - VPN$ ) ou positifs ( $VPP$ ). ....	124
Figure D-8 : Capture d'écran de la page d'accueil de l'application Shinycox. Présentation de l'application, de son fonctionnement et des sources sur lesquelles s'appuie l'application. ....	127
Figure D-9 : Capture d'écran de l'étape 1 de l'application : renseignement des informations concernant les caractéristiques de l'élevage. ....	128
Figure D-10 : Capture d'écran de l'étape 2 de l'application : renseignement des informations concernant le contexte épidémiologique de l'élevage. ....	129
Figure D-11 : Capture d'écran de l'étape 3 de l'application : renseignement des informations concernant le plan de dépistage (test utilisé, nombre d'animaux testés, nombre d'animaux positifs). ....	129
Figure D-12 : Capture d'écran de l'étape 4 de l'application : calcul des valeurs prédictives à l'échelle du troupeau, de la séroprévalence réelle conditionnelle si l'élevage est séropositif et des valeurs prédictives à l'échelle individuelle. ....	130
Figure D-13 : Capture d'écran de l'étape 4 en abaissant la borne supérieure de la gamme des valeurs à 0,1. ....	132
Figure E-1 : Schéma des paramètres estimés dans chaque partie en lien avec les performances des tests sérologiques ELISA commercialisés pour le diagnostic, le dépistage et les enquêtes épidémiologiques des infections par <i>C. burnetii</i> : conséquences et solutions mises en œuvre pour prendre en compte leur incertitude diagnostique. ....	139
Figure E-2 : Critères utilisés pour évaluer les tests et les plans de dépistage sérologiques des infections par <i>C. burnetii</i> en fonction des échelles et des objectifs de chaque plan de dépistage. ....	140
Figure E-3 : Indicateurs utilisés pour choisir le test optimal et évaluer des plans de dépistage sérologique des infections par <i>C. burnetii</i> . ....	148
Figure E-4 : Proportions d'individus mal classés de chaque test dans chaque espèce en fonction de la séroprévalence intra-élevage. ....	150
Figure E-5 : Proportions d'élevages mal classés pour chaque test dans chaque espèce en fonction de la séroprévalence inter-élevage du volet sérologique utilisé pour le diagnostic différentiel des avortements (OSCAR) et pour rechercher l'origine de cas humains groupés (N=15). ....	152
Figure E-6 : Probabilité de séropositivité de l'élevage en fonction du nombre d'individus testés positifs parmi ceux prélevés dans chaque espèce et type de production et pour chaque test. ....	154
Figure E-7 : Indicateurs utilisés pour rechercher des plans de dépistage optimaux en fonction des objectifs de leur mise en place. ....	157
Figure E-8 : Estimation ponctuelle (médiane, en trait plein) et bande de crédibilité à 95 % (quantiles 2,5 et 97,5 %, en traits pointillés) de la sensibilité du plan de dépistage à l'échelle de l'élevage en fonction du nombre d'individus testés dans chaque espèce et pour chaque test. ....	159
Figure E-9 : Estimation ponctuelle (médiane, en point et trait plein) et bande de crédibilité à 95 % (quantile 2,5 et 97,5 %, en traits pointillés) de la valeur prédictive négative du plan (HVPN) de dépistage à l'échelle de l'élevage en fonction du nombre d'individus testés de l'espèce et du type de production. ....	161
Figure E-10 : Indice de Youden (somme des Se et Sp) du plan de dépistage à l'échelle de l'élevage en fonction du nombre d'individus testés dans chaque espèce et pour chaque test. ....	164
Figure E-11 : Taux d'élevages mal classés par plan de dépistage à l'échelle de l'élevage en fonction du nombre d'individus testés dans chaque espèce et pour chaque test. ....	166
Figure E-12 : Perspectives réalisables à partir des résultats déjà obtenus, des sérums et données collectées par le LNR et de la méthodologie développée dans le cadre de cette thèse. ....	168
Figure E-13 : Histogrammes des résultats quantitatifs (en % de ratio de densité optique) obtenus avec chaque test dans chaque espèce sur les données de la sérothèque KitEval 4500. ....	173

## TABLE DES TABLEAUX

Tableau A-1: Récapitulatif des études cas-témoins réalisées chez les ruminants domestiques pour évaluer les conséquences sur la reproduction ou sur la production laitière des infections par <i>C. burnetii</i> (en fonction des études, les cas étaient identifiés soit par sérologie soit par PCR : Polymerase Chain Reaction).....	22
Tableau A-2 : Méthodes diagnostiques disponibles pour le diagnostic des infections par <i>C. burnetii</i> en fonction de leur objectif. Source (OIE, 2018) .....	30
Tableau A-3 : Description des trois tests ELISA commercialisés pour le diagnostic des infections par <i>C. burnetii</i> chez les ruminants domestiques.....	34
Tableau A-4: Résultats croisés des deux tests .....	41
Tableau A-5 : Probabilités observées ( $P_{ijD^+}$ et $P_{ijD^-}$ ) pour un individu respectivement malade (noté $D^+$ ) ou non malade (noté $D^-$ ) d'être dans chacune des quatre cellules du tableau des résultats croisés des deux tests.....	42
Tableau A-6 : Caractéristiques des études ayant évalué les performances diagnostiques d'au moins un des tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par <i>C. burnetii</i> avec des modèles à classes latentes.....	45
Tableau B-1 : Number of serum samples analyzed per herd and department. ....	55
Tableau B-2 : Characteristics of the three ELISA tests used in the study.....	56
Tableau B-3 : Prior distribution of unknown parameters.....	60
Tableau B-4 : Se and Sp estimates of the three tests in each species with their 95% credible intervals (in square brackets) according to the global model. ....	62
Tableau C-1 : Nombre d'ateliers et d'animaux inclus pour chaque espèce et chaque département .....	77
Tableau C-2 : Lois de distribution <i>a priori</i> des paramètres du modèle.....	83
Tableau C-3 : Médianes des séroprévalences apparentes (médianes observées) et réelles (médianes estimées par le modèle) pour chaque type de production.....	88
Tableau C-4 : Estimation ponctuelle et intervalle de crédibilité à 95 % des risques relatifs associés à chaque type de production et à la taille du troupeau dans chaque espèce. ....	92
Tableau D-1 : Estimation <i>a posteriori</i> des paramètres du modèle réalisée sur les deux jeux de données combinés. ...	118
Tableau E-1 : Médiane et intervalle de crédibilité à 95 % des sensibilité et spécificité des trois tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par <i>C. burnetii</i> .....	142
Tableau E-2 : Médiane et intervalle de crédibilité à 95 % des sensibilité et spécificité à l'échelle du troupeau des trois tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par <i>C. burnetii</i> .....	145
Tableau E-3 : Médiane et intervalle de crédibilité à 95 % des indices de Youden à l'échelle individuelle pour chaque test et chaque espèce. Les cases grisées correspondent au test ayant le meilleur indice de Youden. ....	149
Tableau E-4 : Médiane et intervalle de crédibilité à 95 % des indices de Youden à l'échelle du troupeau pour chaque test et chaque espèce du volet sérologique utilisé pour le diagnostic différentiel des avortements (OSCAR) et pour rechercher l'origine de cas humains groupés (N=15). Les cases grisées correspondent au test ayant le meilleur indice de Youden. ....	151
Tableau E-5 : Médiane et intervalle de crédibilité à 95 % de la probabilité de séropositivité du troupeau selon l'espèce, le type de production et le test utilisé, lorsque la moitié des femelles prélevées lors du diagnostic différentiel des avortements sont séropositives. Le nombre d'individus prélevés est de 6 bovins et 10 ovins/caprins. ....	154
Tableau E-6 : Proportion d'individus testés positifs à partir duquel la borne inférieure de l'intervalle de crédibilité à 95 % de la probabilité de séropositivité du troupeau devient supérieure à 95 %. ....	155
Tableau E-7 : Nombre d'individus à prélever pour garantir une sensibilité supérieure à 95 % ou une valeur prédictive négative >95 % du plan de dépistage. ....	160
Tableau E-8 : Médiane et intervalle de crédibilité à 95 % du nombre d'individus optimal à prélever pour évaluer le statut de l'élevage.....	165

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

---

AFSSA	Agence française de sécurité sanitaire des aliments	IV-IA1	Intervalle vêlage – première insémination artificielle
AMM	Autorisation de mise sur le marché	IV-IAF	Intervalle vêlage – insémination fécondante
BDNI	Base de données nationale d'identification	JAGS	Just Another Gibbs Sampler
BHP	Séroprévalence inter-élevage (Between Herd Prevalence)	LAT	Latex agglutination test
BLCM	Bayesian latent class model	LCM	Latent class model
CFT	Complement fixation test	LCV	Large cell variants
CNE	Confédération Nationale de l'Élevage	LNR	Laboratoire National de référence
CNR	Centre national de référence	LPS	Lipopolysaccharide
DAG	Diagramme acyclique dirigé	MCMC	chaînes de Monte-Carlo Markov
DGAL	Direction générale de l'alimentation	MCL	Modèle à classes latentes
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control	MR	Matériel de référence
EFSA	European food safety authority	MRI	Matériel de référence interne
EILA	Essai interlaboratoire d'aptitude	NED	Niveau exigible de détection
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	NRL	National reference laboratory
EM	Expectation maximisation	NR	Newton-Raphson
ESA	Plateforme nationale d'épidémiosurveillance en santé animale	ODR	Densité de ratio
FN	Faux négatif	OIE	Organisation mondiale de la santé animale
FP	Faux positif	OR	Odd ratio
GDS	Groupements de Défense Sanitaire	OSCAR	Observatoire et Suivi des Causes d'Avortement chez les Ruminants
HSe	Sensibilité à l'échelle du troupeau (Herd Sensitivity)	PCR	Polymerase chain reaction
HSp	Spécificité à l'échelle du troupeau (Herd Specificity)	qPCR	Quantitative polymerase chain reaction
HVP	Valeur prédictive du plan de dépistage à l'échelle du troupeau	QQplot	Quantile Quantile plot
HVPN	Valeur prédictive négative du plan à l'échelle du troupeau	RCP	Résumé des caractéristiques du produit
HVPP	Valeur prédictive positive du plan à l'échelle du troupeau	RDO	Ratio de densité optique
IBR	Rhinotrachéite infectieuse bovine	ROC	Receiver operating characteristic
IC	Intervalle de crédibilité	RR	Risque relatif
IDELE	Institut de l'Élevage	SCV	Small cell variants
IFA	Indirect immunofluorescence assay	SDC	Small dense cells
IgG	immunoglobuline G	Se	Sensibilité diagnostique
IgM	immunoglobuline M	SIGAL	Système d'information DGAL
IL-1	Interleukine-1	SOP	Standardisation du mode opératoire
IFN $\gamma$	Interféron gamma	Sp	Spécificité diagnostique
		Th2	T Helper 2
		TNF $\alpha$	Facteurs de nécrose tumorale
		VP	Valeur prédictive
		VPP	Valeur prédictive positive
		VPN	Valeur prédictive négative
		WHP	Séroprévalence intra-élevage (Within Herd Prevalence)

## A. INTRODUCTION GÉNÉRALE

Après avoir présenté l'importance et les conséquences cliniques des infections par *C. burnetii* chez l'humain et chez les ruminants domestiques, nous présenterons les éléments principaux de la physiopathologie des infections par *C. burnetii* qui sont nécessaires à la compréhension du principe de fonctionnement des tests diagnostiques et de leurs limites.

Nous exposerons ensuite les principales méthodes utilisables pour le diagnostic et le dépistage des infections par *C. burnetii* en présentant leurs avantages et inconvénients ainsi que leurs recommandations d'usage actuelles.

Enfin, nous présenterons la façon dont sont évaluées et prises en compte les performances analytiques et diagnostiques de tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii*.

### I. Importance et conséquence clinique des infections par *C. burnetii* chez l'humain et l'animal

#### I.1. Importance chez l'humain

##### I.1.1 Incidence et présentation clinique chez l'humain

La fièvre Q est une maladie zoonotique de répartition mondiale, causée par la bactérie *Coxiella burnetii*. Elle est responsable d'infections chez l'humain. Le nombre de cas confirmés (n=958) rapportés en 2019 par l'European Centre for Disease Prevention and Control (Figure A-1) correspond à 0,2 cas pour 100 000 habitants.année<sup>-1</sup> (ECDC, 2021). Néanmoins, étant donné qu'aucune consigne des notifications des cas de fièvre Q n'est standardisée, et que le diagnostic est complexe (EFSA, 2010), même si cette maladie est à déclaration obligatoire dans tous les pays de l'Union européenne, excepté la France, il est probable que les cas de fièvre Q enregistrés soient incomplets et les données difficilement comparables (EFSA et ECDC, 2021).



Figure A-1 : Répartition géographique des cas humains de fièvre Q rapportés en 2019 à l'ECDC (ECDC, 2021)

Pour la France, 34,3% des cas rapportés en 2018 étaient localisés en région Provence-Alpes-Côte d’Azur (CNR Coxiella, 2019). Cette forte proportion de cas peut être expliquée par une plus forte sensibilisation vis-à-vis de la fièvre Q des médecins à proximité du Centre National de Référence *Coxiella* localisé à Marseille (Frankel et al., 2011). Le contraste avec les autres régions souligne donc une probable sous-déclaration de la maladie dans les autres régions françaises (Figure A-2). De plus, les symptômes de la maladie sont peu spécifiques et la majeure partie des cas rapportés sont liés à des hospitalisations (Frankel et al., 2011).

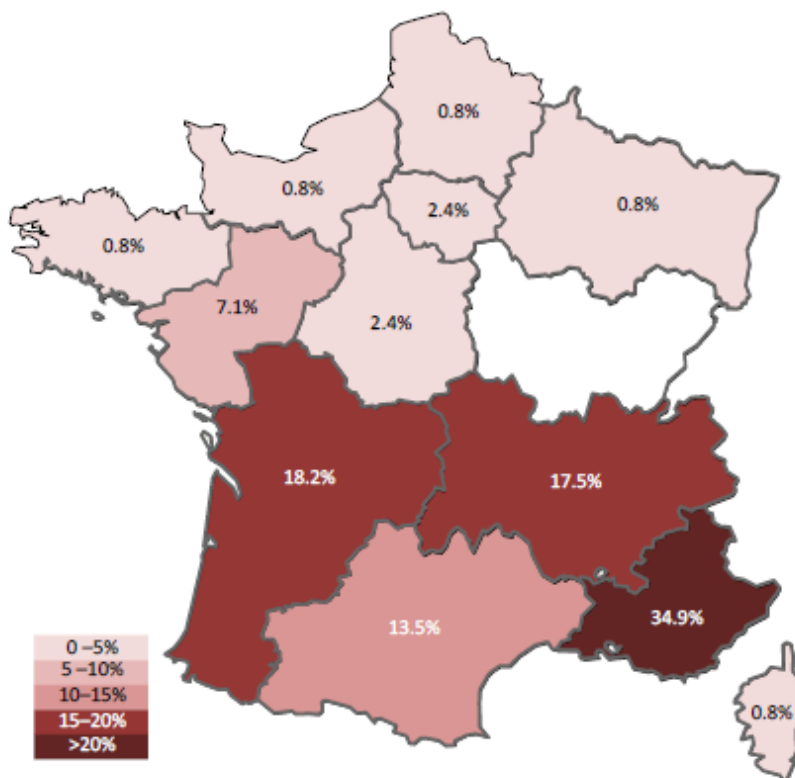


Figure A-2 : Répartition géographique des cas métropolitains de fièvre Q diagnostiqués par le CNR en France métropolitaine en 2018 (CNR Coxiella, 2019)

Les présentations cliniques de la maladie chez l’humain sont variables avec approximativement 60% d’infections asymptomatiques, 36 à 38% des infections entraînant une forme aiguë modérée et 2 à 4% une hospitalisation (Dupuis et al., 1987; Raoult et al., 2005, 2000). Certaines formes aiguës (manifestations cliniques en début d’infection) peuvent également évoluer en infections focalisées persistantes à *C. burnetii*, anciennement dénommées formes chroniques (Eldin et al., 2017). Parmi les 2 434 cas d’infection par *C. burnetii* confirmés au CNR français *Coxiella* entre 1991 et 2016, 74,2% étaient des formes aiguës et 31,5% des infections focalisées persistantes (Melenotte et al., 2018). Les hépatites (43,3%), les pneumonies (19,4%) et un syndrome grippal (19,4%) étaient les formes cliniques principales des patients présentant des formes aiguës. Parmi les infections focalisées persistantes, 75,8% étaient des endocardites, 18,9% des infections vasculaires et 7,3% des infections ostéoarticulaires (Melenotte et al., 2018). Ces données provenant d’un centre de référence sont, cependant, à interpréter avec prudence en raison d’une probable surreprésentation des formes sévères qui leur sont préférentiellement adressées.

En plus des infections focalisées persistantes, des cas de fatigue chronique en l’absence d’infection focalisée persistante, sont également décrits plusieurs mois à années après l’infection primaire (Reukers et al., 2020). Cependant, les critères de diagnostic et l’incidence des cas de fatigue chronique nécessitent d’être mieux définis (Eldin et al., 2017; Raoult, 2017). Le traitement des formes aiguës de la fièvre Q consiste en une antibiothérapie pendant 15 jours. Il est associé à un bon pronostic, mais le traitement des infections focalisées persistantes est beaucoup plus lourd : une antibiothérapie pendant 12 à 24 mois, et parfois plusieurs années, dont les effets secondaires sont contraignants (Eldin et al., 2017; Kersh, 2013). Des conséquences cliniques majeures peuvent donc être observées à la suite de certaines infections par *C. burnetii* chez l’humain, d’autant que la persistance de l’infection peut durer toute la vie.

### I.1.2 Sources de contamination des humains

Bien que de nombreuses espèces vertébrées (mammifères, oiseaux, reptiles) aient été identifiées comme réservoirs de la bactérie, les ruminants domestiques sont la source principale de contamination des humains. Certaines situations sortent de ce dogme, comme en Alaska où des troupeaux de phoques seraient en cause (Duncan et al., 2013) ou en Guyane où l'incidence élevée de cas humains rapportés ne semble pas associée aux ruminants (Epelboin et al., 2016).

La transmission se fait par voie aérienne, généralement en lien avec des contacts directs ou indirects à des ruminants domestiques comprenant des animaux excréteurs de *C. burnetii* (EFSA, 2010). En particulier, les cas humains groupés de fièvre Q sont le plus souvent associés à des élevages de petits ruminants (ovins et caprins) (EFSA, 2010). La taille des foyers varie, allant par exemple des cas groupés de taille restreinte en France en 2016 et 2018 (Boulogne et al., 2016; Rousset et al., 2020) jusqu'à des épidémies de grande ampleur dont la plus marquante est celle ayant eu lieu aux Pays-Bas avec plus de 4 000 cas signalés entre 2007 et 2010 (Schneeberger et al., 2014). Pour cette dernière, des formes chroniques de la maladie ont été nouvellement diagnostiquées jusqu'en 2018 (Buijs et al., 2021). L'origine de la majeure partie de ces infections était située dans des zones géographiques à forte densité en caprins et dans lesquelles des élevages caprins présentaient un historique d'avortements causés par *C. burnetii* (Figure A-3, Roest et al., 2011). Les moyens vétérinaires mis en œuvre ont été drastiques au regard de l'ampleur de l'épidémie avec l'abattage des femelles gestantes (plus de 60 000) et l'interdiction de mise à la reproduction et d'agrandissement des troupeaux. Les campagnes de vaccination ont été rapidement mises en place dans les élevages.

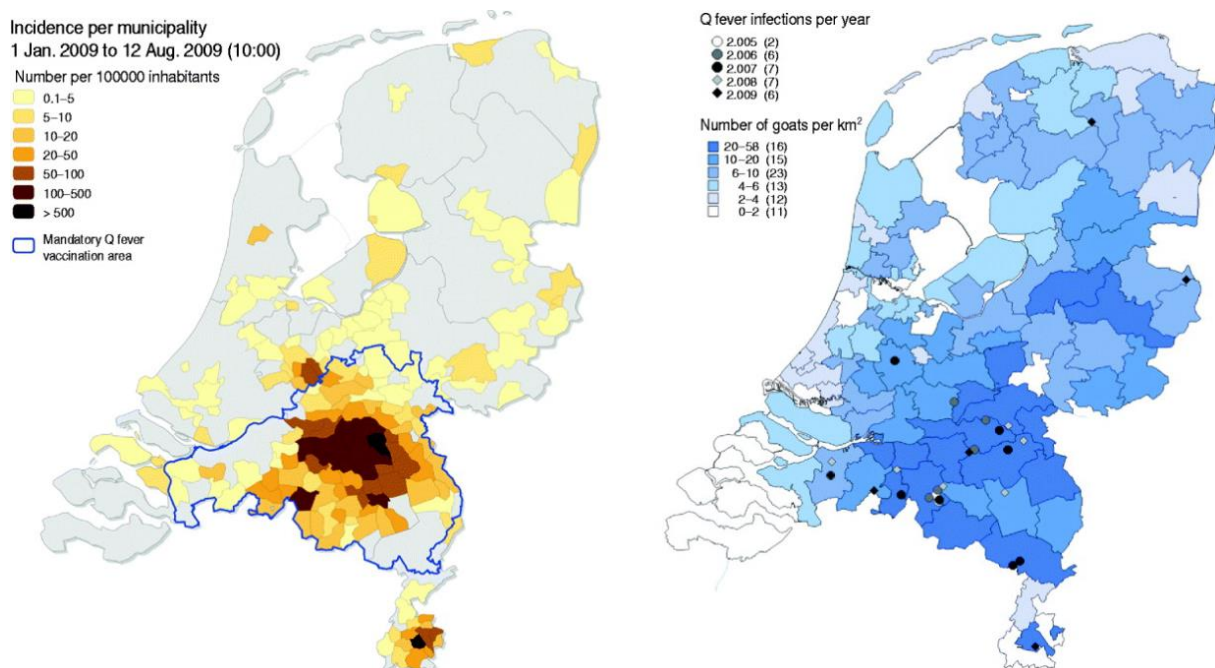


Figure A-3 : Cartographie des cas humains de fièvre Q aux Pays-Bas entre janvier et août 2009 (Roest et al., 2011). À gauche : incidence/100 000 habitants par municipalité. La ligne bleue indique la zone de vaccination obligatoire des ovins et caprins en 2009. À droite, densité de caprins en bleu (nombre de chèvres par km<sup>2</sup>) et nombre de cas d'avortement rapporté dans les élevages (identifiés par un point et coloré en fonction de l'année).

Les bovins sont rarement incriminés comme étant à l'origine de cas humains groupés, même si leur implication a été mise en évidence dans certaines épidémies (Chmielewski and Tylewska-Wierzbanowska, 2013). La gestion de ces épidémies associées à l'environnement contaminé d'élevages implique un recensement des animaux et des élevages infectés par *C. burnetii* et la mise en place de mesures de gestion raisonnées pour limiter la dissémination de la bactérie dans l'environnement (DGAL, 2010; EFSA, 2010; Rousset et al., 2020; Schneeberger et al., 2014). En France, on privilégie : la fermeture des élevages au public, l'arrêt de l'épandage des effluents d'élevages, la gestion et l'élimination des produits de mises bas des ruminants domestiques et la vaccination des animaux. Néanmoins, l'efficacité de ces mesures n'a pas été clairement démontrée et il est préconisé de les combiner (EFSA, 2010).

## I.2. Importance chez les ruminants domestiques

### I.2.1 Prévalence à l'échelle européenne chez les ruminants domestiques

En 2019, 17 États ont notifié des données à l'EFSA (European Food Safety Agency) concernant la surveillance des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques en Europe (EFSA, 2021). D'après ces chiffres, 8,8% des 7 793 ovins ou caprins et 6,6% des 4 384 troupeaux de petits ruminants testés seraient positifs, de même que 5,3% des 19 035 bovins et 10,2% des 4 318 troupeaux bovins. Cependant, les données rapportées à l'EFSA ne sont pas comparables et peu fiables, car, selon les États membres, elles sont collectées avec des stratégies d'échantillonnage et en utilisant des tests diagnostiques différents (en visant les individus infectés ou séropositifs) entre les différentes études et pays (EFSA, 2021, 2010). De plus, chez les ruminants domestiques, l'infection par *C. burnetii* est la plupart du temps asymptomatique ou non détectée (OIE, 2018).

### I.2.2 Présentation clinique chez les ruminants domestiques

Lors d'infection expérimentale, l'inoculation de *C. burnetii* peut entraîner une hyperthermie passagère (Arricau-Bouvery et al., 2003; Martinov et al., 1989; Plommet et al., 1973) et des symptômes respiratoires (Martinov et al., 1989; Plommet et al., 1973). À notre connaissance, il n'existe pas de description des signes cliniques propres à une phase aiguë ou une phase chronique dans les infections naturelles par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques. Les conséquences de l'infection les mieux documentées sont liées à la gestation avec l'induction d'avortements, de naissances prématurées, de nouveau-nés chétifs et de mortinatalités (Agerholm, 2013; Sánchez et al., 2006). Les avortements sont la plupart du temps sporadiques chez les bovins (Agerholm, 2013) et peuvent prendre une allure épidémique en élevages ovins (Rousset et al., 2020) et surtout caprins (de Cremoux et al., 2012; Sanford et al., 1994). En France, les infections par *C. burnetii* sont la première cause d'avortements identifiée chez les caprins et la deuxième chez les ovins et bovins, derrière la chlamydie pour les ovins et la néosporose pour les bovins (Plateforme ESA, 2021). D'autres conséquences des infections par *C. burnetii* sur la fertilité et la production laitière sont suspectées. Elles ont principalement été investiguées chez les bovins et sont discutées, soit en raison d'un niveau de preuve jugé insuffisant, par exemple une absence de groupe témoin (To et al., 1998) ou une puissance de l'étude insuffisante (Turcotte et al., 2021), soit en raison de résultats contradictoires en fonction des études (Tableau A-1).

Tableau A-1: Récapitulatif des études cas-témoins réalisées chez les ruminants domestiques pour évaluer les conséquences sur la reproduction ou sur la production laitière des infections par *C. burnetii* (en fonction des études, les cas étaient identifiés soit par sérologie soit par PCR : Polymerase Chain Reaction).

Effet considéré	Études en faveur	Études en défaveur
Augmentation du risque d'endométrite	(To et al., 1998) <sup>b</sup> (De Biase et al., 2018) <sup>b</sup>	(Garcia-Ispuerto et al., 2013) <sup>b</sup>
Augmentation du risque de rétention placentaire	(López-Gatius et al., 2012) <sup>b</sup>	
Diminution de la fertilité (augmentation de l'IV-IA1* ou de l'IV-IAF**)	(López-Gatius et al., 2012) <sup>b</sup>	(Garcia-Ispuerto et al., 2013) <sup>b</sup> (López-Gatius et al., 2012) <sup>b</sup>
Augmentation du risque de mammites subcliniques	(Barlow et al., 2008) <sup>b</sup>	(Canevari et al., 2018) <sup>c</sup>
Diminution de la production laitière	(Canevari et al., 2018) <sup>c</sup>	(Muleme et al., 2017) <sup>c</sup>

<sup>b</sup> Étude réalisée chez les bovins, <sup>c</sup> Étude réalisée chez les caprins

\* IV-IA1 = Intervalle vêlage – première insémination artificielle supérieure à 60 jours

\*\* IV-IAF = intervalle vêlage – insémination fécondante supérieure à 90 jours

### I.2.3 Gestion de l'infection chez les ruminants domestiques

Les moyens thérapeutiques pour les animaux déjà infectés manquent. Le traitement des ruminants domestiques avec des antibiotiques ne permet ni de limiter l'ampleur d'un épisode d'avortements ni de réduire l'excrétion de la bactérie (Astobiza et al., 2013, 2010; Berri et al., 2007; Szymanska-Czerwinska and Niemczuk, 2012). L'antibiothérapie n'est donc pas préconisée en cas d'avortements imputés à la fièvre Q (Discontools, 2018; EFSA, 2010; OIE, 2018).

Bien qu'efficace chez les individus non exposés (AFSSA, 2004; Arricau-Bouvery et al., 2005), la vaccination, à l'aide d'un vaccin de phase 1, est souvent détournée de son usage préventif (traité dans la section II.3.3). En effet, la vaccination est généralement effectuée dans des troupeaux déjà infectés suite à la survenue d'avortements (Astobiza et al., 2013; De Cremoux et al., 2012; Guatteo et al., 2008; Rousset et al., 2009). Cependant, même si des études ont montré qu'il apparaît utile d'administrer le vaccin sur la nouvelle génération d'animaux à un stade où l'infection est récente et encore non enzootique dans le troupeau (De Cremoux et al., 2012; EFSA, 2010; OIE, 2018; Rousset et al., 2009), ces démonstrations d'un intérêt partiellement curatif du vaccin n'ont cependant été réalisées que chez les caprins en situation de forte pression d'infection (De Cremoux et al., 2012; Rousset et al., 2009). Dans cette espèce, les charges bactériennes étant fréquemment élevées lors d'épisodes abortifs, les expérimentations ont montré des différences statistiques significatives entre les groupes vaccinés et non vaccinés. Aussi, dans les élevages récemment confrontés à des avortements dus à *C. burnetii*, le maintien d'une vaccination des animaux pendant plusieurs années (3 à 5 ans chez les caprins (Bontje et al., 2016) et jusqu'à 10 ans chez les bovins (Courcoul et al., 2011)), permettrait de réduire la proportion d'animaux infectés et de limiter la contamination de l'environnement par *C. burnetii*, mais présente un coût économique important pour l'éleveur.

Les mesures de gestion dans les élevages infectés visent donc d'une part à prévenir la survenue de nouvelles infections dans l'élevage et d'autre part à limiter la diffusion de la bactérie vers d'autres élevages et vers la population humaine (EFSA, 2010). Ces dernières années, des pays mettent en place des programmes de vaccination. D'après les réponses de 20 pays suite à une demande de l'EFSA, les Pays-Bas ont déclaré mettre en place des mesures depuis 2010 chez les ovins et caprins, et plus récemment, la Pologne a mis en place des mesures chez les bovins et caprins (Communication personnelle, avis pour l'EFSA, 2021).

### I.2.4 Importance de la surveillance des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques

La surveillance et la gestion des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques apparaissent donc essentielles pour limiter ses conséquences cliniques et économiques chez les ruminants domestiques et pour prévenir le risque zoonotique. Ces deux objectifs conduisent les actions de santé publique vers des mesures de prévention selon une approche « Une seule santé ». Depuis avril 2021, avec l'entrée en application de la réglementation européenne (UE) 2018/1882, la fièvre Q est une maladie de catégorie E à surveillance obligatoire chez les ruminants, pour tous les pays membres de l'Union européenne, y compris en France.

La mise en place d'un plan de surveillance à l'échelle nationale nécessite l'utilisation de méthodes de dépistage ou de diagnostic qui permettent d'évaluer la présence ou l'absence de l'infection chez les ruminants qu'ils soient asymptomatiques ou non. Les méthodes utilisées ne seront pas nécessairement les mêmes pour dépister ou diagnostiquer l'infection, ou pour certifier le statut négatif d'un animal ou d'un élevage. Le choix doit s'appuyer d'une part sur les connaissances de la physiopathologie des infections par *C. burnetii* et, d'autre part, sur les performances diagnostiques des méthodes utilisées dans leur contexte d'utilisation sachant qu'il n'existe aucun test dont la sensibilité (probabilité d'obtenir un résultat positif si l'individu est infecté) et la spécificité (probabilité d'obtenir un résultat négatif si l'individu n'est pas infecté) sont égales à 100% (EFSA, 2010; OIE, 2018). En d'autres termes, il existe deux risques d'erreur pour chaque analyse réalisée, un résultat pouvant être positif chez un individu réellement négatif (faux positif) ou être négatif chez un individu réellement positif (faux négatif). L'analyse des résultats doit tenir compte de cette incertitude diagnostique pour pouvoir mettre en place les mesures de gestion adaptées quand elles sont nécessaires.



## II. Physiopathologie des infections par *Coxiella burnetii* chez les ruminants domestiques

### II.1. *Coxiella burnetii* : une bactérie intracellulaire pléiomorphe

#### II.1.1 *Coxiella burnetii* : taxinomie et protéines de surface

Le genre *Coxiella* appartient à l'ordre des *Legionellales* qui contient 4 autres genres validement publiés, à savoir *Aquicella*, *Diplorickettsia*, *Legionella* et *Rickettsiella* (Saini and Gupta, 2021). Les membres de ces genres sont des parasites intracellulaires connus pour infecter les arthropodes, les ruminants, les amibes et parfois les humains, comme dans le cas de *Coxiella burnetii*.

*C. burnetii* est une bactérie intracellulaire obligatoire infectant préférentiellement les macrophages et monocytes d'une grande diversité d'espèces animales (Raoult et al., 2005). Le lipopolysaccharide (LPS) présent à sa surface est l'élément le plus immunogène chez cette bactérie. Il est présent sous deux formes différentes appelées phases (Amano and Williams, 1984), avec des conséquences pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii* (II.3.1). Les LPS de phase 1 sont présents dans la forme sauvage de la bactérie. Lorsqu'elle est cultivée en laboratoire (sur œufs embryonnés ou cultures cellulaires), *C. burnetii* perd une partie des oligosaccharides composant le LPS qui prend alors une forme tronquée appelée phase 2. Cette diminution du LPS est progressive, au fur et à mesure des multiplications bactériennes en l'absence de pression immunitaire, et s'accompagne d'une perte de virulence (Long et al., 2019; Moos and Hackstadt, 1987).

#### II.1.2 Les différentes formes de la bactérie

*C. burnetii* est une bactérie pléiomorphe dont la taille varie entre 0,2 à 2 µm. En effet, en plus des variations de phase du LPS, plusieurs variants de la bactérie ont été mis en évidence dans les cellules infectées (Figure A-4). Les LCV (large cell variants) sont les formes les plus grandes de la bactérie qui sont les plus métaboliquement actives. Les SCV (small cell variants) et SDC (small dense cells) sont plus petites et les SDC sont considérées comme des endospores.

Les deux formes SCV et LCV sont capables de se multiplier dans la cellule, leur structure de paroi est typique des bactéries à Gram négatif, et chacune des deux formes exprime des protéines spécifiques (Heinzen et al., 1999). Ces deux formes concomitantes pourraient être responsables de l'échappement de la bactérie à la réponse immunitaire de l'hôte.

Les SCV et SDC sont très stables (en particulier les SDC) et sont considérées comme les formes de résistance de la bactérie dans l'hôte (persistance de l'infection) ou dans le milieu extérieur (Arricau-Bouvery and Rodolakis, 2005; Coleman et al., 2004). Les formes de survie (ou dormantes) intra- ou extra-cellulaires sont aussi nommées « Spore-like cell ». Elles sont plus compactées avec un matériel génétique condensé. De plus, leur paroi est modifiée par rapport aux formes de multiplication LCV et SCV : elle comporte uniquement une couche épaisse de peptiglycane et ne porte pas de LPS de surface (Coleman et al., 2007). Contrairement aux bactéries à Gram positif (*Bacillus anthracis* ou *Clostridium botulinum* par exemple), la sporulation est peu fréquente chez les bactéries à Gram négatif. Des cycles de développement sont toutefois connus chez quelques bactéries autres à Gram négatif. Ainsi, les formes de résistance de *C. burnetii* présentent ainsi des similitudes avec les corps élémentaires (CE) des *Chlamydia* (0,2 à 0,3 µm de diamètre), les corps initiaux des *Anaplasma* ou *Ehrlichia* (0,3 à 0,4 µm) ou les petites particules denses des *Rickettsiella* (0,1 à 0,3 µm). Selon d'anciennes études, ces formes sont capables de résister à la dessiccation, aux rayonnements ultra-violets, à la chaleur, aux stress oxydatif et osmotique. *C. burnetii* est capable de survivre plusieurs mois à l'extérieur d'une cellule, ce qui peut expliquer sa capacité à infecter d'autres hôtes longtemps après avoir été excrétée dans le milieu extérieur (EFSA, 2010). Des connaissances manquent pour mieux définir les conditions de résistance, mais aussi les gènes impliqués dans le cycle de développement ; les souches pourraient présenter des degrés différents de persistance dans l'environnement, influant ainsi sur leur contagiosité.

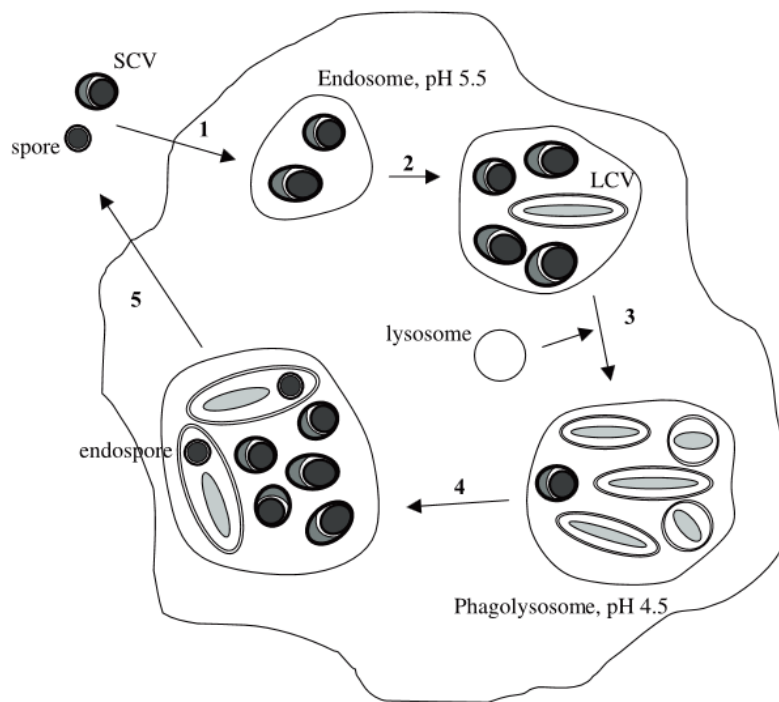


Figure A-4 : Modèle du cycle de multiplication de *C. burnetii* dans la cellule eucaryote. D'après (Arricau-Bouvery and Rodolakis, 2005)

(1) Entrée de la spore ou SCV dans la cellule eucaryote et acidification de l'endosome. (2) Multiplication des SCV et différenciation en LCV. (3) Fusion de l'endosome avec un lysosome et acidification du phagolysosome. (4) Multiplication des LCV, différenciation des LCV en SCV et développement des endospores dans les LCV. (5) Libération des spores et des SCV en dehors de la cellule.

## II.2. Pathogénie de la bactérie chez les ruminants domestiques

Chez les ruminants domestiques, la contamination se fait principalement par l'inhalation de la forme environnementale résistante de la bactérie (Figure A-5, van den Brom et al., 2015). La dose infectante serait faible : à titre d'exemple, 20 bactéries par aérosolisation chez le cochon d'Inde (*Cavia porcellus*) (Russell-Lodrigue et al., 2006) et 0,71 bactérie chez l'humain estimée par modélisation (Brooke et al., 2015).

### II.2.1 Apport des infections expérimentales

Relativement peu d'études ont été réalisées pour évaluer la pathogénie des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques. Les principales ont été réalisées lors d'infection expérimentale de chèvres gestantes (Arricau-Bouvery et al., 2003; Roest et al., 2012; Sánchez et al., 2006, 2006). Après l'inoculation, lors d'une primo-infection, la bactérie a été retrouvée dans le sang, les poumons, la rate et le foie même si peu de lésions associées ont été mises en évidence à l'histologie (Roest et al., 2012; Sánchez et al., 2006).

Chez les chèvres gestantes, la bactérie se retrouve principalement dans les cellules trophoblastiques de l'allantochoirion et, parallèlement à l'infection d'un nombre de plus en plus grand de cellules trophoblastiques, l'allantochoirion montre des signes de plus en plus sévères d'inflammation à l'histologie (Roest et al., 2012). L'infection semble rester localisée à la fois dans et au sein de l'utérus, car d'une part aucune bactérie vivante n'a été mise en évidence dans d'autres organes maternels et d'autre part, au sein de l'utérus, la mise en évidence des antigènes de *C. burnetii* dans les zones adjacentes à celle infectée du placenta est difficile (Roest et al., 2012; Sánchez et al., 2006).

Toutes les infections chez les chèvres gestantes n'entraînent pas d'avortement. Certaines des chèvres infectées expérimentalement ont mis bas de cabri vivant en bonne santé et il n'a pas été mis en évidence de différence d'excrétion de *C. burnetii* entre les chèvres ayant ou non avorté (Roest et al., 2012). Qu'il y ait avortement ou non, la mise bas des ruminants domestiques est généralement associée à une excrétion massive de bactéries dans l'environnement chez les caprins, avec jusqu'à  $10^9$  bactéries par gramme de placenta (Arricau-Bouvery et al., 2003; de Cremoux et al., 2012; Rousset et al., 2009).

Après la mise bas, la bactérie est également mise en évidence par PCR dans les fèces et le lait (Figure A-5, (van den Brom et al., 2015b)). Les infections expérimentales chez les chèvres non gestantes ne semblent ni entraîner de colonisation du placenta par *C. burnetii* ni induire d'avortement lors de la gestation suivante (AFSSA, 2004; EFSA, 2010; Roest et al., 2020). Ainsi, alors que toutes les chèvres non gestantes présentaient une réponse immunitaire humorale après infection expérimentale par voie intranasale ; la bactérie n'a été mise en évidence (par PCR quantitative ciblant un gène monocopie) que dans le colostrum, la glande mammaire et les nœuds lymphatiques rétromammaires d'uniquement une des 16 chèvres infectées (Roest et al., 2020). Ces résultats suggèrent une pathogénie limitée et des difficultés pour mettre en évidence la bactérie chez les animaux infectés en dehors de la gestation.

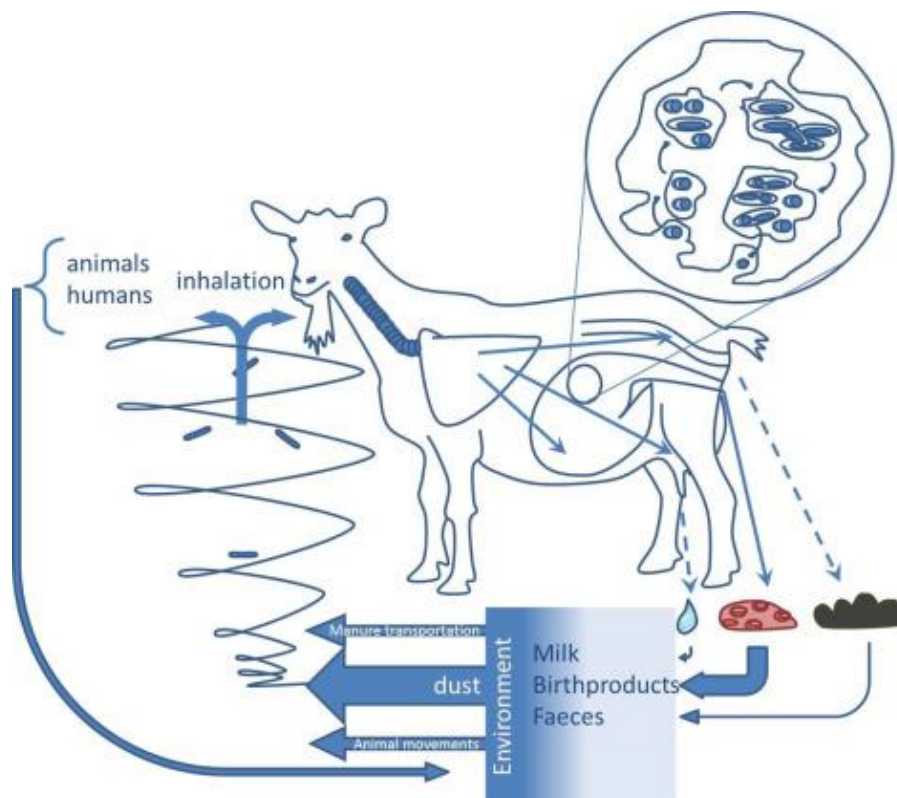


Figure A-5 : Voie de contamination et d'excrétion de *C. burnetii* et sa réplication dans l'hôte. D'après (van den Brom et al., 2015b).

### II.2.2 Pathogénie lors d'infections naturelles

Lors d'infection naturelle dans des élevages bovins, ovins et caprins, l'ADN de *C. burnetii* est également mis en évidence dans les fèces, le mucus vaginal et le lait par PCR chez des animaux ayant avorté ou non (Berri et al., 2001; Guatteo et al., 2006; Rousset et al., 2009). Une excrétion intermittente et surtout non simultanée par les différentes voies d'excrétion a été mise en évidence à la fois chez les caprins, ovins et bovins (Guatteo et al., 2006; Joulié et al., 2015; Rousset et al., 2009) avec par exemple 65% des bovins excréteurs qui n'étaient positifs en PCR que par une des trois voies d'excrétion (Guatteo et al., 2006). Les ruminants ayant avorté peuvent réexcréter la bactérie lors des mises bas suivantes (Berri et al., 2007, 2001). Même si la voie d'excrétion majeure de la bactérie, et donc la source de contamination majeure de l'environnement par *C. burnetii*, sont les produits de mise bas (placenta, lochies, avortons), l'importance relative des différentes voies d'excrétion en dehors des périodes de mises bas est débattue en fonction des espèces (van den Brom et al., 2015b).

### II.3. Réponse immunitaire chez les ruminants domestiques

Chez l'humain et dans différents modèles animaux (souris et cochon d'Inde), l'infection par *C. burnetii*, entraîne une activation rapide et importante de l'immunité humorale et cellulaire qui sont respectivement caractérisées par la production d'immunoglobulines dirigées contre *C. burnetii* et par l'activation des lymphocytes T avec la production de TNF $\alpha$  et d'INF $\gamma$  (Andoh et al., 2007; Dupont et al., 1994).

### II.3.1 Immunité humorale

Lors d'infection expérimentale chez les ruminants domestiques, la réponse humorale semble similaire à celle décrite chez les patients (Arricau-Bouvery et al., 2003; Martinov et al., 1989; Plommet et al., 1973) avec, dans un premier temps, une forte production d'IgM et d'IgG dirigées contre le LPS de phase 2 qui débute à partir de 14 jours post-infection (Figure A-6, Roest et al., 2013). Chez les chèvres gestantes, les concentrations en IgG atteignent un plateau 40 à 50 jours après l'inoculation puis réaugmentent après l'avortement (Arricau-Bouvery et al., 2003). En l'absence de nouvelle stimulation, des IgG sont détectables pendant au moins 15 mois après l'infection par fixation du complément chez les bovins (Plommet et al., 1973) et il est probable que des IgG persistent plusieurs années chez les animaux dans les élevages de ruminants domestiques (Berri et al., 2007). La production d'IgG dirigées contre la phase 1 du LPS apparait plus tardivement (4 à 5 semaines après l'inoculation) et persisterait moins longtemps, mais les suivis effectués après infection expérimentale ne portent, au maximum, que sur 13 semaines après l'inoculation et ne permettent donc pas de vérifier cette hypothèse chez les ruminants domestiques (Figure A-6, Roest et al., 2013).

Chez l'humain, on met en évidence une réponse humorale avec des anticorps spécifiques dirigés contre le LPS de phases 1 (le LPS entier) et 2 (la partie inférieure du LPS) dont les taux varient au cours de l'évolution de l'infection. Ainsi, en début d'infection, on détecte des immunoglobulines G (IgG) spécifiques du LPS de phase 2, puis à la fois des IgG spécifiques des phases 1 et 2. Contrairement aux IgG spécifiques de la phase 1, les IgG spécifiques de la phase 2 sont persistants. Enfin, les IgG spécifiques des phases 1 et 2 augmentent généralement nettement lors du développement d'une infection focalisée ou d'une recrudescence de l'infection (Dupont et al., 1994). Le profil des immunoglobulines dirigées contre les phases 1 ou 2 est donc utilisé chez l'humain pour préciser l'ancienneté de l'infection et la forme de la maladie (Anderson et al., 2013; Eldin et al., 2017).

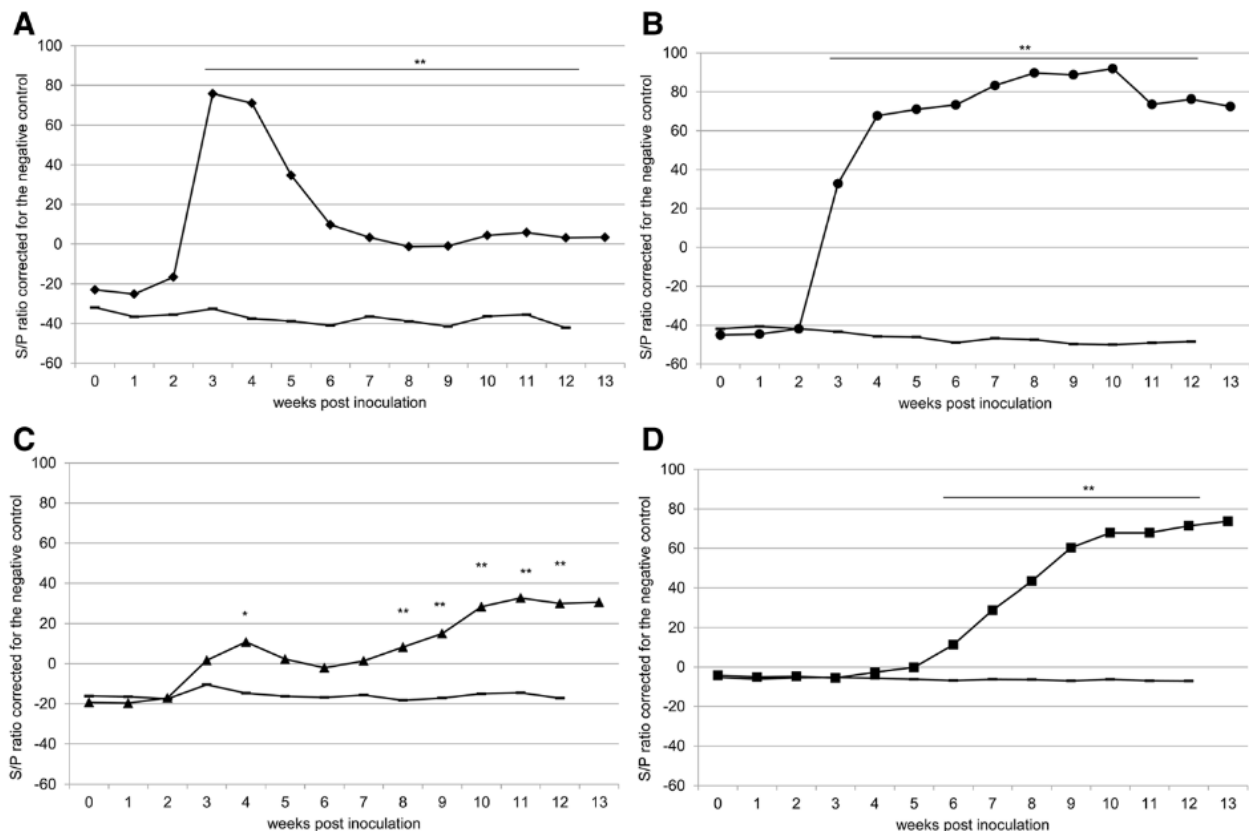


Figure A-6 : Cinétique de la réponse humorale après infection expérimentale chez des chèvres gestantes d'après Roest et al. (Roest et al., 2013).

À et ◆ : IgM, phase 2 ; B et ● : IgG, phase 2 ; C et ▲ : IgM, phase 1 ; D et ■ : IgG, phase 1

Les \* correspondent à des différences significatives entre les individus « contrôles négatifs » non inoculés en trait plein sans point et les individus infectés expérimentalement, en trait plein avec points.

### II.3.2 Immunité cellulaire

Contrairement à l'immunité humorale, l'immunité cellulaire semble moins prépondérante chez les ruminants domestiques. Bien que les modèles cellulaires caprin et bovin semblent mettre en évidence une possible immunité cellulaire en réponse à une infection par *C. burnetii* (Ammerdorffer et al., 2014; Sobotta et al., 2016), cette immunité semble minime chez les chèvres gestantes infectées expérimentalement (Roest et al., 2013). Cette faible importance de l'immunité cellulaire chez les chèvres gestantes pourrait être expliquée par des facteurs liés à l'espèce ou à la gestation qui tend, chez l'humain, à réorienter l'immunité vers une voie Th2 et une activation de l'immunité humorale par rapport à l'immunité cellulaire (Druckmann and Druckmann, 2005). La faible réponse de l'immunité cellulaire, pourtant prépondérante pour éliminer la bactérie, pourrait expliquer une plus importante persistance de l'infection chez les caprins gestants.

Une étude réalisée chez les bovins montre que des concentrations sériques en IL10, TNF $\alpha$  et INF $\gamma$  plus élevées sont détectées chez les individus séropositifs que chez les séronégatifs, issus d'un troupeau récemment infecté par *C. burnetii* (Małaczewska et al., 2018). Cette étude met également en évidence une augmentation de la concentration de ces cytokines après la vaccination chez tous les individus. Cependant, les résultats étaient différents pour les autres interleukines étudiées (IL-6, IL-1 $\beta$  ou IL-2) et les dosages n'ont été réalisés que dans les échantillons de sérums prélevés et sans effectuer de stimulation spécifique des cellules mononucléées sanguines avec des antigènes de *C. burnetii*. Ces résultats chez les bovins doivent donc être confirmés par des études dont le protocole inclut une étape de stimulation antigénique spécifique. En outre, à notre connaissance, aucune donnée n'est disponible chez les ovins ni chez les ruminants domestiques non gestants.

### II.3.3 Vaccination

Historiquement, un vaccin contenant des bactéries inactivées (souche Nine Mile) de phase 2 (Chlamyvax FQ<sup>®</sup>, Merial, France) a été mis sur le marché français en 1982 à destination des ruminants domestiques, mais il n'est plus commercialisé à ce jour. Un vaccin contenant des bactéries inactivées (souche Nine Mile) de phase 1 (COXEVAC<sup>®</sup>, Ceva santé animale, France) a été développé au début des années 2000 et a obtenu une AMM (autorisation de mise sur le marché) chez les caprins et les bovins, les données d'efficacité chez les ovins étant insuffisantes pour obtenir une AMM chez cette espèce (Anses, 2021). La réponse immunitaire humorale, à la suite de l'administration de chacun des deux vaccins, a été évaluée chez les caprins non infectés puis infectés expérimentalement, et montre une augmentation progressive et durable de la quantité d'anticorps dirigés contre *C. burnetii* (Figure A-7, Arricau-Bouvery et al., 2005). Suite à la vaccination, l'augmentation de la concentration sérique en anticorps spécifiques était plus précoce et plus importante avec le vaccin phase 1 qu'avec le vaccin phase 2 (Figure A-7, Arricau-Bouvery et al., 2005). Ces anticorps dirigés contre *C. burnetii* sont détectés par les méthodes de diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii*. Il n'existe à ce jour aucun vaccin permettant de différencier les anticorps acquis à la suite de la vaccination de ceux acquis à la suite d'une infection naturelle (Discontools, 2018; EFSA, 2010; OIE, 2018). De plus, la vaccination avec le vaccin phase 1 peut entraîner l'excrétion d'ADN de *C. burnetii* vaccinal dans le lait entre 1 et 10 jours après l'injection chez les chèvres. Cet ADN est potentiellement détectable par PCR dans le lait de tank après la vaccination du troupeau (Hermans et al., 2011).

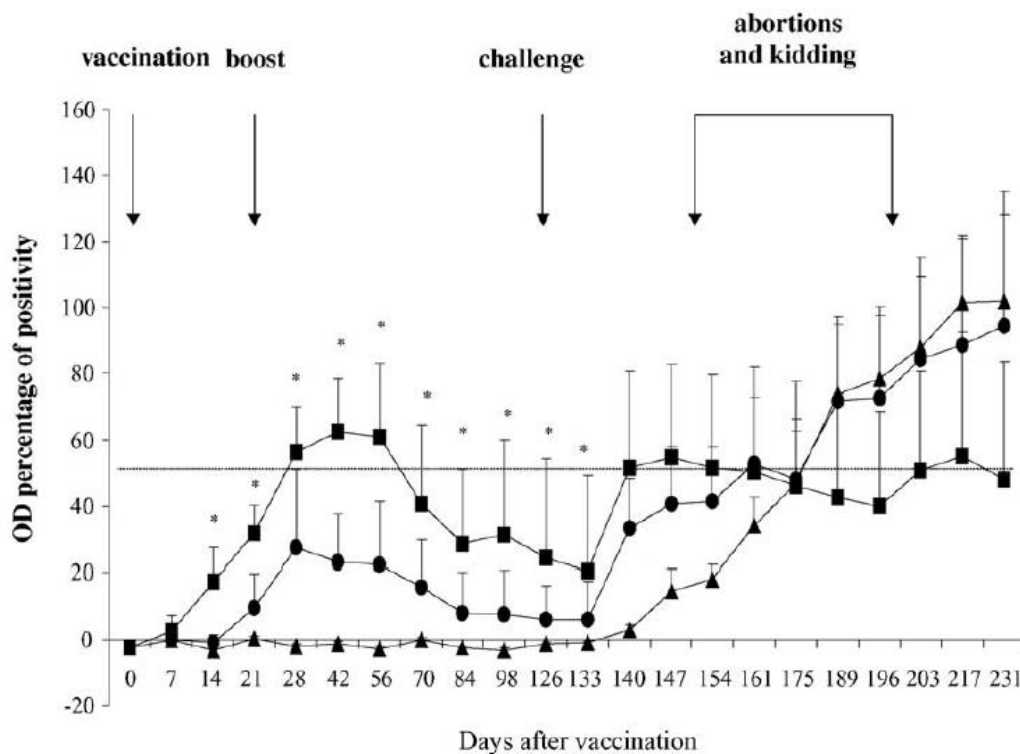


Figure A-7 : Réponse sérologique à la suite de la vaccination avant une infection expérimentale chez des caprins. (Source : Arricau-Bouvery et al., 2005)

Moyenne des ratios de densité optique obtenus avec le test ELISA « Chekit-Q-Fever » actuellement commercialisé par Idexx (test 1). ▲ : Caprins non vaccinés ; ■ : Caprins vaccinés avec le vaccin phase 1 ; ● : Caprins vaccinés avec le vaccin phase 2.

Dans cette étude, seulement 6% des caprins expérimentalement infectés après vaccination avec le vaccin phase 1 ont avorté alors que respectivement 87% et 65% des caprins vaccinés avec le vaccin phase 2 et les non-vaccinés ont avorté. Une proportion de 37,5% des chèvres vaccinées avec le vaccin phase 1 avaient un placenta contaminé par *C. burnetii*, mais cette proportion était moins élevée et la quantité de bactéries présentes dans le placenta était plus faible que chez les individus vaccinés avec le vaccin phase 2 (93,3% de placentas contaminés) ou non vaccinés (100% de placentas contaminés) (Arricau-Bouvery et al., 2005). Les effets bénéfiques de la vaccination avec le vaccin phase 1 (prévention des avortements et diminution de l'excrétion) ont été confirmés lors d'infections naturelles chez des caprins et bovins (De Cremoux et al., 2012; Guatteo et al., 2008; O'Neill et al., 2013; Rousset et al., 2009; Taurel et al., 2012). Les résultats obtenus après la vaccination phase 1 chez les ovins sont contradictoires avec une absence de différence d'excrétion (en fréquence et en quantité) entre les individus vaccinés et non vaccinés (qu'ils aient été infectés préalablement ou non) (Astobiza et al., 2011,a). Pourtant, une réaction immunitaire humorale a été mise en évidence à la suite de la vaccination (Bauer et al., 2021; Joulié et al., 2017) de même qu'une apparente efficacité de la vaccination pour limiter la proportion d'ovins excréteurs à partir de deux ans après la mise en place de la vaccination (Astobiza et al., 2011,b).

### III. Diagnostic et dépistage des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques

#### III.1. Objectif de la mise en place de stratégies de diagnostic et de dépistage des infections par *C. burnetii*

La mise en place d'une procédure de diagnostic ou de dépistage des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques répond à deux objectifs : soit contrôler l'infection chez les ruminants domestiques, soit prévenir la transmission de l'infection à l'humain (OIE, 2018).

### III.1.1 Objectifs pour les ruminants domestiques

La procédure diagnostique peut être mise en place à la suite d'une suspicion clinique dans un élevage comme la survenue d'avortements en série pour rechercher l'étiologie des avortements (y compris *C. burnetii*), à l'image des protocoles mis en place et utilisés en France dans le dispositif OSCAR (Observatoire et Suivi des Causes d'Avortement chez les Ruminants). Dans un troupeau infecté, les tests diagnostiques pourraient également être utilisés pour mettre en place une stratégie de réforme des individus infectés ou à risque d'excréter la bactérie dans l'environnement. Des tests de dépistage peuvent par ailleurs être réalisés afin de limiter le risque d'introduction d'individus infectés, ou provenant d'élevages infectés, dans un troupeau *a priori* indemne de l'infection dans le cas d'achat, d'import, ou de mélanges de troupeaux, pour les transhumances ou les foires par exemple (Tableau A-2, OIE, 2018). Enfin, les analyses peuvent être réalisées pour évaluer le statut d'un animal reproducteur avant de lui faire saillir les femelles de l'élevage pour limiter le risque de transmission vénérienne (Kruszewska and Tylewska-Wierzbanska, 1997). D'autres besoins existent, mais ils mériteraient d'être mieux définis.

### III.1.2 Objectifs en réponse à un risque zoonotique

Sur le plan du risque zoonotique, un protocole est proposé en France dans le cadre d'une Note de service de la DGAL pour répondre à une alerte de cas humains groupés (DGAL, 2010). Lorsque des cas humains de fièvre Q se déclarent, il est souvent nécessaire de mettre en place une enquête épidémiologique pour rechercher la(les) source(s) de contamination afin de limiter la survenue de nouveaux cas. Cette enquête vise à évaluer le statut vis-à-vis des infections par *C. burnetii* des élevages auxquels ont été exposées les différentes personnes infectées. De plus, la révision en cours de cette Note de service prend en compte le risque d'exposition des élevages cliniquement atteints et ouverts au public, même en absence de signalement de cas humains. Enfin, on pourrait envisager de tester les animaux en amont de rassemblements du type foire ou salon agricole afin de limiter le risque de mise en contact du public avec des animaux potentiellement excréteurs.

Deux types de méthodes complémentaires peuvent être utilisées pour évaluer le statut des individus vis-à-vis de *C. burnetii* : soit les méthodes de mise en évidence directe de la bactérie chez l'animal, soit les méthodes indirectes qui visent à mettre en évidence la réponse immunitaire de l'hôte dirigée contre *C. burnetii*, avec en premier lieu la mise en évidence d'anticorps dirigés contre la bactérie (Tableau A-2, OIE, 2018).

Tableau A-2 : Méthodes diagnostiques disponibles pour le diagnostic des infections par *C. burnetii* en fonction de leur objectif. Source (OIE, 2018)

Méthode	Objectifs					
	Démontrer l'absence d'infection dans une population	Démontrer l'absence d'infection d'un individu	Contribuer à la mise en place de plan d'éradication	Confirmation d'une suspicion clinique	Estimation d'une prévalence / surveillance	Évaluation du statut immunitaire d'un individu ou d'une population suite à la vaccination
<b>Méthodes diagnostiques directes = mise en évidence de <i>C. burnetii</i></b>						
PCR	+++	n/a	+++	+++	++	+ <sup>1</sup>
Culture	+	n/a	+	-	+	-
Coloration	+	n/a	+	+	+	-
Génotypage	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
<b>Méthodes diagnostiques indirectes = mise en évidence de la réaction immunitaire</b>						
ELISA	+++	n/a	+++	++	+++	+++
IFA	++	n/a	++	++	++	++
CFT	-	n/a	-	++	+	+

Légende : +++ = Méthode recommandée ; ++ = Méthode convenable ; + = Méthode utilisable dans certaines situations, mais son coût, sa fiabilité ou d'autres facteurs limitent sérieusement son utilisation ; - = Méthode non appropriée pour cet objectif ; n/a = Non applicable ; <sup>1</sup> la confirmation du statut « immunisé » doit être accompagnée de test démontrant l'absence d'excrétion vaginale lors de la mise bas ultérieure.

PCR = polymerase chain reaction ; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay ; IFA = indirect immunofluorescence assay ; CFT = complement fixation test

## III.2. Description des méthodes de diagnostic direct

### III.2.1 Culture bactérienne

L'isolement de *C. burnetii*, bien que parfois nécessaire, est en pratique complexe à réaliser en raison des risques de transmission par voie aérienne de l'agent et de son caractère intracellulaire strict. Ainsi, toutes les manipulations de la bactérie vivante, notamment sa mise en culture, doivent être réalisées dans un laboratoire protégé de niveau P3 (ou NSB3, niveau de sécurité biologique 3). En outre, les méthodes de culture de la bactérie doivent être réalisées sur des œufs embryonnés, des cultures cellulaires ou en utilisant des animaux de laboratoire. Le résultat est obtenu après plusieurs semaines ou mois, ce qui n'est pas compatible avec un diagnostic courant. Enfin, cette méthode n'est pas sensible et ne permet de détecter de façon fiable que les prélèvements dont la concentration en bactéries est supérieure à  $>10^5$  bactéries par mL (OIE, 2018). Le taux de réussite est également dépendant du niveau de contamination du prélèvement par d'autres micro-organismes.

La culture en condition acellulaire a été développée récemment (Boden et al., 2015). Elle présente des atouts pour obtenir des cultures pures sans besoin d'éliminer des cellules eucaryotes et elle ouvre de nouvelles perspectives de recherche (sur études fonctionnelles de gènes par exemple). Néanmoins la méthodologie apporte une amplification modérée et ne fonctionne pas avec toutes les souches.

### III.2.2 Mise en évidence de la bactérie par « coloration »

La mise en évidence de *C. burnetii* peut être réalisée par coloration des tissus infectés (après prise d'empreinte sur lame à partir du placenta maternel ou des organes fœtaux). Même si la limite de détection est relativement élevée ( $>10^5$  bactéries par mL), cette méthode est rapide et peut permettre un diagnostic dans les cas de fortes charges en bactéries, comme lors d'avortement. Néanmoins, lors de l'observation au microscope, *C. burnetii* peut être confondue avec d'autres bactéries intracellulaires également responsables d'avortement chez les ruminants domestiques (*Chlamydia abortus* et *Brucella spp.*). Des méthodes plus spécifiques de mise en évidence de la bactérie sur des lames histologiques par immunodétection et hybridation *in situ* ont également été développées (De Biase et al., 2018; Jensen et al., 2007). Cependant, à ce jour, aucun anticorps n'est commercialisé pour l'immunodétection de *C. burnetii* et les méthodes utilisées dans certaines études sont parfois critiquées quant à leur réelle spécificité envers *C. burnetii* (Egan, 2019).

### III.2.3 Diagnostic moléculaire (PCR)

Actuellement, la méthode de diagnostic direct la plus utilisée est la PCR, qui permet de mettre en évidence spécifiquement l'ADN de la bactérie dans un échantillon, après extraction des ADN totaux et amplification par PCR à l'aide d'un jeu d'amorces qui cible une séquence du chromosome de *C. burnetii*. Diverses méthodes sont disponibles avec des variantes en termes de méthodes d'extraction et d'amorces. Les détectabilités de ces méthodes sont de l'ordre de 200 à 2 000 bactéries par mL. Les méthodes PCR sont donc plus sensibles que l'isolement et la coloration et peuvent être réalisées après inactivation de l'échantillon, ce qui limite le risque de contamination humaine lors de la réalisation de l'analyse. Les PCR peuvent être réalisées sur divers types de prélèvement (matrice), et permettent de quantifier la concentration en bactéries de l'échantillon (OIE, 2018). Des validations de la méthode doivent être réalisées pour chaque matrice (AFNOR, 2015; OIE, 2013).

### III.2.4 Mise en évidence d'une excrétion de *C. burnetii* par PCR

Pour rechercher l'excrétion ou la présence d'une infection chez des animaux asymptomatiques et en dehors des mises bas, la PCR peut être réalisée sur écouillons vaginaux et également sur les fèces ou le lait, même si l'excrétion de la bactérie est intermittente par ces voies ce qui complique le choix de la matrice à prélever et à analyser (Dubuc-Forfait et al., 2009; Guatteo et al., 2006; Joulé et al., 2015; Rousset et al., 2009). Des analyses PCR peuvent aussi être pratiquées sur écouillons au niveau nasal (Rousset et al., 2020) ou au niveau trachéal (de Bruin et al., 2012), mais les connaissances de l'infection manquent pour ces sites de prélèvements. Ainsi, bien que très sensible d'un point de vue analytique, du fait de la diversité des voies d'excrétions possibles et de l'intermittence des excrétions, la PCR est probablement peu sensible pour



détecter des animaux infectés et potentiellement excréteurs. Dans cet objectif, la PCR présente donc un risque de faux négatifs important.

Par ailleurs, elle présente également un risque de résultats faux positifs pour certains types de prélèvements. En effet, plusieurs cibles PCR utilisées pour amplifier *C. burnetii* présentent des réactions croisées avec des bactéries « *Coxiella-like* », présentes en particulier dans les tiques, ce qui pose des problèmes pour interpréter le résultat de certaines enquêtes épidémiologiques visant à évaluer le rôle des tiques dans l'épidémiologie des infections par *C. burnetii* (Duron et al., 2015; Jourdain et al., 2015).

Enfin, certains auteurs suggèrent que la mise en évidence d'ADN de la bactérie en faible quantité sur écouvillons vaginaux ou dans les prélèvements de fèces pourrait être due à des contaminations environnementales (notamment par ingestion de la bactérie présente dans l'environnement de l'élevage si celui-ci est fortement contaminé (Roest et al., 2012; van den Brom et al., 2015b)).

### III.2.5 Imputation d'un avortement à *C. burnetii* par PCR

Dès 2011, conjointement à la parution de la norme AFNOR U47-600 relative à la PCR en santé animale, des méthodes PCR ont été validées sur matrices vaginale et placentaire par des producteurs de kits pour le diagnostic d'avortement et mises en œuvre dans les laboratoires agréés par la DGAL pour la réalisation de ces analyses (Rousset et al., 2012). Ainsi, pour rechercher la cause d'une série d'avortements, la PCR peut donc être réalisée sur écouvillon vaginal, prélevé dans les 7 jours maximum après avortements, sur placenta (écouvillon de 3 cotylédons ou broyat) ou à partir de plusieurs organes de l'avorton (foie, poumon, rate ou contenu stomacal).

Étant donné que certains animaux excrètent la bactérie au moment de la mise bas, même en l'absence d'avortement, la mise en évidence de son ADN sur l'écouvillon vaginal ne permet pas de certifier que la bactérie est à l'origine de l'avortement. Ainsi, pour imputer un avortement à une infection par *C. burnetii*, il est conseillé de quantifier les bactéries présentes dans l'échantillon et de ne considérer l'avortement comme potentiellement imputé à la fièvre Q qu'au-dessus de  $10^4$  bactéries par écouvillon ou par gramme de prélèvement (Dufour et al., 2007; EFSA, 2010). De plus, pour établir une interprétation à l'échelle de groupe, au moins deux résultats PCR positifs doivent être obtenus (deux individus ou des mélanges de trois) pour témoigner d'une infection circulante (de Cremoux et al., 2018; Dufour et al., 2007).

### III.2.6 Dépistage à l'échelle de l'élevage

En matière de dépistage à l'échelle de l'élevage, les méthodes PCR peuvent être utilisées sur le lait de tank dans les élevages laitiers afin d'évaluer la présence d'animaux excréteurs de la bactérie parmi les femelles en lactation (R. Guatteo et al., 2007; Nusinovici et al., 2015; van den Brom et al., 2012). Elles peuvent également être réalisées sur des prélèvements environnementaux (Abeykoon et al., 2021) comme à partir des poussières de bâtiments d'élevages prélevées par chiffonnette (Carrié et al., 2019; Nusinovici et al., 2015; Rousset et al., 2020).

## III.3. Description des méthodes de diagnostic indirect

### III.3.1 Diagnostic par mise en évidence de la réaction immunitaire cellulaire

Les méthodes de diagnostic indirect mettent en évidence la réaction immunitaire humorale ou cellulaire de l'hôte contre *C. burnetii*. Bien qu'en médecine humaine la mise en évidence d'une réponse immunitaire cellulaire soit utilisée pour diagnostiquer certaines formes des infections par *C. burnetii* (Limonard et al., 2012; Schoffelen et al., 2014), aucune méthode n'est à ce jour disponible en routine pour mettre en évidence la réponse immunitaire cellulaire lors d'infection par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques.

Toutefois, quelques méthodes sont utilisées dans des protocoles de recherches spécifiques. Elles visent soit à mettre en évidence une réaction d'immunité cellulaire locale après inoculation intradermique chez l'animal de vaccins phase 1 (Rodolakis et al., 2009), soit à mettre en évidence une production de cytokines (INF $\gamma$ , entre autres) après stimulation *in vitro* de cellules mononucléées sanguines prélevées chez l'animal avec des antigènes de *C. burnetii* (Roest et al., 2013). À ce jour, toutes les méthodes de diagnostic indirect utilisées

chez les ruminants domestiques sont des méthodes sérologiques qui détectent les anticorps dirigés contre *C. burnetii* (OIE, 2018).

### III.3.2 Diagnostic par mise en évidence de la réaction immunitaire humorale

Il existe quatre techniques différentes pour mettre en évidence les anticorps dirigés contre *C. burnetii* chez les ruminants domestiques : le test de fixation du complément (« Complément Fixation Test » CFT), les tests d'immunofluorescence (« Immunofluorescence Assay » IFA), les tests ELISA (« Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ») et les tests d'agglutination sur billes de latex (« Latex Agglutination Test » LAT).

Le CFT est le test le plus ancien des quatre. Il est moins sensible que les méthodes IFA ou ELISA, mais il est très spécifique (Emery et al., 2012; Horigan et al., 2011; Kittelberger et al., 2009; Niemczuk et al., 2014; Rousset et al., 2007). Le CFT peut être utilisé lors d'avortement ou pour confirmer une suspicion clinique d'infection par *C. burnetii* (OIE, 2018).

L'IFA est la méthode qui est couramment utilisée en médecine humaine pour réaliser le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii* (Eldin et al., 2017). Néanmoins, l'interprétation des résultats de l'IFA peut varier en fonction de l'opérateur et cette méthode est moins reproductible entre laboratoires que l'ELISA (OIE, 2018).

Les tests ELISA sont les seuls commercialisés en France et en Europe pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii*. Les kits ELISA sont sensibles et leur réalisation peut être automatisée en laboratoire ce qui rend cette méthode réalisable à large échelle sur de nombreux échantillons (OIE, 2018). Les kits ELISA peuvent être utilisés sur lait ou sérum (Paul et al., 2014) et ils fournissent un résultat semi-quantitatif en ratio de densité optique, celui-ci étant d'autant plus grand que la concentration d'anticorps présents dans l'échantillon est grande.

Les trois techniques CFT, IFA et ELISA sont basées sur un antigène sérologique préparé à partir d'une souche entière produite et purifiée qui sert à mettre en évidence les anticorps spécifiques de *C. burnetii* s'ils sont présents. Des réactions croisées sont possibles avec d'autres agents bactériens, par exemple des genres *Bartonella* ou *Legionella* (Edouard et al., 2017; La Scola and Raoult, 1996; Lukáčová et al., 1999), et, à l'image des réactions croisées observée en PCR avec les *Coxiella*-like (Duron et al., 2015; Jourdain et al., 2015), des réactions croisées sérologiques avec ces bactéries sont possibles.

À la différence des autres techniques, le LAT utilise des peptides de synthèse comme antigène. Ce type de test est donc censé être plus spécifique en limitant les réactions croisées liées à la préparation des antigènes à partir d'une souche entière. Néanmoins, ils ont été récemment développés, et leurs performances diagnostiques n'ont été évaluées que par rapport à un test ELISA (Kumar et al., 2019; Yadav et al., 2020). Leurs performances sont donc à ce jour mal connues et ces tests ne sont pas commercialisés à notre connaissance.

### III.3.3 Descriptif des trois tests ELISA commercialisés en France

Actuellement, trois kits ELISA sont commercialisés en France et en Europe (Tableau A-3). Leurs règles d'interprétation (seuils de positivité) ont été fixées par les fabricants et certains kits (test 1 et 3 dans le Tableau A-3) incluent une gamme de résultats « douteux ».

Pour les trois tests ELISA, l'antigène est un mélange de bactéries en phase 1 et en phase 2 dont les proportions sont définies par chaque fabricant. L'antigène sérologique comprend donc à la fois des LPS, et des protéines associées, de phase 1 et de phase 2. Des différences entre ces techniques sont associées à la souche utilisée et aux modalités de préparation.

Tableau A-3 : Description des trois tests ELISA commercialisés pour le diagnostic des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques.

Nom commercial	IDEXX Q fever Ab test	PrioCHECK™ Ruminant Q Fever Ab Plate Kit	ID.Vet ID Screen® Q fever indirect multi-species
Dénomination dans le manuscrit de thèse	Test 1	Test 2	Test 3
Fabricant	IDEXX	ThermoFisher Scientific	Innovative Diagnostics
Souche utilisée pour la production d'antigène	Isolée dans la tique <i>Dermacentor andersoni</i> (souche de référence Nine Mile)	Isolée à partir d'une brebis	Isolée à partir d'une vache
Conjugué	Anticorps secondaires fixant des IgG de ruminants	Protéine G (fixant les IgG de diverses espèces de mammifères)	Protéine G (fixant les IgG de diverses espèces de mammifères)
Seuil de positivité (d'après la notice du fabricant)	ODR < 30% : Négatif 30 < ODR < 40% : Douteux 40 < ODR : Positif	ODR < 40% : Négatif 40 < ODR < 100% : Positif + 100 < ODR < 200% : Positif ++ 200 < ODR : Positif +++	ODR < 40% : Négatif 40 < ODR < 50% : Douteux 50 < ODR < 80% : Positif 80 < ODR : Fort positif

#### III.3.4 Dépistage sérologique à l'échelle du troupeau

Les méthodes sérologiques, et en particulier les tests ELISA peuvent également être réalisés sur le lait de tank pour évaluer le statut sérologique du troupeau laitier et éventuellement la proportion de femelles en lactation séropositives (Muskens et al., 2011; Taurel et al., 2012). Malgré une bonne corrélation entre les résultats obtenus sur des prélèvements de sérum et de lait réalisés sur les mêmes individus au même moment (Joulié et al., 2015; Paul et al., 2014), la corrélation entre le niveau d'anticorps mesurés dans le lait de tank et la proportion d'animaux séropositifs en lactation est modérée (Taurel et al., 2012). Les performances de ces méthodes appliquées sur lait de tank pour évaluer le statut de l'élevage n'ont, à notre connaissance, pas été évaluées à ce jour, et ne permettent pas d'élaborer une grille d'interprétation.

#### III.3.5 Diagnostic sérologique et détections des infections par *C. burnetii*

La principale limite pour l'interprétation du résultat des tests sérologiques est la longue persistance des anticorps après l'infection. La présence d'anticorps dirigés contre *C. burnetii* n'est que le reflet d'une infection antérieure de l'animal par *C. burnetii* sans possibilité ni de dater l'ancienneté de l'infection ni de déterminer si l'infection (qui peut parfois durer plusieurs années (Berri et al., 2007; Plommet et al., 1973)) est toujours active (AFSSA, 2004). De nombreux cas d'individus excréteurs de *C. burnetii*, mais négatifs en ELISA, ont également été rapportés à la fois avec le test 1 (Natale et al., 2012; Rousset et al., 2009), le test 2 (de Cremoux et al., 2012; Djerbib et al., 2018; Guatteo et al., 2007) et le test 3 (Joulié et al., 2017). Certains de ces cas pourraient être expliqués par une infection ancienne avec des niveaux d'anticorps non détectés selon les seuils des tests utilisés, ou par une infection récente (séroconversions non détectées, variables selon les individus), mais ces individus séronégatifs peuvent représenter une part importante des excréteurs (Djerbib et al., 2018; Rousset et al., 2009) et des individus séronégatifs et excréteurs de façon répétée pendant plusieurs mois sont également rapportés (Guatteo et al., 2007). Cela remet en cause soit le bon positionnement des seuils et la bonne sensibilité des kits ELISA, soit la bonne spécificité des méthodes PCR. Il est également possible que certains individus ne synthétisent pas d'anticorps à la suite d'une infection, ou que les anticorps synthétisés ne persistent pas malgré la persistance d'une infection par *C. burnetii*, mais, dans ce cas, le diagnostic des infections passées par sérologie sera peu sensible.

Pour mieux préciser l'ancienneté de l'infection, il est possible de rechercher spécifiquement les IgM ou G et de différencier la phase de la bactérie contre laquelle sont dirigées les Ig détectées.

### III.3.6 Sérologie IgG/IgM et phase spécifique

En médecine humaine, la différenciation des anticorps en IgM et IgG dirigés contre les bactéries de phase 1 ou 2 permet de différencier les infections aiguës des infections focalisées persistantes. Des titres élevés en IgM ou en IgG spécifiques de bactéries en phase 2 sont associés à des infections primaires (un test PCR sur sérum ou sang est aussi réalisé permettant de repérer la phase de bactériémie avant la montée des IgM puis des IgG). Les IgG spécifiques de bactéries en phase 2 sont présents tout au long de l'infection alors que des titres élevés en IgG spécifiques de bactéries en phase 1 sont retrouvés uniquement dans les manifestations des infections persistantes (Eldin et al., 2017).

À ce jour, une telle interprétation des profils d'anticorps n'a pas été validée chez les ruminants domestiques (OIE, 2018). Cependant, la même tendance qu'en médecine humaine a été observée lors d'une infection expérimentale chez des chèvres gestantes (Roest et al., 2012). Par ailleurs, plusieurs équipes ont utilisé des kits expérimentaux ELISA (Böttcher et al., 2011; Lucchese et al., 2015; Sting et al., 2013), IFA (Lucchese et al., 2015) ou CFT (Szymańska-Czerwińska et al., 2016) permettant de différencier les anticorps spécifiques des phases 1 ou 2 lors d'infections naturelles chez les ruminants domestiques. Les résultats obtenus avec les ELISA phase-spécifiques sont prometteurs avec la confirmation de la prédominance des anticorps spécifiques de phase 2 chez les caprins au début de l'épisode abortif dans l'élevage et puis une augmentation de la quantité d'anticorps spécifiques de phase 1 dans les mois suivants le premier avortement dans l'élevage (Sting et al., 2013). Chez les bovins, cette évolution des profils d'anticorps n'a pas été retrouvée dans un troupeau où *C. burnetii* était endémique (Böttcher et al., 2011), mais les types de profils d'anticorps pourraient être associés à certains types d'excréteurs (chronique et occasionnel) (Lucchese et al., 2015). Ces résultats préliminaires nécessitent d'être confirmés dans des études incluant un plus grand nombre d'élevages et dont le statut vis-à-vis de l'infection par *C. burnetii* est bien caractérisé.

## III.4. Recommandations d'usage des tests selon leurs performances

### III.4.1 Erreurs analytiques et diagnostiques

Dans la plupart des contextes d'utilisation, l'utilisateur du ou des tests diagnostiques cherche à déterminer le statut de l'individu ou de l'élevage vis-à-vis de l'infection par *C. burnetii*. Ce statut va être mesuré à l'aide d'une méthode diagnostique qui présente généralement un risque d'erreur ou une incertitude diagnostique. Dans certains cas, la méthode fournira un résultat positif alors que l'individu est réellement négatif (on parle de résultat faux positif) et dans d'autres cas, la méthode fournira un résultat négatif alors que l'individu est réellement positif (on parle de résultat faux négatif). L'incertitude diagnostique est la résultante de deux sources d'erreurs potentielles, les erreurs analytiques, qui sont caractérisées par les performances analytiques de la méthode, et les erreurs « diagnostiques » en lien avec à la physiopathologie de l'infection chez les ruminants domestiques. Par exemple, un résultat faux négatif en PCR chez un individu pourra être dû à une quantité insuffisante d'ADN dans l'échantillon (en dessous du seuil de détectabilité de la PCR) ou à une absence d'excrétion de la bactérie par la voie testée chez un individu infecté (prélèvement de l'échantillon à un moment où l'animal n'excrète pas de bactérie). L'importance de ces deux types d'erreurs caractérise les performances des méthodes utilisées pour le dépistage ou le diagnostic des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques.

### III.4.2 Des recommandations basées sur l'expertise

La connaissance de ces performances a servi de base à plusieurs groupes d'experts pour émettre des recommandations d'usage de chaque méthode en fonction de l'objectif d'utilisation des tests. Ainsi, parmi les méthodes directes, les experts internationaux mandatés par l'OIE en 2015 (OIE, 2018) recommandent d'utiliser les méthodes PCR (Tableau A-2) qui ont une meilleure sensibilité analytique que les autres méthodes diagnostiques directes (isolement, culture bactérienne et coloration pour examen au microscope). Parmi les méthodes indirectes, ils recommandent généralement d'utiliser les méthodes ELISA qui sont plus reproductibles que les méthodes IFA et plus sensibles que les méthodes de CFT (Tableau A-2, OIE, 2018).

De plus, étant données les limites inhérentes aux méthodes directes (excrétion intermittente, diverses voies non concomitantes) et indirectes (délai d'apparition puis persistance des anticorps, réimmunisation naturelle ou baisse de la concentration sérique en IgG), il est recommandé d'utiliser à la fois des méthodes directe et indirecte pour évaluer les statuts des individus et des élevages (OIE, 2018). Ainsi, la plupart des procédures de diagnostic et de dépistage mises en place en élevage pour rechercher la cause d'un épisode abortif ou pour rechercher la source de contamination de cas humains combinent à la fois l'utilisation de PCR, pour rechercher des animaux potentiellement excréteurs de la bactérie, et d'ELISA, pour rechercher des animaux préalablement infectés par *C. burnetii* (porteurs latents ou exposés et guéris).

### III.4.2.1 Pour le diagnostic différentiel des avortements

Dans un contexte abortif (comme dans le cadre du dispositif OSCAR), pour attribuer une série d'avortements à *C. burnetii*, les experts de la plateforme d'épidémiosurveillance animal (ESA) recommandent de réaliser au minimum deux écouvillons vaginaux sur des femelles ayant eu des troubles abortifs depuis moins de 8 jours et des prises de sang pour sérologies chez des femelles ayant avorté ou présentant des troubles de reproduction depuis plus de 15 jours (6 femelles chez les bovins et 10 chez les ovins et caprins) (Dufour et al., 2007; EFSA, 2010; Sidi-Boumedine et al., 2010). Chez les petits ruminants, le troupeau sera considéré comme cliniquement atteint de fièvre Q si plus de  $10^4$  génomes-équivalents de *C. burnetii* sont quantifiés par qPCR ( $10^3$  pour des analyses de mélange) sur les deux écouvillons vaginaux ou si un des deux écouvillons est positif et que plus de 50% des individus sont positifs avec le test ELISA utilisé (Figure A-8). À l'inverse, le troupeau sera considéré comme non cliniquement atteint de fièvre Q si les deux PCR sur écouvillon vaginal sont négatives. Si une seule des deux PCR est positive et que moins de 50% des caprins prélevés sont positifs en sérologie alors le résultat du plan de diagnostic sera considéré comme non conclusif (Figure A-8).

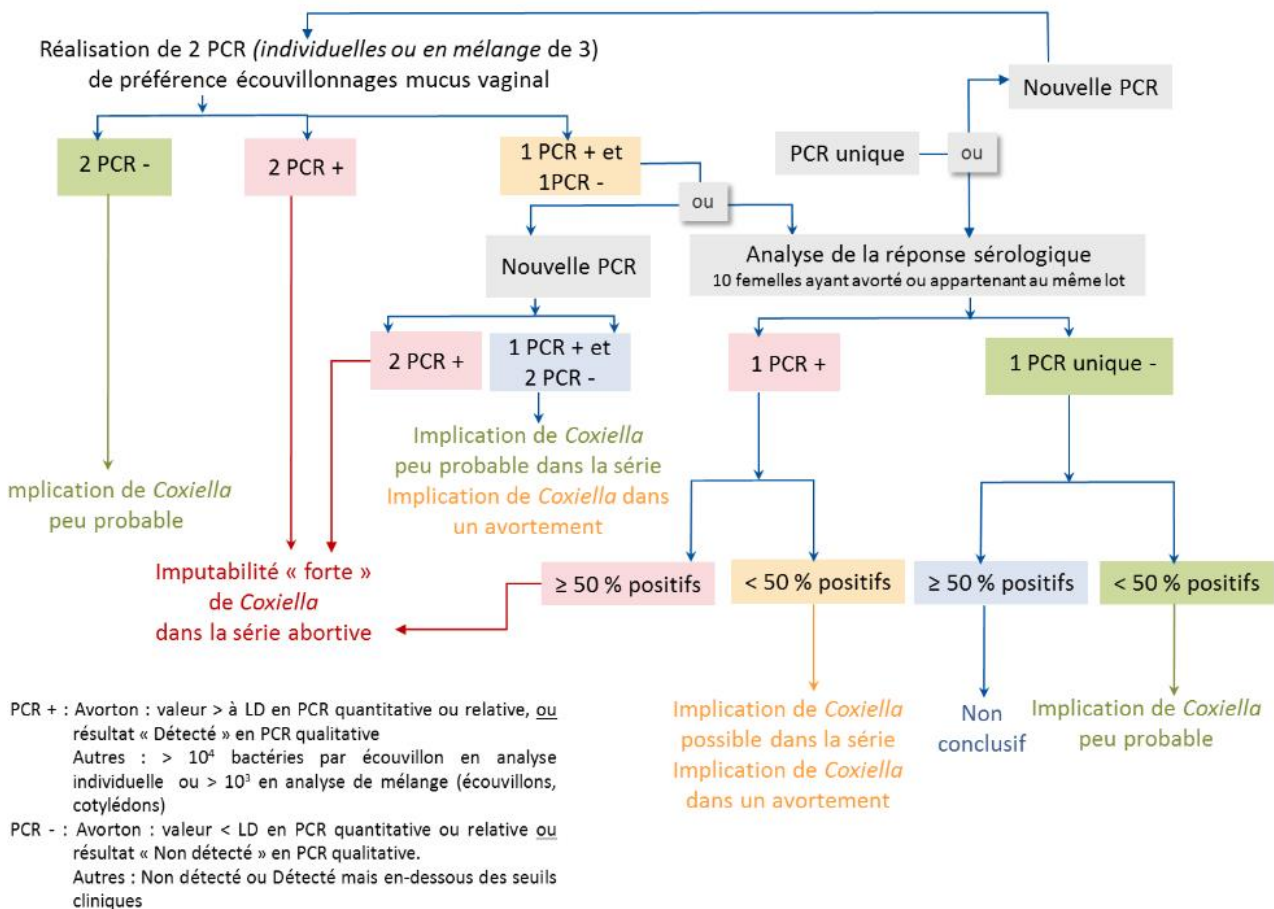


Figure A-8 : Prélèvements recommandés et arbres d'interprétation pour imputer un avortement à *C. burnetii* chez les caprins dans le cadre du protocole harmonisé pour le dispositif OSCAR. Source : (OSCAR, 2020a)

### III.4.2.2 Pour des enquêtes d'investigation à la suite de cas humains groupés

Lors de la recherche de la (des) source(s) d'exposition humaine, il est actuellement préconisé de réaliser des prélèvements sérologiques et des écouvillons vaginaux sur 15 femelles de chaque élevage suspecté et de n'analyser les PCR que si au moins un animal est testé positif en sérologie (DGAL, 2010; Dubuc-Forfait et al., 2009). Plus récemment, les tests sérologiques étaient réalisés sur 20 femelles de classes d'âge différentes (10 Prises de Sang (PS) sur primipares, cinq PS sur les femelles de 2 à 4 ans et cinq PS sur femelles de plus de 4 ans), en ciblant préférentiellement celles ayant mis bas ou avorté depuis plus d'un mois (Bernadou et al., 2019).

### III.4.2.3 Enquêtes épidémiologiques sur la situation sanitaire et surveillance

Dans le cadre de la surveillance des infections par *C. burnetii*, l'objectif est d'évaluer le niveau de circulation de la bactérie dans un élevage ou un territoire. On distingue généralement la surveillance événementielle (à partir de déclarations d'occurrence) et programmée (recueil planifié d'indicateurs) de l'infection. Dans la surveillance événementielle, les analyses ne sont réalisées que lors de manifestations cliniques de la maladie donc, pour la fièvre Q, lors de la survenue d'avortements dans un élevage. Les méthodes recommandées pour la surveillance événementielle sont donc les mêmes que celles recommandées pour attribuer un épisode abortif à *C. burnetii*. Néanmoins, étant donné que les infections par *C. burnetii* n'entraînent pas systématiquement des avortements, il est probable qu'une surveillance événementielle seule sous-estime la prévalence des infections par *C. burnetii*. La surveillance programmée implique la réalisation d'analyses sur des animaux ne présentant pas de signe clinique. Dans ce contexte, les méthodes ELISA sont recommandées, car elles peuvent être appliquées à un grand nombre d'individus (automatisation de l'analyse) à partir d'un prélèvement unique (sang). Ce protocole est plus facile à généraliser et moins coûteux qu'un protocole impliquant la réalisation de plusieurs prélèvements pour couvrir les différentes voies d'excrétion possible de la bactérie chez les ruminants domestiques asymptomatiques (OIE, 2018). Une alternative utilisable est l'analyse du lait de tank, par PCR (mise en évidence d'ADN) ou par ELISA (mise en évidence d'anticorps), permettant d'évaluer le statut de l'ensemble de l'élevage sur la base d'un prélèvement unique. Néanmoins, le lait de tank n'est évidemment utilisable que dans les élevages laitiers. Les autres approches de recherche de l'ADN de *C. burnetii* par PCR sur des poussières prélevées dans l'élevage sont également réalisables (Carrié et al., 2019; Joulié et al., 2015). Cependant, à ce jour, les performances de ces analyses sur lait de tank ou sur prélèvements environnementaux dans l'élevage pour évaluer son statut sont mal connues et n'ont pas été validés pour une telle utilisation en France.

### III.4.3 Bilan

Ces recommandations, basées sur l'expérience collective de nombreux experts de la fièvre Q, ne quantifient cependant pas explicitement l'incertitude diagnostique de chacune des méthodes préconisées. Cette absence de quantification de l'incertitude diagnostique des méthodes utilisées est liée à la complexité de l'évaluation des performances diagnostiques qui peuvent, en plus, être variables en fonction du type d'individu et du contexte d'utilisation des tests (Whiting et al., 2011). Nous allons maintenant détailler les approches utilisables pour évaluer les performances d'une méthode diagnostique.

## IV. Évaluation des performances d'une méthode diagnostique

### IV.1. Performances analytiques

#### IV.1.1 Définitions

Les performances analytiques de chaque méthode diagnostique sont mesurées sur la base d'indicateurs précis recensés, en France, dans les normes AFNOR U47-311 pour la PCR (AFNOR, 2014) et U47-311 pour les méthodes sérologiques (AFNOR, 2013). Ces deux normes permettent de cadrer les agréments des méthodes commercialisées. On retrouve également ces informations dans le guide de validation des méthodes d'analyse rédigé par l'Anses en 2018 (Anses, 2018). Parmi les indicateurs, on peut citer :

- La justesse qui évalue l'écart moyen entre la mesure réalisée par la méthode et la valeur de référence (valeur vraie) de l'échantillon analysé.
- La fidélité qui évalue la variabilité d'un ensemble de valeurs mesurées sur un même échantillon par une méthode autour de la valeur moyenne de l'ensemble des mesures. La fidélité est généralement mesurée sous la forme d'un coefficient de variation (CV). Elle peut être évaluée à trois niveaux différents, définis comme la répétabilité, la fidélité intermédiaire (intra-laboratoire) et la reproductibilité inter-laboratoires.
  - o La répétabilité mesure la variabilité des mesures répétées sur un même échantillon au sein d'un même essai (mêmes conditions opératoires, même opérateur, intervalle de temps court entre les mesures répétées).
  - o La fidélité intermédiaire, également appelée reproductibilité intra-laboratoire, mesure la variabilité des mesures répétées sur un même échantillon au sein d'un même laboratoire. L'objectif de cet indicateur est de quantifier la variabilité de mesures en fonction des différents opérateurs et de plusieurs séries d'analyse au sein d'un même laboratoire.
  - o La reproductibilité inter-laboratoires permet de quantifier la variabilité totale d'une méthode d'analyse y compris lorsqu'elle est réalisée dans des laboratoires différents (donc sur des séries et avec des opérateurs différents).
- L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre les valeurs mesurées sur un même échantillon et la valeur de référence de l'échantillon analysé. L'exactitude combine justesse et répétabilité/reproductibilité.
- La limite de détection correspond à la limite en dessous de laquelle la substance dosée est considérée comme non détectée. Elle revient à estimer la quantité minimale de substance qu'une méthode est capable de détecter avec une probabilité donnée (supérieure à 50 ou 95% en fonction des définitions).
- La limite de quantification n'est définie que pour les méthodes de dosage (PCR quantitative par exemple) et correspond à la plus faible concentration dans un échantillon qui puisse être mesurée avec une fidélité et justesse acceptable. Le domaine de quantification est la fenêtre de quantification valide entre la limite de quantification minimale et la limite maximale de quantification.

#### IV.1.2 Particularité des méthodes ELISA

Les méthodes ELISA ont un statut particulier, car, contrairement à la PCR, elles ne sont pas considérées comme des méthodes quantitatives, mais semi-quantitatives. Les données chiffrées sont interprétées en classes, ce sont des variables qualitatives ordonnées. Par ailleurs, la loi dose-réponse des méthodes de PCR quantitative suit une relation linéaire à l'échelle logarithmique avec la concentration en ADN de l'échantillon alors que la loi dose-réponse des méthodes ELISA suit une relation sigmoïde dont la forme dépend de l'affinité entre les anticorps et l'antigène utilisé dans l'ELISA (Clark et al., 1986). De plus, alors qu'il est relativement simple de préparer des solutions contenant une concentration définie de bactéries, il est beaucoup plus complexe, voire impossible, de préparer des solutions contenant des concentrations connues en anticorps. La calibration des méthodes ELISA est donc, de fait, beaucoup plus complexe. La limite de détection des méthodes ELISA peut être vérifiée à l'aide d'un niveau exigible de détection (NED), qui correspond à un niveau de dilution d'un sérum de référence qui doit entraîner une réponse strictement positive avec le test (AFNOR, 2013). Ainsi, le NED doit être défini pour chaque test en fonction du seuil de positivité choisi par le fabricant du kit (AFNOR, 2013). Par définition la limite de détection (détection à 95% par exemple) est en deçà du NED (détection à 100%).

#### IV.1.3 Suivis des méthodes ELISA mis en œuvre par le LNR fièvre Q

La fièvre Q n'étant pas une maladie réglementée en France, les méthodes ELISA sont commercialisées sans aucun agrément et, si les méthodes PCR commercialisées sont standardisées et validées, et les moyens pour le maintien des performances analytiques sont en place, des progrès sont encore nécessaires pour les kits ELISA.

À ce jour, le LNR fièvre Q propose aux fabricants de kits un matériau de référence calibrant (MR), qui est un mélange de sérums positifs disponible en quantité suffisante pour être largement distribué, et a convenu de

certaines modalités de contrôles qualité des lots de kits avec les fabricants (Rousset et al., 2021). Chaque fabricant a en charge de préparer, par dilution de ce MR, des matériels de référence internes (MRI) à deux niveaux proches (un au-dessus et un au-dessous) du seuil de positivité de son kit ELISA. Chaque dilution du MR correspond donc à une concentration d'anticorps inconnue, mais constante, quel que soit le test réalisé. Chaque fabricant de kits ayant choisi son seuil de positivité sans harmonisation entre les différents kits, les MRI calibrant associés à chaque kit sont réalisés à des dilutions différentes (par exemple le niveau au-dessus du seuil est un MR pur pour le test 1, dilué au ½ pour le test 2 et dilué au ¼ pour le test 3). Les trois tests commercialisés détectent donc des concentrations en anticorps différentes (plus faible pour le test 3 et plus élevée pour le test 1).

Un plan d'expériences similaire pour les trois fabricants est réalisé afin de calculer les données de variabilité de chaque nouveau lot (répétabilité intra-plaques, reproductibilités inter-plaques, moyennes pour chacun des deux niveaux). Des critères d'acceptation de lots vont être établis courant 2021 pour garantir une standardisation de la répétabilité, reproductibilité et justesse au niveau du seuil. Cette démarche permettra de calibrer les lots successifs des kits et donc une standardisation du mode opératoire (SOP pour « Standard Operation Procedure ») de réalisation des tests sérologiques.

#### IV.1.4 Maintien des performances analytiques dans un réseau de laboratoires

L'examen de l'ensemble de ces indicateurs permet d'évaluer de façon précise et standardisée les performances analytiques de chaque méthode diagnostique. Si l'ensemble de ces indicateurs, et en particulier l'exactitude, sont jugés acceptables, on peut considérer qu'un même échantillon obtiendra un résultat comparable s'il est testé avec le même test par deux laboratoires différents ou à deux moments différents. La vérification de l'ensemble de ces indicateurs permet donc de s'assurer que les méthodes diagnostiques fournissent un résultat proche de la valeur de référence attendue, quel que soit l'endroit ou le moment où est réalisé le test.

Pour une méthode donnée, l'évaluation des laboratoires utilisateurs peut être réalisée régulièrement dans un réseau de laboratoires utilisant cette méthode. En France, cette évaluation des laboratoires est réalisée tous les deux ans par le LNR fièvre Q dans le cadre d'essais inter-laboratoires (EILA) portant sur l'ensemble des tests PCR et ELISA commercialisés pour le diagnostic de la fièvre Q chez les ruminants domestiques (Rousset et al., 2021, 2012). La démarche mise en place permet une observation de la cohérence des données produites par le réseau de laboratoire.

En complément de ces EILA ponctuels, constituant une évaluation externe de l'aptitude des laboratoires, l'analyse au sein de chaque série d'analyse d'un MR préparé par le LNR (bactéries inactivées ou mélange de sérums positifs respectivement pour les analyses PCR et ELISA) permet à chaque laboratoire de suivre ses résultats au sein d'une carte de contrôle et donc de s'assurer du maintien des performances (évaluation interne en continu).

Néanmoins, que ce soit pour les méthodes ELISA ou PCR, le suivi des performances analytiques des méthodes d'analyses ne permet pas d'évaluer leurs performances diagnostiques, c'est-à-dire leur capacité à donner un résultat positif ou négatif respectivement chez un individu réellement positif ou réellement négatif.

### IV.2. Évaluation des performances diagnostiques à partir d'un matériel de référence

#### IV.2.1 Définition

Dans les normes AFNOR, la sensibilité diagnostique (Se) est définie comme la proportion d'animaux de référence connus comme infectés et présentant un résultat positif au test (AFNOR, 2014, 2013). La spécificité diagnostique (Sp) est définie comme la proportion d'animaux de référence connus comme non infectés présentant un résultat négatif. Il est précisé que les Se et Sp de la méthode « doivent être évalués à partir d'un panel représentatif d'échantillons du terrain ou issu d'une infection expérimentale, de statut connu positif et négatif (selon leur disponibilité). Le statut de ces échantillons a préalablement été déterminé par une méthode de référence et/ou sur la base de critères justifiés (épidémiologiques ou analytiques). »



#### IV.2.2 Évaluation des Se et Sp à partir d'échantillons de statuts connus

La principale limite de cette préconisation réside dans la difficulté pour constituer un panel d'échantillons qui soit à la fois représentatif et de statut connu. En effet, aucune des méthodes diagnostiques des infections par *C. burnetii* ne peut être considérée comme une méthode de référence parfaite (ou gold standard) avec des Se et Sp égales à 100% (OIE, 2018). En outre, les échantillons de statuts connus issus d'infection expérimentale ne correspondent pas exactement aux conditions rencontrées lors d'infections réelles sur le terrain. En effet, les infections expérimentales sont généralement réalisées sur des animaux en bonne santé et les échantillons sont prélevés à des temps bien définis par rapport au moment de l'inoculation, ce qui peut conduire à des échantillons plus fréquemment positifs que ceux prélevés en conditions de terrain, sur des individus infectés naturellement (Greiner and Gardner, 2000a). Les échantillons de statuts connus négatifs sont également peu représentatifs des situations réelles (Ransohoff and Feinstein, 1978), car ils sont prélevés sur des animaux qui n'ont jamais été exposés à la bactérie. Ces échantillons peuvent donc être plus fortement négatifs que des échantillons prélevés sur des animaux non infectés issus d'élevage où la bactérie *C. burnetii* est présente.

#### IV.2.3 Évaluation des Se et Sp à partir d'un test de référence imparfait

Une autre possibilité pour déterminer le statut d'échantillons de référence est d'utiliser une autre méthode diagnostique pour les qualifier. Néanmoins, étant donné qu'il n'existe aucune méthode de référence parfaite, cette approche permet uniquement d'estimer les sensibilité et spécificité relatives de la méthode à évaluer par rapport à la méthode considérée arbitrairement comme référence. Cette approche sera d'autant plus biaisée que les performances de la méthode utilisée en référence sont faibles et que les deux méthodes ont tendance à se tromper de façon simultanée chez les individus réellement positifs ou négatifs : on dit alors que les deux méthodes sont dépendantes conditionnellement au statut vis-à-vis de l'infection (Whiting et al., 2011). Pour pallier le problème des erreurs de classification des échantillons de statuts connus, il est possible d'exclure de l'échantillonnage représentatif tous les échantillons de statuts douteux ou présentant des résultats intermédiaires, comme ceux présentant un résultat proche du seuil de positivité de la méthode utilisée en référence. Néanmoins, le fait d'exclure ces échantillons, de statut douteux ou incertain, rend le panel d'échantillons considéré non représentatif de la population sur laquelle la méthode va être utilisée en pratique. Il en résulte généralement une surestimation des performances diagnostiques de la méthode évaluée. Ainsi, du fait de la difficulté, voire de l'impossibilité de constituer une banque d'échantillons de statuts connus et représentatifs de la population, en l'absence de gold standard, les méthodes d'évaluation des performances diagnostiques à partir d'échantillons de statuts connus sont donc généralement biaisées (Greiner and Gardner, 2000a; Reid et al., 1995; Whiting et al., 2011).

### IV.3. Évaluation des performances diagnostiques sur un échantillon représentatif en l'absence de gold standard

#### IV.3.1 Les modèles à classes latentes

En l'absence de gold standard, les modèles à classes latentes (MCL) peuvent être utilisés pour évaluer la sensibilité et la spécificité de plusieurs tests diagnostiques sans connaître le statut réel des individus testés (Hui and Walter, 1980). Ces modèles reposent sur l'évaluation des résultats croisés de différents tests binaires dans diverses populations. Les mesures quantitatives obtenues à partir de tests semi-quantitatifs, tels que les tests ELISA, sont généralement incluses dans ces modèles en tant que variables binaires, selon le seuil de positivité fourni par le fabricant. Les MCL reposent sur l'hypothèse que les tests diagnostiques mesurent un statut latent commun et non observé, par exemple « avoir ou non des anticorps contre *C. burnetii* dans un échantillon de sang » qui conditionne, pour chaque individu, la probabilité d'obtenir un résultat positif ou négatif avec les tests.

Dans la suite du paragraphe, les tests T1 et T2 désignent deux tests diagnostiques binaires (comme l'interprétation d'un test ELISA – en dessus ou en dessous du seuil de positivité) dont on cherche à estimer les Se et Sp. Pour rester dans le cadre général de l'utilisation de ces modèles, le terme « maladie » est utilisé. Cependant ces modèles concernent de la même façon l'évaluation des performances de tests visant à révéler,

avec une approche sérologique, des infections en cours ou passées, y compris les infections par *C. burnetii*.

Les estimations sont réalisées à partir du tableau des résultats croisés des deux tests (Tableau A-4), où  $n_{11}$ ,  $n_{10}$ ,  $n_{01}$  et  $n_{00}$  sont respectivement les nombres d'individus positifs pour les deux tests, positifs pour le test 1 mais négatifs pour le test T2, négatifs pour le test T1 mais positifs pour le test T2, positifs pour les deux tests.

Tableau A-4: Résultats croisés des deux tests

	Test T2 positif	Test T2 négatif
Test T1 positif	$n_{11}$	$n_{10}$
Test T1 négatif	$n_{01}$	$n_{00}$

Pour tout individu appartenant à une population dont la prévalence de la maladie dépistée par les tests T1 et T2 est notée  $\pi$ , on peut exprimer les probabilités d'obtenir un résultat correspondant à chacune des catégories du Tableau A-4 en fonction des  $Se$  et  $Sp$  des deux tests et de la prévalence de la maladie selon la formule (0.1) :

$$\begin{aligned}
 p_{11} &= \pi \times Se_1 \times Se_2 + (1 - \pi) \times (1 - Sp_1) \times (1 - Sp_2) \\
 p_{10} &= \pi \times Se_1 \times (1 - Se_2) + (1 - \pi) \times (1 - Sp_1) \times Sp_2 \\
 p_{01} &= \pi \times (1 - Se_1) \times Se_2 + (1 - \pi) \times Sp_1 \times (1 - Sp_2) \\
 p_{00} &= \pi \times (1 - Se_1) \times (1 - Se_2) + (1 - \pi) \times Sp_1 \times Sp_2
 \end{aligned}
 \tag{0.1}$$

Où  $Se_1$ ,  $Se_2$  et  $Sp_1$ ,  $Sp_2$  sont respectivement les sensibilités et les spécificités des tests T1 et T2.

Étant donné que la connaissance de trois des cellules du Tableau A-4 permet de déterminer la quatrième, car la taille de l'échantillon (notée  $N$ ) est connue ( $n_{00} = N - (n_{11} + n_{01} + n_{10})$ ), les données ont trois degrés de liberté pour cinq paramètres à estimer (la sensibilité et la spécificité des deux tests et la prévalence dans la population) ce qui conduit à une infinité de solutions pour les estimations de ces paramètres.

En revanche, si les deux tests sont évalués dans deux populations de prévalences différentes, alors le jeu de données à six degrés de liberté pour six paramètres à estimer (les  $Se$  et  $Sp$  des deux tests et les prévalences dans chacune des deux populations). Étant donné qu'il y a autant de paramètres à estimer que de degrés de liberté, une résolution analytique est possible : elle a été proposée par Hui and Walter en 1980 (Hui and Walter, 1980). De même, les données de trois tests sur la même population ont huit degrés de liberté pour sept paramètres à estimer et une résolution analytique est possible (Pepe and Janes, 2007). L'augmentation du nombre de degrés de liberté des données, par l'ajout de tests ou par la réalisation des tests sur plusieurs populations, est la clef des modèles à classes latentes. Ces modèles reposent sur l'hypothèse que les sensibilités et spécificités des tests sont constantes dans chacune des populations et que les résultats de chacun des tests sont indépendants conditionnellement au statut de la maladie.

Même si dans les cas décrits précédemment il existe des solutions analytiques, dans un cadre plus général, si  $T$  tests sont appliqués sur  $P$  populations, l'estimation des prévalences, des sensibilités et des spécificités peut être obtenue par maximisation de la vraisemblance avec l'algorithme de Newton-Raphson (NR) (Tanner, 1996) ou l'algorithme EM (Expectation Maximisation) (Singer et al., 1998) ou par inférence bayésienne (Collins and Huynh, 2014). Cette dernière est de plus en plus utilisée dans le cadre des modèles à classes latentes, notamment grâce au logiciel libre JAGS (Plummer et al., 2016) ou Winbugs (Lunn et al., 2000), car elle est plus flexible et présente l'avantage de pouvoir intégrer une information *a priori* sur certains paramètres partiellement connus, comme les sensibilités et spécificités de certains tests ou de certaines prévalences (Branscum et al., 2005).

#### IV.3.2 Problématique de la dépendance conditionnelle entre les tests

Une des hypothèses majeures du modèle de Hui et Walter est l'indépendance des différents tests conditionnellement au statut vis-à-vis de la maladie. Cette hypothèse se traduit par exemple par le fait que les erreurs diagnostiques sont indépendantes entre les différents tests. Néanmoins, cette hypothèse n'est souvent pas vérifiée quand plusieurs tests reposent sur le même principe biologique. Par exemple, les erreurs diagnostiques de deux méthodes ELISA différentes détectant des anticorps contre *C. burnetii* ont une probabilité élevée d'être dépendantes à la fois pour les animaux réellement séropositifs et les animaux réellement séronégatifs. En ignorant la dépendance conditionnelle entre les différents tests, les estimations du modèle de Hui et Walter sont biaisées (Dendukuri and Joseph, 2001). Pour mieux visualiser la présence d'une dépendance conditionnelle, considérons le Tableau A-5 :

Tableau A-5 : Probabilités observées ( $P_{ijD^+}$  et  $P_{ijD^-}$ ) pour un individu respectivement malade (noté  $D^+$ ) ou non malade (noté  $D^-$ ) d'être dans chacune des quatre cellules du tableau des résultats croisés des deux tests

Individus malades			Individus non malades		
	Test T2 positif	Test T2 négatif		Test T2 positif	Test T2 négatif
Test T1 positif	$P_{11D^+}$	$P_{10D^+}$	Test T1 positif	$P_{11D^-}$	$P_{10D^-}$
Test T1 négatif	$P_{01D^+}$	$P_{00D^+}$	Test T1 négatif	$P_{01D^-}$	$P_{00D^-}$

Les probabilités marginales du tableau des individus malades nous donnent les sensibilités des deux tests (0.2) et celles du tableau des individus non malades leurs spécificités (0.3):

$$(0.2) \begin{cases} Se_1 = P_{11D^+} + P_{10D^+} = 1 - (P_{01D^+} + P_{00D^+}) \\ Se_2 = P_{11D^+} + P_{01D^+} = 1 - (P_{10D^+} + P_{00D^+}) \end{cases} \text{ et } (0.3) \begin{cases} Sp_1 = P_{11D^-} + P_{01D^-} = 1 - (P_{10D^-} + P_{00D^-}) \\ Sp_2 = P_{10D^-} + P_{00D^-} = 1 - (P_{11D^-} + P_{01D^-}) \end{cases}$$

Si, conditionnellement au statut de la maladie, les deux tests sont indépendants, alors chacune des cases des deux tableaux peut s'exprimer en fonction des sensibilités et spécificités de chacun des tests, car  $P(T_1^+ \cap T_2^+ | D^+) = P(T_1^+ | D^+) \times P(T_2^+ | D^+)$ . Par exemple :

$$P_{11D^+} = Se_1 \times Se_2 \quad \text{et} \quad P_{00D^-} = Sp_1 \times Sp_2$$

On retrouve alors le modèle de Hui and Walter, où il suffit d'estimer les sensibilités et spécificités et les prévalences, soit six paramètres pour six degrés de liberté. Néanmoins, lorsque la condition d'indépendance conditionnelle n'est pas respectée, alors  $P_{11D^+} \neq Se_1 \times Se_2$  et  $P_{00D^-} \neq Sp_1 \times Sp_2$ . On définit alors les termes de dépendance conditionnelle entre les tests 1 et 2  $\gamma_{Se12}$  et  $\gamma_{Sp12}$  respectivement chez les individus malades (0.4) et non malades (0.5).

$$(0.4) \gamma_{Se12} = P_{11D^+} - Se_1 \times Se_2$$

$$(0.5) \gamma_{Sp12} = P_{00D^-} - Sp_1 \times Sp_2$$

Ainsi, il est possible d'exprimer chacune des cellules du Tableau A-4 à partir des six paramètres décrits ( $Se_1$ ,  $Se_2$ ,  $Sp_1$ ,  $Sp_2$ ,  $\gamma_{Se12}$  et  $\gamma_{Sp12}$ ).

Néanmoins, le modèle à deux tests et deux populations devient non identifiable, car il faut estimer huit paramètres (les six précédents et les deux prévalences). Le modèle devient identifiable si trois tests sont appliqués sur au moins deux populations ou si cinq tests sont appliqués sur une population (Collins and Huynh, 2014). Sinon, il est possible de réaliser les estimations par inférence bayésienne en spécifiant des lois *a priori* informatives sur certains paramètres (généralement la sensibilité et la spécificité d'un test déjà connu et les prévalences) (Branscum et al., 2005).

### IV.3.3 Limites des modèles à classes latentes

L'utilisation des modèles à classes latentes est donc une réelle opportunité pour estimer les performances diagnostiques, néanmoins des biais peuvent être associés à ces modèles (Collins and Albert, 2016).

Il existe d'autres approches que celles présentées au IV.3.2 pour modéliser la dépendance conditionnelle entre les tests (Albert et al., 2001; Branscum et al., 2005; Dendukuri et al., 2009; Engel et al., 2006; Torrance-Rynard and Walter, 1997; Xu and Craig, 2009), cependant elles sont toutes confrontées à des problèmes d'identifiabilité. En outre, les modèles avec des structures de dépendance conditionnelle différentes peuvent mener à des estimations des sensibilité et spécificité différentes quand ils sont appliqués sur les mêmes données (Albert and Dodd, 2004; Menten et al., 2008), sans pouvoir choisir facilement quelles estimations sont les plus fiables.

D'un point de vue général, les estimations des Se et Sp sont basées sur l'ajustement d'un statut latent par le modèle qui cherche le meilleur consensus entre les tests. La pertinence de ce consensus estimé par le modèle d'un point de vue biologique est discutée dans plusieurs articles et interroge particulièrement, car il est souvent impossible de la vérifier en l'absence de gold standard (Albert and Dodd, 2004; Alonzo and Pepe, 1999).

Par exemple, lorsque deux tests sont très concordants, il existe théoriquement deux solutions possibles aux modèles à classes latentes : soit les deux tests ont des Se et Sp élevées et sont indépendants conditionnellement au statut vis-à-vis de la maladie, soit les deux tests ont des performances plus basses et sont dépendants conditionnellement au statut vis-à-vis de la maladie. Dans ce deuxième cas, on peut considérer ce problème comme deux statuts latents différents que le modèle peut estimer : l'un correspondant à « l'animal est positif ou négatif avec les deux tests » (la Se estimée pour chaque test correspondra à la probabilité d'obtenir un résultat positif avec chacun des tests sachant que l'animal est globalement positif avec les tests) et l'autre à « l'animal est réellement positif ou négatif » (la Se estimée correspondra à la probabilité d'obtenir un résultat positif avec chacun des tests sachant que l'animal est réellement positif). Le modèle à classes latentes aura du mal à différencier les deux solutions possibles correspondant à cette situation.

Face à ces biais potentiels, certains auteurs recommandent de vérifier la robustesse du modèle préalablement à l'interprétation des résultats (Collins and Albert, 2016). Pour ce faire, un guide de rédaction a été rédigé pour favoriser une meilleure discussion de l'ensemble des hypothèses du modèle (Kostoulas et al., 2017). Il est également possible de réaliser les estimations avec différents modèles à classes latentes pour évaluer les conséquences du relâchement de certaines des hypothèses du modèle sur les estimations des paramètres. Néanmoins, lorsque les estimations obtenues avec chaque modèle sont différentes, le choix entre les estimations des différents modèles est délicat, ce qui conduit de multiples estimations des Se et Sp de chaque test au sein d'une même étude (Asselineau et al., 2018; Paul et al., 2014).

Une autre approche utilisable est la simulation du jeu de données à partir de valeurs connues des paramètres du modèle, en supposant ou non les hypothèses du modèle comme vérifiées. La réalisation de simulations permet de calculer par exemple le biais relatif, la probabilité de couverture et l'erreur quadratique moyenne des estimateurs du modèle. L'évaluation de la robustesse d'un modèle à classes latentes a principalement été réalisée dans des études à visée méthodologique, avec éventuellement des jeux de données réels, mais ceux-ci n'étaient inclus que pour illustrer les conséquences des différents modèles utilisés (Albert and Dodd, 2004; Gustafson, 2005; McAloon et al., 2016; Torrance-Rynard and Walter, 1997). Certaines études évaluent également les performances de leurs modèles sur des jeux de données simulées de taille et de structure comparable à celui analysé (Albert et al., 2001; Asselineau et al., 2018; Wang et al., 2017a). L'avantage de cette dernière approche est que les performances du modèle estimées par simulation correspondent exactement au jeu de données analysé. Ainsi, les biais potentiels liés à la taille de l'échantillon et la structure du jeu de données sont naturellement inclus dans ces études.

Les modèles à classes latentes sont donc une solution intéressante pour estimer les performances diagnostiques de plusieurs tests en l'absence de gold standard, mais leur robustesse devrait être systématiquement évaluée avant d'interpréter les estimations du modèle et une attention particulière devrait être portée pour évaluer la pertinence des résultats d'un point de vue biologique.

## V. Incertitude diagnostique des tests ELISA et conséquences sur l'interprétation des résultats

### V.1. Performances diagnostiques évaluées par des modèles à classes latentes pour les trois tests ELISA commercialisés

#### V.1.1 Estimations réalisées dans les études précédentes

À notre connaissance, six études ont utilisé des MCL pour évaluer les performances diagnostiques des méthodes ELISA commercialisées pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii* (Tableau A-6). Elles incluaient soit les tests 1, 2 et 3 (Horigan et al., 2011), soit deux de ces tests (Emery et al., 2014; Lucchese et al., 2016), soit un test ELISA et une autre méthode telle que le test d'immunofluorescence indirecte (IFA) ou le test de fixation du complément (CFT) (Muleme et al., 2016; Wood et al., 2019), soit un test ELISA unique réalisé sur deux types de prélèvement différents (Paul et al., 2013). Seul le test 1 était inclus dans toutes les études (Tableau A-6). Globalement, toutes espèces confondues, les estimations des Se et Sp du test 1 étaient élevées, allant de 70 à 97% pour les Se et de 83 à 100% pour les Sp (Tableau A-6).

#### V.1.2 Risque de biais des études publiées à ce jour

Dans ces études, la dépendance conditionnelle entre les tests est négligée (Horigan et al., 2011; Paul et al., 2014) ou estimée à des valeurs faibles (Lucchese et al., 2016; Muleme et al., 2016; Wood et al., 2019), ou non rapportée (Emery et al., 2014). Pourtant, l'hypothèse d'indépendance conditionnelle entre les tests n'est généralement pas satisfaite quand les tests considérés reposent sur le même principe biologique (Kostoulas et al., 2017). De plus, les erreurs diagnostiques de deux méthodes ELISA différentes, détectant des anticorps dirigés contre la même bactérie *C. burnetii*, ont une forte probabilité d'être dépendantes à la fois pour les animaux séropositifs apparents et les animaux séronégatifs apparents. En effet, un individu ayant un faible taux d'anticorps circulants dirigés contre *C. burnetii* sera probablement un faux négatif avec les deux méthodes ELISA ; de la même façon, un résultat faux positif, dû à l'exposition de l'animal à une bactérie présentant des antigènes présentant une réaction croisée avec *C. burnetii*, se rencontrera probablement avec les deux tests sérologiques.

Plusieurs études (Muleme et al., 2016; Wood et al., 2019) utilisent des priors informatifs issus des estimations réalisées dans l'étude d'Horigan et al., 2011 pour favoriser la convergence du modèle. Or cette étude ne prend pas en compte la dépendance conditionnelle entre les tests et présente donc un risque biais important.

Enfin, l'étude réalisée par Paul et al., 2013 n'inclut que le test 1, réalisé sur des échantillons de sérum ou de lait issus des mêmes individus. Dans cette étude, il est possible que le statut latent ajusté par le modèle soit « l'individu est positif ou négatif avec le test 1 » et non « l'individu est réellement séropositif ou séronégatif ».

#### V.1.3 Pertinence biologique des estimations

Les estimations de Se et Sp élevées du test 1 sont peu plausibles d'un point de vue biologique, car les tests ELISA ne sont pas considérés comme fiables par l'OIE à l'échelle individuelle (OIE, 2018) et de nombreuses études rapportent des discordances importantes à la fois entre les différents tests sérologiques (Böttcher et al., 2011; Rousset et al., 2007) et entre les tests sérologiques et PCR pour détecter les individus excréteurs, y compris chez des individus excréteurs de façon chronique (Guatteo et al., 2007).

Ainsi, ces estimations posent des questions à la fois du point de vue statistique, concernant la méthodologie utilisée pour estimer les performances diagnostiques des tests considérés, et du point de vue de leur pertinence biologique. Étant donné qu'aucune de ces études n'a évalué la robustesse du modèle utilisé, elles sont à interpréter avec précaution et il est possible qu'elles surestiment les Se ou les Sp des tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii*. Dans ce contexte, il est important de mettre en place une étude des performances diagnostiques des trois tests ELISA avec un modèle à classes latentes prenant en compte la dépendance conditionnelle entre les trois tests et dont la robustesse est évaluée pour obtenir une estimation non biaisée des Se et Sp des tests ELISA utilisés chez les ruminants domestiques.

Tableau A-6 : Caractéristiques des études ayant évalué les performances diagnostiques d'au moins un des tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii* avec des modèles à classes latentes.

NA : Non applicable.

Étude	Tests évalués	Espèces	Se/Sp du test 1*	Dépendance conditionnelle		Distribution <i>a priori</i> utilisée	Commentaire
				Prise en compte	Résultats		
(Horigan et al., 2011)	Test 1, 2 et 3 CFT	Bovin	Se=100% Sp=98,9%	Non	NA	NA (Inférence fréquentiste)	Risque de biais important et surestimation probable des Se et Sp
		Caprin	Se=93,1% Sp=91,2%				
		Ovin	Se=100% Sp=99,6%				
(Paul et al., 2013)	Test 1 (Sérum/Lait)	Bovin	Se=84% Sp=99%	Oui	« Pas significative »	Peu informatif Uniforme (0,1)	Seulement test 1 Le statut latent est potentiellement « L'animal est positif avec le test 1 » <b>plutôt que</b> « l'animal est réellement séropositif »
(Emery et al., 2014)	Test 1 Test 2 CFT	Caprin	Se=97% Sp=100%	Non précisée	Non précisée	NA (Inférence fréquentiste)	Un seul élevage inclus. Pas d'information sur la dépendance conditionnelle
(Lucchese et al., 2016)	Test 1 Test 2 CFT	Bovin	Se=97% Sp=92%	Oui	Basse (presque nulle)	Peu informatif (Uniforme (0,1)) et informatif	Se et Sp élevées, biais potentiel si les tests sont conditionnellement dépendants
		Caprin	Se=98% Sp=83%				
(Muleme et al., 2016)	Test 1, CFT, IFA ELISA (autre test « maison »)	Caprin	Se=70% Sp=96%	Oui	Non précisée, mais basse	Informatif (de l'étude d'Horigan et al. 2011)	Information <i>a priori</i> potentiellement biaisée, car estimée à partir des résultats d'Horigan et al., 2011
(Wood et al., 2019)	Test 1 IFA	Bovin	Se =88% Sp= 98%	Oui	Non précisée, mais basse	Informatif (issue des études de Muleme et al 2016)	Peu d'information sur les dépendances conditionnelles estimées

\* seules les estimations des Se et Sp du test 1 sont rapportées dans le tableau, car c'est le seul test ELISA utilisé dans l'ensemble des études citées

## V.2. Prise en compte de l'incertitude diagnostique

La connaissance des  $Se$  et  $Sp$  des tests ELISA n'est pas suffisante pour interpréter leur résultat. En effet, la question à laquelle veut répondre l'utilisateur des tests ELISA est généralement « l'individu testé est-il réellement séropositif ou non ? » ou « le troupeau est-il réellement séropositif ou non ? ».

### V.2.1 Interprétation des résultats à l'échelle individuelle

La question « l'individu testé est-il réellement séropositif ou non ? » peut se traduire par « Sachant le résultat du test que je viens de réaliser, quelle est la probabilité que l'individu testé soit réellement séropositif ? ». Pour répondre à cette question, il faut calculer les valeurs prédictives négative ( $VPN, (0.7)$ ) et positive ( $VPP, (0.6)$ ) du test (respectivement probabilité qu'un individu soit réellement séronégatif (noté  $S^-$ ) sachant que le test est négatif (noté  $T^-$ ) et probabilité que l'individu soit réellement séropositif (noté  $S^+$ ) sachant que le test est positif (noté  $T^+$ )).

$$(0.6) VPP = P(S^+ | T^+)$$

$$(0.7) VPN = P(S^- | T^-)$$

Si les tests sont réalisés dans un élevage de ruminants domestiques dont la séoprévalence intra-élevage est notée  $WHP$  (pour « within-herd prevalence ») alors les VP, s'exprime à partir de  $WHP$  et des  $Se$  et  $Sp$  du test :

$$(0.8) \quad VPP = \frac{WHP \times Se}{WHP \times Se + (1 - WHP) \times (1 - Sp)}$$
$$VPN = \frac{(1 - WHP) \times Sp}{WHP \times (1 - Se) + (1 - WHP) \times Sp}$$

Lorsque le plan de dépistage est réalisé dans un troupeau de statut sérologique inconnu, les valeurs prédictives à l'échelle individuelle dépendent également du statut du troupeau, car dans un troupeau réellement séronégatif  $WHP = 0$  et tous les individus sont réellement séronégatifs. Dans ce cas, quelles que soient les  $Se$  et  $Sp$  du test, la  $VPP$  est égale à 0 et la  $VPN$  est égale à 1. Lorsque l'on cherche à évaluer le statut sérologique des individus, il est donc également important d'évaluer le statut du troupeau.

### V.2.2 Interprétation des résultats à l'échelle de l'élevage

Pour interpréter les résultats d'un plan de dépistage sérologique réalisé dans un élevage, on calcule généralement les sensibilité et spécificité du plan de dépistage à l'échelle du troupeau (respectivement notées  $HSe$  et  $HSp$ , pour « Herd Sensitivity » et « Herd Specificity »). Si on échantillonne  $N$  individus dans un élevage, et que l'on considère l'élevage comme positif à partir du moment où au moins un individu est testé positif parmi les  $N$  testés, alors  $HSe$  correspond à la probabilité d'observer au moins un individu positif dans un élevage réellement séropositif et  $HSp$  correspond à la probabilité de n'observer aucun animal testé positif dans un élevage séronégatif.

Comme à l'échelle individuelle, les valeurs prédictives positive et négative (notées respectivement  $HVPP$  et  $HVPN$  pour valeur prédictive positive et négative à l'échelle du troupeau), sont facilement calculables à partir de  $HSe$  et  $HSp$  et de la séoprévalence inter-élevage (notée  $BHP$  pour « between-herd prevalence ») :

$$(0.9) \quad HVPP = \frac{BHP \times HSe}{BHP \times HSe + (1 - BHP) \times (1 - HSp)}$$

$$HVPN = \frac{(1 - BHP) \times HSp}{BHP \times (1 - HSe) + (1 - BHP) \times HSp}$$

Cependant, à l'échelle du troupeau, les  $HSe$  et  $HSp$  sont complexes à calculer, car elles dépendent des  $Se$  et  $Sp$  du test utilisé, mais également du nombre d'individus testés, de la règle de décision du plan de dépistage (nombre d'individus testés positifs à partir duquel on considère le troupeau comme étant testé positif) et de la séroprévalence intra-élevage (car la probabilité d'échantillonner des individus réellement séropositifs augmente lorsque  $WHP$  augmente).

Plusieurs formules ont été proposées pour estimer  $HSe$  et  $HSp$  à partir des valeurs de  $Se$  et  $Sp$  (à l'échelle individuelle), en supposant que le nombre d'individus testés positifs suit soit une distribution binomiale (Cannon, 2001) soit une distribution hypergéométrique (Gautam et al., 2019). Néanmoins, ces formules supposent que  $Se$  et  $Sp$  sont connues. De plus, la séroprévalence intra-élevage est généralement fixée soit à une valeur basse (séroprévalence minimale que l'on veut être capable de détecter avec le plan de dépistage (Heisey et al., 2014; Ziller et al., 2002)), soit à une valeur moyenne ou médiane (Gautam et al., 2019; Humphry et al., 2004).

En réalité, les valeurs de séroprévalence intra-élevage des infections par *C. burnetii* sont variables entre les différents élevages. Le fait de fixer la séroprévalence intra-élevage à une valeur seuil fixe entraîne donc un biais dans la formule de calcul de la sensibilité à l'échelle du troupeau. Si, dans l'élevage considéré, la séroprévalence intra-élevage est inférieure à la valeur fixée, alors la  $HSe$  sera généralement surestimée. En effet, à un nombre d'individus prélevés fixe, la probabilité d'échantillonner un individu réellement séropositif (et donc la probabilité de tester un individu positif) sera plus basse dans l'élevage ayant une séroprévalence plus basse. Inversement, si la séroprévalence intra-élevage est supérieure à la valeur seuil fixée, alors la  $HSe$  sera généralement sous-estimée. Ce biais potentiel n'a pas nécessairement de conséquences importantes quand l'objectif du calcul est d'estimer la sensibilité du plan de surveillance à l'échelle de la population dans une zone indemne (Ziller et al., 2002). En revanche, ce biais peut être problématique pour calculer les valeurs prédictives du plan de dépistage dans chaque élevage échantillonné, car le fait de fixer arbitrairement une valeur de séroprévalence revient à sous-estimer la variabilité des situations possibles pour chaque élevage et donc à sous-estimer la variabilité des valeurs prédictives.

Ainsi, en plus de disposer d'estimation des  $Se$  et  $Sp$  des tests utilisés, pour interpréter les résultats des tests à l'échelle individuelle ou à celle des élevages, il est indispensable de disposer d'une évaluation fiable des séroprévalences intra- et inter-élevages.

### V.3. Séroprévalence des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques

Depuis l'importante épidémie humaine de fièvre Q ayant eu lieu aux Pays-Bas entre 2007 et 2010, dont la source principale de contamination était les ruminants domestiques (van der Hoek et al., 2012), de nombreuses enquêtes épidémiologiques ont été réalisées en Europe pour estimer la prévalence des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques (EFSA, 2010; Guatteo et al., 2011). La plupart de ces enquêtes étaient de type sérologique et visaient à estimer la séroprévalence des infections par *C. burnetii* chez les ovins, bovins et caprins avec pour enjeu principal d'évaluer l'importance de la circulation de cette bactérie chez ces animaux et, par conséquent, d'évaluer le risque d'exposition des humains en contact direct ou indirect avec des ruminants domestiques (Anastácio et al., 2013; Fernández-Aguilar et al., 2016; Gache et al., 2017; Galluzzo et al., 2019; Paul et al., 2014; Rizzo et al., 2016; Schimmer et al., 2014, 2011; Szymańska-Czerwińska et al., 2017; Villari et al., 2018).



### V.3.1 Des plans d'échantillonnage variables

La comparaison des résultats de ces études est complexe, car ces dernières diffèrent par les tests diagnostiques utilisés, les indicateurs mesurés (prévalences intra- ou inter-élevages) et par les stratégies d'échantillonnage mises en place. Concernant les plans d'échantillonnage, le nombre d'individus prélevés par élevage variait de 10-15 animaux (Gache et al., 2017) à 60 animaux (Schimmer et al., 2014) par troupeau. Seule la règle d'interprétation des résultats à l'échelle du troupeau était similaire dans toutes les études, les troupeaux étant systématiquement considérés comme séropositifs dès qu'au moins un animal était testé positif parmi ceux prélevés. En revanche, les séroprévalences à l'échelle individuelle n'étaient pas toutes estimées de la même façon : certaines études rapportaient la proportion d'animaux testés positifs parmi l'ensemble des animaux prélevés dans l'étude (Anastácio et al., 2013; Gache et al., 2017; Galluzzo et al., 2019; Paul et al., 2014; Rizzo et al., 2016; Ruiz-Fons et al., 2010; Schimmer et al., 2014, 2011; Szymańska-Czerwińska et al., 2017; Villari et al., 2018), d'autres rapportaient le nombre moyen d'individus testés positifs dans l'ensemble des élevages (Ruiz-Fons et al., 2010; Wolf et al., 2020; Wood et al., 2021) ou le nombre moyen d'individus testés positifs dans les élevages testés positifs uniquement (Fernández-Aguilar et al., 2016; Gache et al., 2017; Schimmer et al., 2011).

### V.3.2 Des tests et méthodes diagnostiques différents

Concernant les tests utilisés, même en se limitant aux études sérologiques, on dénombre l'utilisation d'au moins trois méthodes différentes, dans les études réalisées depuis 2010 :

- Un test de fixation du complément CTF (Ruiz-Fons et al., 2010) ;
- Un test d'immunofluorescence indirecte IFA (Wood et al., 2021) ;
- Trois tests ELISA :
  - o le test 1 (Fernández-Aguilar et al., 2016; Paul et al., 2014; Szymańska-Czerwińska et al., 2017; Wolf et al., 2020),
  - o le test 2 : (Anastácio et al., 2013; Rizzo et al., 2016; Ruiz-Fons et al., 2010; Schimmer et al., 2014, 2011),
  - o le test 3 : (Barlozzari et al., 2020; Galluzzo et al., 2019; Villari et al., 2018).

Ces tests mesurent des valeurs de séroprévalence intra- ou inter-élevage apparente (proportion d'individus ou d'élevages testés positifs) à partir de méthodes ayant des  $Se$  et  $Sp$  différentes. Lorsque ces séroprévalences apparentes sont interprétées comme des séroprévalences réelles, cela peut entraîner un biais dans leur estimation. Par exemple, la séroprévalence intra-élevage réelle sera probablement sous-estimée dans l'étude utilisant la méthode CFT, car cette méthode est peu sensible (OIE, 2018) et une proportion importante des individus réellement séropositifs seront testés négatifs.

### V.3.3 Prise en compte de l'incertitude diagnostique pour estimer une séroprévalence

Parmi ces études, cinq ont pris en compte l'incertitude diagnostique du test utilisé et fourni des estimations des séroprévalences réelles (proportion d'animaux réellement séropositifs) (Paul et al., 2014; Rizzo et al., 2016; Ruiz-Fons et al., 2010; Wolf et al., 2020; Wood et al., 2021). Toutefois, ces études considéraient des valeurs de  $Se$  et  $Sp$  distinctes en se basant sur des sources d'informations différentes. Par exemple, d'après les informations fournies par le fabricant, Ruiz-Fons et al., 2010, considéraient que le test 2 avait une  $Se$  de 100 % chez ovins, bovins et caprins, alors que Rizzo et al., 2016 considéraient qu'elle était de 88,8 % chez les ovins et de 91,6 % chez les caprins en se basant sur le dossier de validation du test 2 réalisé par l'Institut Vétérinaire Central des Pays-Bas.

De plus, ces études utilisent des méthodes d'estimation des séroprévalences réelles différentes soit en inférence fréquentiste, avec l'estimateur de proposé Rogan and Gladen, en 1978 et ses extensions (Rizzo et al., 2016; Ruiz-Fons et al., 2010; Wolf et al., 2020), soit en inférence bayésienne avec des modèles qui

tiennent compte de l'incertitude diagnostique (Paul et al., 2014; Wood et al., 2021).

Tous ces éléments rendent incomparables les résultats des différentes études sérologiques réalisées jusqu'à présent. En plus de souligner l'importance de disposer d'une estimation fiable des Se et Sp des tests utilisés, ce constat souligne également la nécessité d'une harmonisation des méthodes d'analyse et de prise en compte de l'incertitude diagnostique.

## VI. Annonce du plan de thèse

### VI.1. Contexte et données

#### VI.1.1 Dispositif de surveillance

En France, la première vaste enquête épidémiologique sur la fièvre Q chez les ruminants domestiques a été réalisée entre 2012 et 2015 dans le cadre du dispositif de surveillance de la fièvre Q. Elle a permis de collecter des prélèvements de sérum sur 9 972 bovins, 5 024 caprins et 7 632 ovins issus respectivement de 731, 349 et 522 élevages français (avec 10 à 15 prélèvements par élevage en fonction de la taille de chaque élevage (Gache et al., 2017)) sélectionnés de façon aléatoire dans 10 départements français. Ces échantillons de sérum ont été analysés avec le test 2 dans les laboratoires vétérinaires de chacun des 10 départements inclus. En l'absence de données relatives aux performances diagnostiques du test ELISA utilisé, ces données ont dans un premier temps été analysées en considérant que le test avait une sensibilité et spécificité parfaite (Gache et al., 2017).

#### VI.1.2 Projet KitEval 4500

Dans le cadre du projet KitEval 4500, une sérothèque, représentative de la diversité des élevages français, a été constituée par le LNR fièvre Q à partir d'un sous-panel d'échantillons de sérum issus de cette vaste enquête sérologique dans l'objectif, entre autres, d'évaluer les performances diagnostiques des trois kits ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii*. Dans chaque département et pour chaque espèce (en incluant tous les échantillons issus d'un même troupeau), les 150 premiers échantillons de sérum collectés dans le cadre du dispositif de surveillance de la fièvre Q ont été envoyés au LNR fièvre Q. Les échantillons de sérum de 1 413 bovins issus de 106 élevages, de 1 474 caprins issus de 103 élevages et de 1 432 ovins issus de 99 élevages ont alors été testés par le LNR fièvre Q avec les trois kits ELISA (tests 1, 2 et 3).

### VI.2. Objectifs des travaux

À partir des deux jeux de données décrits, les objectifs de nos travaux sont : (1) d'estimer les performances diagnostiques chez les bovins, ovins et caprins des trois tests ELISA commercialisés en Europe pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii* ; (2) d'estimer les séroprévalences intra- et inter-élevages réelles des infections par *C. burnetii* en France chez ces trois espèces de ruminants domestiques sur la base du test 2 en prenant en compte son incertitude diagnostique ; (3) de développer et mettre à disposition des utilisateurs une méthodologie pour interpréter de façon probabiliste les résultats des plans de dépistage sérologique des infections par *C. burnetii* en se basant sur les performances diagnostiques des tests ELISA et les séroprévalences intra- et inter-élevage estimées.

Le manuscrit est divisé en trois parties qui correspondent chacune à une étude visant à répondre à chacun des trois objectifs précités. Les résultats de chaque étude sont discutés dans la partie correspondante (Figure A-9).

L'intérêt des résultats obtenus dans les trois parties sera ensuite discuté dans une quatrième partie. Cette dernière présentera, de façon argumentée, les conséquences de l'incertitude diagnostique

associée aux trois tests ELISA et les préconisations d'utilisation de ces tests qui peuvent être faites à la fois à l'échelle individuelle et à l'échelle des troupeaux. Nous finirons par présenter les perspectives de ces travaux en lien avec d'autres valorisations possibles des données utilisées, des résultats obtenus et des méthodes développées.

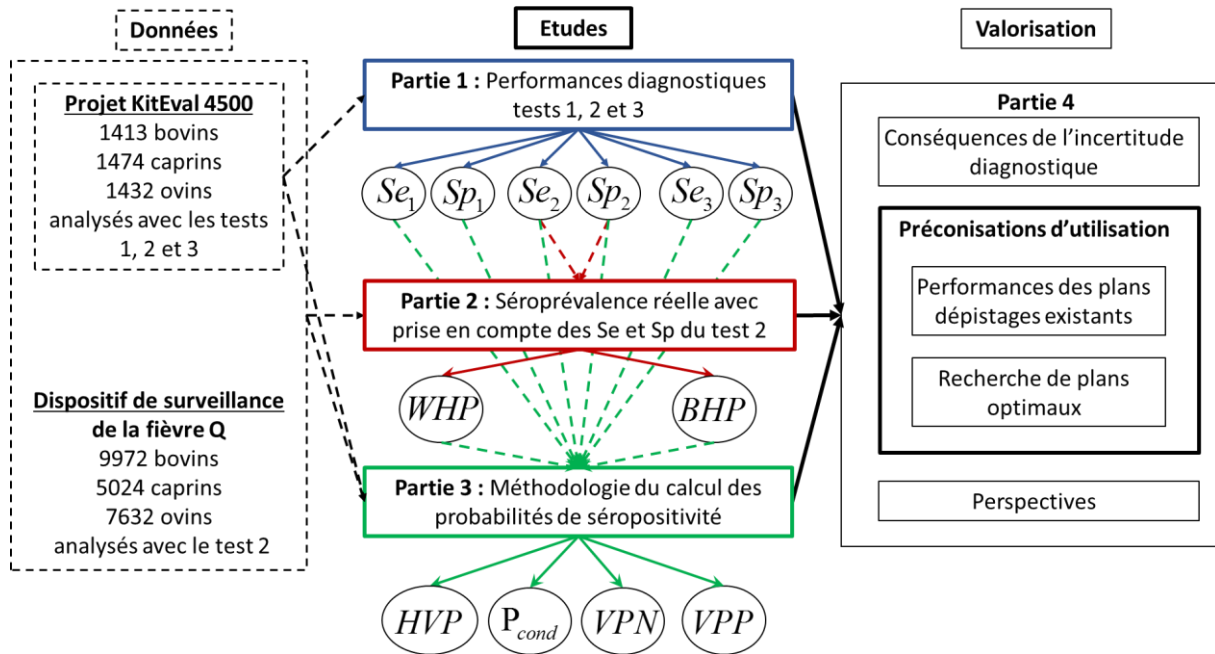


Figure A-9 : Données utilisées, estimations réalisées et valorisations présentées dans et à partir de chacune des trois études réalisées dans le cadre de ces travaux.

Les flèches représentent les données ou informations utilisées pour estimer les différents paramètres de chaque étude.  $Se$  : sensibilité,  $Sp$  : spécificité,  $WHP$  : séroprévalence intra-élevage réelle,  $BHP$  : séroprévalence inter-élevage réelle,  $HVP$  : valeur prédictive du plan de dépistage à l'échelle du troupeau,  $P_{cond}$  : séroprévalence intra-élevage réelle si l'élevage est séropositif estimée à partir des résultats du plan de dépistage réalisé dans l'élevage,  $VPN$  et  $VPP$  : valeurs prédictives négative et positive à l'échelle individuelle sachant les résultats du plan de dépistage.

**B. PARTIE 1 : ÉVALUATION DES PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES DES TESTS ELISA COMMERCIALISÉS POUR LE DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE DES INFECTIONS PAR *C. burnetii* PAR DES MODÈLES À CLASSES LATENTES**

---

## PRÉAMBULE

À partir des données du projet KitEval 4500 analysées avec les tests 1, 2 et 3 au LNR fièvre Q, l'objectif de cette étude est d'estimer les Se et Sp des trois tests chez chaque espèce de ruminants domestiques, en prenant en compte la dépendance conditionnelle entre les tests (Figure B-1).

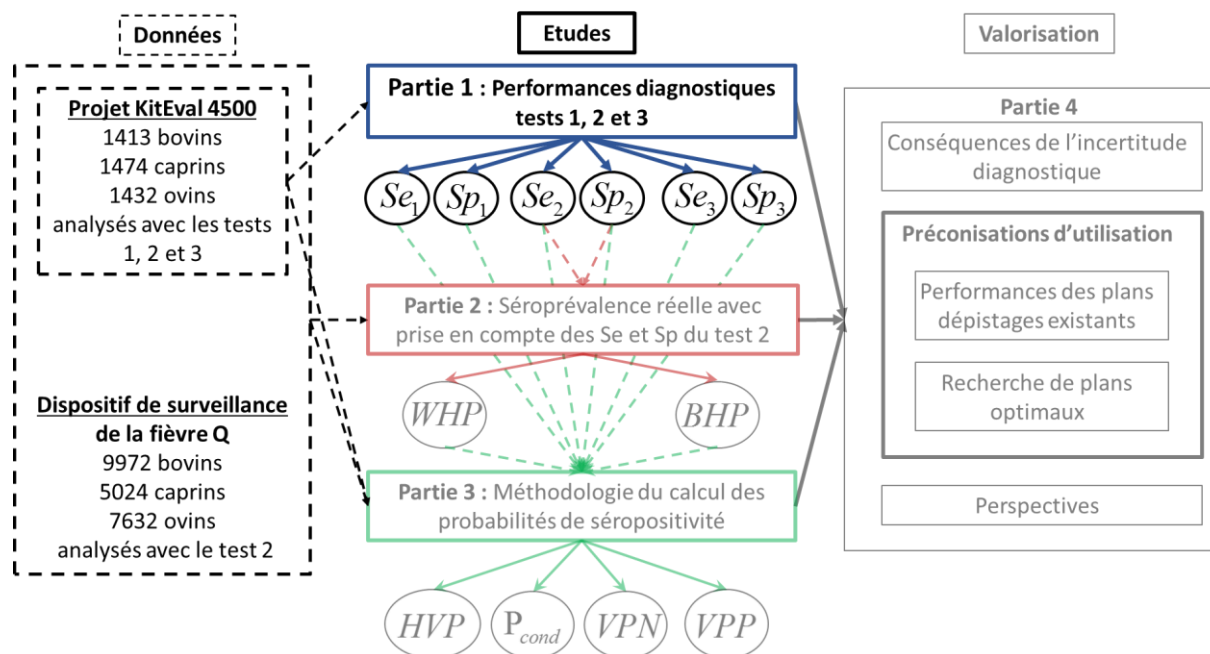


Figure B-1 : Données et informations utilisées pour estimer les séroprévalences intra- et inter-élevages des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques.

Se : Sensibilité, Sp : Spécificité, WHP : séroprévalence réelle intra-élevage, BHP : séroprévalence réelle inter-élevage.

Cette étude a fait l'objet d'une publication en 2021 dans la revue « Veterinary research » intitulée « Evaluation using latent class models of the diagnostic performances of three ELISA tests commercialized for the serological diagnosis of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants » (Figure B-2). Pour retranscrire fidèlement cet article, le texte de la partie 1 ci-dessous correspond à la version non éditée du manuscrit publié. La version éditée est accessible en suivant ce [lien](#).

Lurier et al. *Vet Res* (2021) 52:56  
<https://doi.org/10.1186/s13567-021-00926-w>



RESEARCH ARTICLE

Open Access

### Evaluation using latent class models of the diagnostic performances of three ELISA tests commercialized for the serological diagnosis of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants

Thibaut Lurier<sup>1,2,3\*</sup>, Elodie Rousset<sup>4</sup>, Patrick Gasqui<sup>1</sup>, Carole Sala<sup>5</sup>, Clément Claustre<sup>1</sup>, David Abrial<sup>1</sup>, Philippe Dufour<sup>4</sup>, Renée de Crémoux<sup>6</sup>, Kristel Gache<sup>7</sup>, Marie Laure Delignette-Muller<sup>8</sup>, Florence Ayrat<sup>2</sup> and Elsa Jourdain<sup>1</sup>

Figure B-2 : Capture d'écran de l'article publié dans la revue *Veterinary Research* correspondant à la partie 1 de la thèse (Lurier et al., 2021).

## I. Introduction

Q fever is a zoonotic disease, caused by the bacterium *Coxiella burnetii*, responsible annually for many infections in humans worldwide, although precise statistics are lacking. As examples, 193 and 794 confirmed human clinical cases were reported in the United States in 2017 (CDC, 2019) and in Europe in 2018, respectively (ECDC, 2019). Although most Q fever infections remain asymptomatic, the disease may be highly debilitating in certain risk groups and lead to chronic disease. Moreover, Q fever outbreaks occur regularly and involve substantial numbers of people. The record was observed in the Netherlands between 2007 and 2010 with more than 4000 human cases reported (van der Hoek et al., 2012).

In domestic ruminants, infected animals are often asymptomatic, but infection may cause late abortion, stillbirth, premature delivery or delivery of weak offspring. The European Food Safety Authority (EFSA) reported that 11% of tested goats and sheep, and 7.6% of tested cattle were positive for Q fever in 2018 in Europe (EFSA, 2019). However, the results obtained in different countries through various studies are difficult to compare because of differences in targeted populations, sampling strategies, types of samples analyzed, and diagnostic tests performed (EFSA, 2019). Harmonization of data collection is critical in order to obtain a more accurate picture of the situation and of its evolution over time.

As an example, in France, the latest study on the seroprevalence of *C. burnetii* infection in domestic ruminants was carried out from 2012 to 2015 in ten administrative departments on a total of 10 040 cows, 7776 ewes and 5246 goats sampled from 731 cattle, 522 sheep and 349 goat herds, respectively (Gache et al., 2017). The between-herd seroprevalence levels were assessed at 36.0% for cattle, 55.7% for sheep, and 61.0% for goat herds (Gache et al., 2017); these estimates were made assuming a sensitivity (Se) and a specificity (Sp) of 100% for the ELISA test used because reliable information about its diagnostic performances was lacking. This assumption may have led to over- or under- estimating the seroprevalence because false-positive and false-negative animals were not accounted for: knowledge of diagnostic test characteristics is crucial to build accurate monitoring systems (Greiner and Gardner, 2000b).

To date, no gold standard (i.e. a test with a Se and a Sp equal to 100%) is available for the serological diagnosis of *C. burnetii* infection in animals (OIE, 2018). Absence of a gold standard limits the assessment of diagnostic test characteristics on a representative sample of the target population, i.e., the population in which the tests are performed in practice, because individual true status of seropositivity or seronegativity is unknown. As a consequence, several studies have investigated the agreement between methods used for the serological diagnosis of *C. burnetii* infection without assessing their respective Se and Sp (Emery et al., 2012; Kittelberger et al., 2009; Krt, 2003; Niemczuk et al., 2014; Rousset et al., 2007; Stellfeld et al., 2020; Sting et al., 2013). In the absence of a gold standard test, latent class models (LCMs) (Hui and Walter, 1980) can be useful to assess the Se and Sp of multiple diagnostic tests without knowing the true status of the tested individuals. These models are based on the evaluation of the cross-classified test results of multiple binary tests in multiple populations. The quantitative measures of semi-quantitative tests such as ELISAs are generally included in these models as binary variables, considering the positivity threshold provided by manufacturers. LCMs rely on the hypothesis that diagnostic tests measure a common unobserved latent status, for example “the presence or absence of *C. burnetii*-specific antibodies in a serum sample”. In addition, the development of free software environments such as WinBUGS (Lunn et al., 2000) or JAGS (Plummer et al., 2016) facilitates the use of these models in the assessment of diagnostic tests for animal and human diseases (Collins and Huynh, 2014; Umemneku Chikere et al., 2019), including *C. burnetii* infection in domestic ruminants (Horigan et al., 2011; Lucchese et al., 2016; Muleme et al., 2016; Paul et al., 2013; Wood et al., 2019).

There are currently three commercially available ELISA tests to detect the presence of *C. burnetii*-specific antibodies in domestic ruminants. Because the antigens and conjugates used in these tests are not the same, the respective diagnostic performances are expected to vary depending on the test considered and the animal species. Five previous studies have used LCMs to investigate the diagnostic performances of these tests (Lucchese et al., 2016; Muleme et al., 2016; Paul et al., 2013; Wood et al., 2019),

considering either the three ELISA tests (Horigan et al., 2011), or two of them (Lucchese et al., 2016; Paul et al., 2013), or one ELISA test and another method such as indirect immunofluorescence assay (IFA) or complement fixation test (CFT) (Muleme et al., 2016; Wood et al., 2019)). In these studies, conditional dependence between tests was neglected (Horigan et al., 2011; Lucchese et al., 2016) or estimated at low values (Lucchese et al., 2016; Muleme et al., 2016; Paul et al., 2013; Wood et al., 2019). However, the assumption of conditional independence between tests is generally not satisfied when the considered tests rely on the same biological process. For example, diagnostic errors of two different ELISA methods detecting antibodies against *C. burnetii* are likely to be dependent for both truly seropositive and truly seronegative animals. In fact, an individual with a low level of circulating antibodies against *C. burnetii* will probably be false-negative with both ELISA methods; similarly, a false-positive result, due to the exposure of the animal to a bacterium presenting antigens that cross-react with *C. burnetii*, will probably occur with both serological tests.

Many approaches have been proposed to model conditional dependence between tests (Albert et al., 2001; Branscum et al., 2005; Dendukuri et al., 2009; Engel et al., 2006; Torrance-Rynard and Walter, 1997; Xu and Craig, 2009) but they are all confronted with identifiability issues. Moreover, models with different conditional dependence structures might lead to different Se and Sp estimates when applied to the same data (Albert and Dodd, 2004; Menten et al., 2008). Fixed effect models, which take into account excess probabilities of having a concordant result between each pair of tests, for truly seropositive and truly seronegative individuals, respectively are the most commonly used (Branscum et al., 2005; Collins and Huynh, 2014). However, when more than two tests are considered these models may be biased, particularly in the case of higher than pairwise conditional dependence structure (Engel et al., 2006; Wang et al., 2017b). In 2017, Wang et al. (Wang et al., 2017b) proposed a new fixed effect model, which made it possible to assess conditional dependence between multiple diagnostic tests (more than two), without restricting only to pairwise conditional dependence.

In this manuscript, we applied this method to model conditional dependence between the three ELISA tests routinely used to assess the serological status of *C. burnetii* infection in domestic ruminants in France. The objectives of the study were to (1) assess the respective Se and Sp of the tests in sheep, goats and cattle, (2) assess the between- and within-herd seroprevalence distribution in these species while accounting for diagnostic errors, and (3) estimate optimal sample sizes considering Se and Sp at the herd level.

## II. Materials and methods

### II.1. Materials

#### II.1.1 Data

Serum samples originated from the broader epidemiological study (referred to as the “original survey” in the following text) carried out between 2012 and 2015 (for details, see Gache et al. (Gache et al., 2017)); briefly, 11 to 15 parous females were sampled from a total of 731 cattle, 522 sheep and 349 goat herds, randomly selected in each species and administrative department of France, and excluding herds vaccinated against Q fever. During this study, the national reference laboratory for Q fever (NRL, ANSES, Sophia Antipolis) asked each department for their first 150 serum samples in each species, including complete series (i.e. all the serum samples from the same herd). Overall, serum samples from 1413 cows from 106 herds, 1474 goats from 103 herds, and 1432 sheep from 99 herds were considered (Tableau B-1). As only parous females were sampled, we defined the herd size as the number of parous females in the herd. For goat and sheep herds, it was given by the farmer and recorded by the veterinarian in charge of collecting blood samples. For cattle, the number of parous females at the sampling date was directly retrieved from the French National Cattle Identification Database (BDNI). When the herd size was missing (which was the case for two cattle herds, 34 goat herds, and 33 sheep herds), we imputed

this number with the median herd size in the corresponding species.

Tableau B-1 : Number of serum samples analyzed per herd and department.

Species	Number	Department										Total
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
Cattle	herds	10	12	11	13	12	12	10	12	13	1	106
	animals	143	157	150	181	155	161	155	150	152	9	1413
Goats	herds	11	11	12	12	11	9	11	1	12	13	103
	animals	154	161	201	175	152	134	146	11	153	187	1474
Sheep	herds	11	11	10	10	11	11	11	10	11	3	99
	animals	165	162	149	145	155	157	161	146	156	36	1432

### II.1.2 Serological tests

All serum samples were analyzed by the NRL with the three commercial ELISA tests available in France. To our knowledge, all three tests detect immunoglobulin G (IgG) and use antigens based on a mix of *C. burnetii* phase 1 and phase 2 variants. However, there are differences regarding the *C. burnetii* strains used for antigen preparation, the processes of strain production and purification, and the nature of the conjugate (see Tableau B-2 for details). Because all three tests are based on the same biological principle, they are likely to be conditionally dependent, i.e. to simultaneously result in diagnostic errors (for instance if cross-reacting antibodies are present in the serum of an animal, or if only few antibodies are present).

The assays were performed within an ISO/IEC 17025 accredited quality control system. In particular, the reproducibility and trueness of the results were assessed by including, in each test, two internal positive reference serum samples that displayed results close to the respective positivity cut-offs set by the test manufacturers (SCE1/2011-12, ANSES, Sophia Antipolis) (Rousset et al., 2017).

The results, expressed in optical density, were transformed into optical density ratios (ODRs) according to the manufacturers' instructions following formula (1.1) for tests 1 and 2, and formula (1.2) for test 3.

$$(1.1) ODR_{serum} = \frac{OD_{serum} - OD_{NC}}{OD_{PC} - OD_{NC}} \quad (1.2) ODR_{serum} = \frac{OD_{serum}}{OD_{PC}}$$

where  $ODR_{serum}$  is the optical density ratio of the tested serum,  $OD_{serum}$  is the optical density of the tested serum, and  $OD_{NC}$  and  $OD_{PC}$  are the optical density of the negative and positive controls included in the test, respectively.

We interpreted the results as positive or negative according to the positivity threshold provided by the manufacturer and considering a serum positive when the manufacturer included a doubtful interpretation (tests 1 and 3, Tableau B-2). The details of the cross-classified test results compiled by department in each species are provided in the appendix (Annexes partie 1,I).



Tableau B-2 : Characteristics of the three ELISA tests used in the study.

Name used in the current study	Test 1	Test 2	Test 3
Commercial name	IDEXX Q fever Ab test	LSIVet™ Ruminant Q fever Serum*	ID.Vet ID Screen® Q fever indirect multi-species
Manufacturer	IDEXX	LSI Life Technologies*	IDvet <sup>#</sup>
Kit batches used in the current study	D401, E121	ELISACOXLS 020, ELISACOXLS 021, ELISACOXLS 023, ELISACOXLS 024	565 747
Strain used for antigen production	Isolated from <i>Dermacentor andersoni</i> ticks (Nine Mile reference strain)	Isolated from an ewe	Isolated from a cow
Conjugate	Secondary antibodies binding to ruminant IgG	Protein G (binding to IgG of diverse mammalian species)	Protein G (binding to IgG of diverse mammalian species)
Interpretation rules according to the manufacturer (ODR: optical density ratio)	ODR < 30% ⇒ Negative 30 < ODR < 40% ⇒ Doubtful 40 < ODR ⇒ Positive	ODR < 40% ⇒ Negative 40 < ODR < 100% ⇒ Positive + 100 < ODR < 200% ⇒ Positive ++ 200 < ODR ⇒ Positive +++	ODR < 40% ⇒ Negative 40 < ODR < 50% ⇒ Doubtful 50 < ODR < 80% ⇒ Positive 80 < ODR ⇒ Strong positive

\* Test 2 is currently commercialized by ThermoFisher Scientific under the commercial name PrioCHECK™ Ruminant Q Fever Ab Plate Kit.

<sup>#</sup> IDVet is now named Innovative Diagnostics

## II.2. Statistical analysis

In this section, we describe the model according to the STARD BLCM guidelines (Kostoulas et al., 2017). The same model was independently run for each ruminant species. Computations were performed using JAGS software via the R package rjags (Plummer et al., 2016) (a corresponding R script is provided in the [online version of this article](#)).

We adapted the “three tests one population” LCM described by Wang et al. (Wang et al., 2017b) to build a “three tests multiple populations” LCM, with each herd being considered a population. Thereby, we were able to model the variability of the within-herd seroprevalence (*WHP*) using a hierarchical zero-inflated beta-binomial distribution (Hanson et al., 2003; Lee and Lio, 1999; Lee and Sabavala, 1987). The directed acyclic graph of the model is presented in Figure B-3.

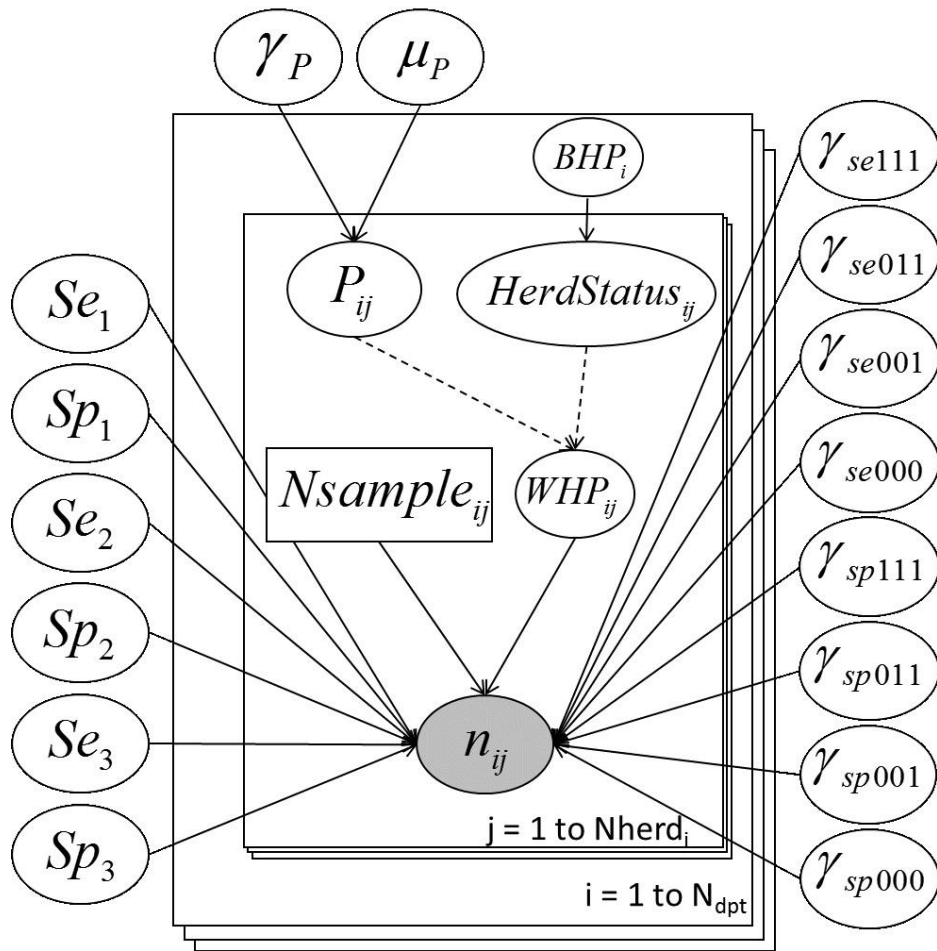


Figure B-3 : Directed Acyclic Graph of the latent class model.

Every node is, if necessary, indexed by the department number ( $i \in [1; N_{dpt}]$ ) and the herd number ( $j \in [1; N_{herd}_i]$ ). Plain arrows represent stochastic links and dotted arrows represent deterministic links. Observed data (grey oval) include  $n_{ij}$ , which is a vector of eight dimensions corresponding to the number of animals in each of the eight combinations of the three tests results. Measured covariables include  $Nsample_{ij}$  the number of animals sampled in the  $j^{th}$  herd of the  $i^{th}$  department. Latent variables (white ovals) include the within-herd prevalence ( $WHP_{ij}$ ), the herd latent status of each herd ( $Herdstatus_{ij}$ ) and  $P_{ij}$  the conditional true prevalence (in positive herds only). Unknown parameters (white ovals) include the Se and Sp values of the three ELISA tests, the conditional dependence terms (modelled according to Wang et al. (Wang et al., 2017b)), the between-herd prevalence ( $BHP_i$ ) in each department, and the hyper-parameters of the within-herd prevalence beta distribution ( $\gamma_P$  and  $\mu_P$ ).

### II.2.1 Latent status and hierarchical structure of the model

The individual latent status of an animal was defined as “the presence or absence of *C. burnetii*-specific antibodies in a serum sample”, later referred to as truly seropositive or truly seronegative. The within-herd seroprevalence, noted  $WHP_{ij}$ , was defined as the proportion of animals having a positive latent status (i.e. the proportion of truly seropositive animals) in the  $J$ <sup>th</sup> herd from the  $i$ <sup>th</sup> department. The herd latent status (noted  $HerdStatus_{ij}$ ) is a binary variable defined as ‘negative’ (equal to zero) if the within-herd seroprevalence is null and as ‘positive’ (equal to 1) otherwise. The proportion of herds with a positive latent status in the  $i$ <sup>th</sup> department was defined as the between-herd seroprevalence (noted  $BHP_i$ ). We assumed that  $WHP_{ij}$  followed a zero-inflated beta distribution conditionally to the herd status and to  $P_{ij}$  the conditional true seroprevalence in positive herds (McAloon et al., 2016; Pozzato et al., 2011; Verdugo et al., 2015). We chose a zero-inflated beta distribution to model the  $WHP_{ij}$  to reflect that some herds were free of *C. burnetii* infection.

$$\begin{aligned} HerdStatus_{ij} &\sim Bern(BHP_i) \\ P_{ij} &\sim beta\left(\mu_p \times \frac{(1-\gamma_p)}{\gamma_p}, (1-\mu_p) \times \frac{(1-\gamma_p)}{\gamma_p}\right) \\ (1.3) \quad WHP_{ij} &= HerdStatus_{ij} \times P_{ij} \end{aligned}$$

The beta distribution of  $P_{ij}$  was reparametrized in mean ( $\mu_p$ ) and precision ( $\gamma_p$ ) to facilitate the interpretation of its parameters (Hanson et al., 2003; Lee and Lio, 1999; Lee and Sabavala, 1987). In each herd, the beta distribution of the within-herd seroprevalence was truncated so that  $P_{ij}$  was equal to or greater than the ratio 1/herd size.

### II.2.2 Conditional dependence between the three tests

We applied the fixed effect model developed by Wang et al. (Wang et al., 2017b), in which the conditional dependence between the three tests is considered with eight conditional dependence terms ( $\gamma_{se111}, \gamma_{se011}, \gamma_{se001}, \gamma_{se000}, \gamma_{sp111}, \gamma_{sp011}, \gamma_{sp001}$  and  $\gamma_{sp000}$ ). Each of these terms models the excess (or lack) of probability, compared to the expected probability under the assumption of conditional independence between tests, for a truly seropositive or seronegative individual to have a cross-classified test result in the corresponding category (for example “negative to test 1 while positive to tests 2 and 3” for  $\gamma_{se011}$  and  $\gamma_{sp011}$ ). The conditional dependence terms between each pair of tests was then calculated as in equations 2 and 3 (Wang et al., 2017b):

$$\begin{aligned} \gamma_{SpT1T2} &= \gamma_{Sp111} + \gamma_{Sp110} & \gamma_{SeT1T2} &= \gamma_{Se111} + \gamma_{Se110} \\ (1.4) \quad \gamma_{SpT1T3} &= \gamma_{Sp111} + \gamma_{Sp101} \quad \text{and} \quad (1.5) \quad \gamma_{SeT1T3} &= \gamma_{Se111} + \gamma_{Se101} \\ \gamma_{SpT2T3} &= \gamma_{Sp111} + \gamma_{Sp011} & \gamma_{SeT2T3} &= \gamma_{Se111} + \gamma_{Se011} \end{aligned}$$

With  $\gamma_{SpT_kT_l}$  and  $\gamma_{SeT_kT_l}$  the pairwise conditional dependence terms between tests  $k$  and  $l$  for truly seronegative and truly seropositive animals, respectively.

### II.2.3 Number of individuals in each category of the cross-classified test results

$n_{ij}$  is a vector of eight dimensions corresponding to the number of animals in each of the eight possible categories of cross-classified test results from the  $J^{\text{th}}$  herd in the  $i^{\text{th}}$  department.  $n_{ij}$  follows a multinomial distribution of size  $N_{\text{sample}_{ij}}$  (number of sampled animals in the herd) and whose probability depends on (1) the within-herd seroprevalence, (2) Se of the three tests, (3) Sp of the three tests, and (4) conditional dependence terms. To ensure that all conditional probabilities were included in the  $[0;1]$  interval, the same inequality constraints as proposed by Wang et al. (Wang et al., 2017b) were implemented in JAGS with the D-interval distribution. With this aim, for each constrained parameter, a fictive observed variable was created to specify that these parameters were included in their respective definition intervals (the likelihood of the considered parameters is set to 0 otherwise, see JAGS user manual for details (Plummer et al., 2016)). We also constrained Se estimates to be greater than the complement of the respective Sp estimates ( $Se \in [1 - Sp; 1]$ ) to avoid unidentifiability issues related to the existence of a mirror image with the same likelihood (i.e., when the model switches the labels of truly positive and truly negative results) (Engel et al., 2006). We provide the complete specifications of the model in Annexes partie 1, II.

### II.2.4 Constant accuracy across populations

Because constant accuracy across all populations is one of the main hypotheses of the LCM, we checked that this assumption was fulfilled, considering independently each ruminant species. For cattle, this assumption was obviously not satisfied in all cattle herds: we observed 37 (23%) cows in the category  $T_1^+ T_2^- T_3^-$  (i.e., positive with test 1 and negative with the other tests) in the G department, while there were only 6 cows at most (0 to 3%) in this category in other departments (see (Annexes partie 1.I)); therefore, for cattle only, we made the choice to run the model on the one hand in all departments but G, and on the other in department G alone. Then, to check whether the assumption of constant accuracy across each population was valid for sheep and goats, and for cattle considering the nine remaining departments, we ran models independently in each department, using the posterior distributions of the complete model (i.e., the model considering departments altogether) as priors. These priors ensured that the models converged even in departments with a low within-herd variability (especially those in which most herds are either seropositive or seronegative, in which case Sp or Se, respectively are unidentifiable). Then, we graphically compared the Se and Sp estimates of the complete models with those obtained from the models considering each department separately.

### II.2.5 Prior distributions

Vaguely informative priors were assigned to each parameter allowing variation within a realistic range and forcing probability parameters ( $Se$ ,  $Sp$ , and  $BHP_i$ ) ranging from 0 and 1 (Tableau B-3). A Cauchy distribution, with 2.5 and 97.5 percentiles fixed at -0.5 and 0.5, respectively (calibrated with the SHELF package in R), was used as a prior for all conditional dependence terms in the model (Tableau B-3). This prior supported posterior estimates with relatively low conditional dependence values (since the Cauchy distribution is centred and relatively peaked at 0), while also allowing the model to converge toward other posteriors when conditional terms were relatively high, since the Cauchy distribution has long distribution tails (Gelman et al., 2008). To assess the impact of choosing Cauchy prior distribution (instead of uniform prior distribution as suggested by Wang et al. (Wang et al., 2017b)), we performed a sensitivity analysis by re-running the models with uniform distributions between -0.5 and 0.5 as the prior for all conditional dependence terms.

Tableau B-3 : Prior distribution of unknown parameters

Nodes	Prior
$\mu_P, \gamma_P, BHP_i$	beta(0.5,0.5)
$Se_1, Se_2, Se_3, Sp_1, Sp_2, Sp_3$	beta(0.5,0.5)
$\gamma_{Se\dots} \gamma_{Sp\dots}$	Cauchy(0,0.039)

Monte Carlo Markov Chain (MCMC) techniques were used to estimate the full joint posterior distribution of parameters from prior distributions and data. Three independent MCMC chains were run in parallel. For each chain, 110 000 samples were produced: the first 10 000 were discarded as burn-in; the remaining 100 000 samples were thinned by selecting one out of 20 samples to deal with autocorrelation, thus retaining 5000 samples per chain. For each parameter, a point estimate was defined as the median of its marginal posterior distribution and a 95% credible interval was defined by the 2.5 and 97.5 percentiles of this marginal distribution. The convergence was checked again by displaying MCMC chain traces and autocorrelation plots, and by computing the Gelman and Rubin's statistics, as modified by Brooks and Gelman (Brooks and Gelman, 1998). To compare prior and posterior distributions, 15 000 samples of the full joint prior distributions were obtained for each species by running the model, considering that no animal was sampled. Prior vs posterior density plots and overlaps between both distributions were plotted and calculated with the MCMCvis R package (Youngflesh, 2018).

Finally, we used the joint posterior distribution to represent the distribution of the within-herd seroprevalence in each species and to compute posterior distributions of herd sensitivities and herd specificities for each of the three tests. All calculations were performed on all the 15 000 joint MCMC samples from the posterior distribution, allowing us to obtain 15 000 estimations of all the parameters of interest.

#### II.2.6 Accuracy of the model

The accuracy of the LCM when used to assess the respective Se and Sp of the three diagnostic tests, in a similar context to the current study, was checked by simulation. We defined five plausible scenarios considering various ranges of Se, Sp and conditional dependence values: 1) "original", 2) "High Se, High Sp and conditional independence", 3) "High Se, original Sp and low conditional dependence", 4) "Low Se, original Sp and conditional dependence", and 5) "Low Sp for test 3 only". For each scenario and species, we generated 100 random datasets, which were analyzed by the LCM of the current study considering two alternative prior distributions for conditional dependence terms (either a *Cauchy*(0,0.039) or a *Unif*(-0.5,0.5)). We graphically assessed the accuracy of the Se and Sp estimators, and we calculated the mean bias, coverage probability, and square root of the quadratic error mean corresponding to all parameters obtained with both models, for each scenario and species. Details are provided in Annexes partie 1..III.)

#### II.2.7 Estimation of within-herd seroprevalence distribution

To represent the distribution of within-herd seroprevalence values in each species, we calculated the posterior distribution of 101 percentiles (from 0 to 1 by 0.01) from the corresponding beta distribution. Then, we plotted the cumulative distribution function and its 95% credibility band, by plotting the median and the 2.5 and 97.5 percentiles, respectively of the posterior distribution of each percentile.

### II.2.8 Herd sensitivities and specificities

Herd sensitivity (HSe) was defined as the probability that at least one animal is positive to the considered test in a seropositive herd, and herd specificity (HSp) as the probability that all animals are negative to the considered test in a seronegative herd. Details and justification about the procedure used to assess HSe and HSp are provided in Annexes partie 1.IV . Briefly, we assumed that the number of animals positive to a test in a herd (noted  $N_{pos_{herd}}$ ) follows a binomial distribution of size  $N_{herd}$  (the number of animals in the herd) and of probability ( $WHP \times Se + (1 - WHP) \times (1 - Sp)$ ), where  $WHP$  is the expected seroprevalence in the herd). Because WHP is generally not known in advance when preparing a sample plan, we calculated HSe and HSp values corresponding to a weighted integral of HSe and HSp values across the whole distribution of  $WHP$  in each species. We assumed that the number of positive animals sampled ( $N_{pos}$ ) follows a hypergeometric distribution (Gautam et al., 2019) of parameters  $N_{herd}$ ,  $N_{sample}$ ,  $N_{pos_{herd}}$ , where  $N_{pos_{herd}}$  is the number of potential positive animals to the test in the herd,  $N_{sample}$  is the number of animals sampled in the herd, and  $N_{herd}$  is fixed as the median of the herd size (i.e., the total number of parous females) in each species (i.e., 57 for cattle, 120 for goat, 146 for sheep). We first calculated Hse and HSp for a sample size ranging from 1 to 20 animals sampled per herd and considering the herd positive if at least one animal tested positive. We then determined the best sample size for each test and species by maximizing the Youden Index (i.e., the sum of the Hse and HSp) for each sample size (Youden, 1950).

## III. Results

The point estimates and 95% credibility intervals of all parameters are available in Annexes partie 1.V. Trace plots, prior vs posterior density plots, and Gelman and Rubin's statistics of all parameters for each species indicate the good convergence of the models and show that posteriors overlap with less than 30% of prior distributions for most of the parameters (see Additional file 2 for details in the [online version of this article](#)).

### III.1. Validation of the hypothesis of constant accuracy across populations

The results of the *models run independently* in each department are available in Annexes partie 1,II The Se and Sp estimates in all departments (except department G for cattle) were included within the 95% credibility intervals of the corresponding global model (including all departments but G). Therefore, we assumed that the hypothesis of constant accuracy across populations was valid when excluding cattle herds of department G.

### III.2. Sensitivity and specificity estimates at the individual level

Se and Sp estimates for the three tests in each animal species according to the global model are shown in Tableau B-4 and in Figure B-4. According to the global model, the three tests were highly specific, with Sp estimates ranging from 94.8% [92.1; 97.8] for test 3 in cattle to 99.2% [98.5; 99.7] for test 1 in sheep. The Sp of test 1 was estimated at 75% [67.6; 86.0] in department G (according to the model run for department G only) and 95.9% [94.2; 97.7] in the other departments (according to the global model based on all departments but G; see Annexes partie 1.V. 1 for details). Conversely, Se estimates were low, especially for tests 1 and 2 in sheep, with Se values under or close to 50% (39.3% [30.7; 47.0] and 53.8% [43.3; 61.8], respectively). Test 3 was the most sensitive in all species but it was also the least specific. Test 2 was the most specific in cattle and was more sensitive than test 1 in goats and sheep. Test 1 was the most specific in sheep and was slightly more sensitive than test 2 in cattle.

Tableau B-4 : Se and Sp estimates of the three tests in each species with their 95% credible intervals (in square brackets) according to the global model.

Species	Test	Sensitivity Median [95% credible interval]	Specificity Median [95% credible interval]
Cattle	Test 1	0.720 [0.618;0.808]	0.959 [0.942;0.977]*
	Test 2	0.619 [0.517;0.718]	0.975 [0.962;0.987]
	Test 3	0.890 [0.785;0.941]	0.948 [0.921;0.978]
Goats	Test 1	0.592 [0.535;0.641]	0.991 [0.982;0.997]
	Test 2	0.752 [0.684;0.799]	0.991 [0.981;0.997]
	Test 3	0.905 [0.833;0.938]	0.960 [0.937;0.976]
Sheep	Test 1	0.393 [0.307;0.470]	0.992 [0.985;0.997]
	Test 2	0.538 [0.433;0.618]	0.984 [0.974;0.993]
	Test 3	0.869 [0.712;0.936]	0.985 [0.973;0.994]

\*Sp of test 1 in cattle is lower (0.750 [0.676; 0.860]) when considering only data from department G.

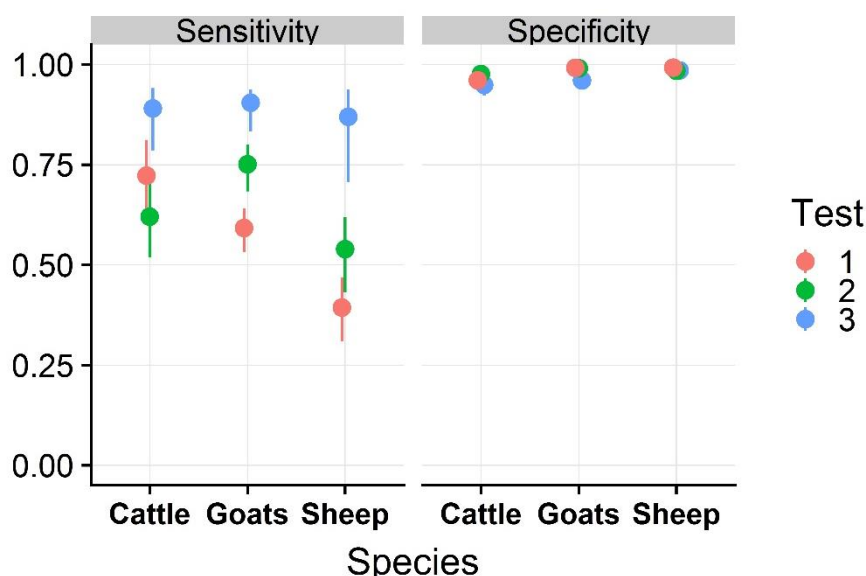


Figure B-4 : Posterior estimates of the Se and Sp (according to the global model) for the three tests in each species.

Points represent point estimates and plain lines 95% credibility intervals. The Sp of test 1 in cattle is lower (0.750 [0.676; 0.860]) when considering only data from department G.

The conditional dependence estimates for truly seropositive and seronegative animals between each pair of tests are shown in Figure B-5. Conditional dependence for truly seropositive animals between tests 1 and 2 was high in all species: in fact, the probability for a cow (a sheep or a goat, respectively) to be false-negative with test 1, knowing that it is already false-negative with test 2, varied from 72.3% (39.5% or 59%, respectively) under the assumption of conditional independence to 98% (67.5% or 74%, respectively) under the assumption of conditional dependence. Conversely, conditional dependence between tests 1 and 3 and between tests 2 and 3 was lower and 95% credibility intervals included zero. Conditional dependence for truly seronegative cattle, sheep and goats was low but strictly positive for all pairs of tests. Additionally, all 95% credibility intervals were strictly positive: for example, the probability for a goat to be false-positive with test 1, knowing that it is already false-positive with test 2 (or with test 3), varied from 0.9% under the assumption of conditional independence to 39.3% (or 14.3%) under the assumption of conditional dependence.

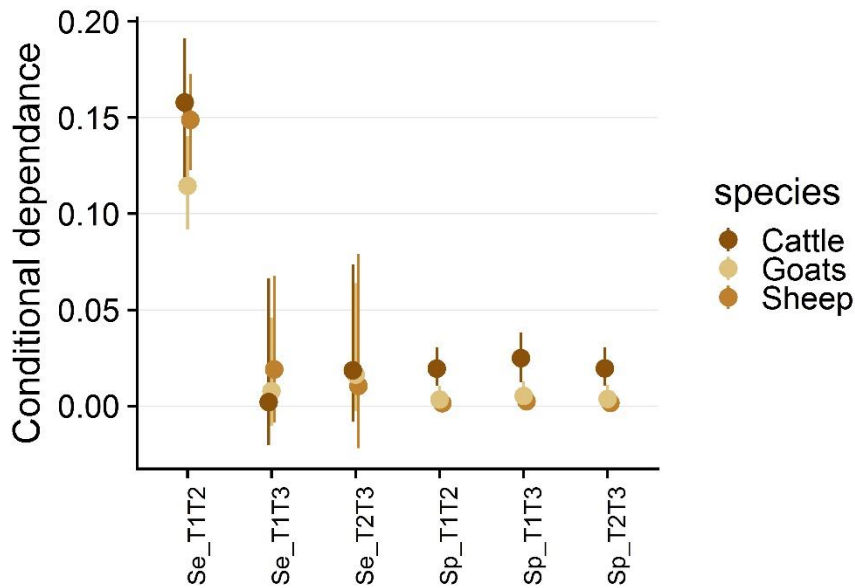


Figure B-5 : Point estimates (dot) and 95% credibility intervals (lines) of the pairwise conditional dependence terms between each pair of tests in each species.

$\gamma_{SeT_kT_l}$  noted  $Se\_TkTl$  for truly seropositive animals and  $\gamma_{SpT_kT_l}$  noted  $Sp\_TkTl$  for truly seronegative animals,  $k, l \in \{1, 2, 3\}$ .

### III.3. Between- and within-herd seroprevalence accounting for diagnostic errors

The between-herd seroprevalence estimates varied among departments for all species (Figure B-6): some departments had few seropositive herds whereas others had almost all herds seropositive for one or multiple species. Interestingly, in seven of the ten departments, between-herd seroprevalence estimates were in a similar range for sheep and goats, whereas they differed for cattle.

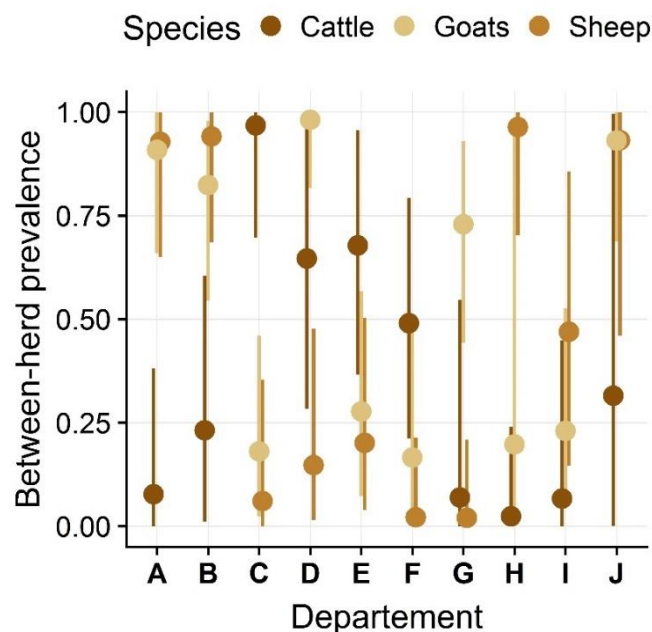


Figure B-6 : Posterior estimates of the between-herd seroprevalence for each department and species. Dots represent point estimates and plain lines their 95% credibility intervals. The between-herd seroprevalence shown for department G was estimated with the model ran only with herds from this department (see text and Annexes partie 1.V. for details).



The distributions of within-herd seroprevalence values (Figure B-7) were wide in each species and tended to be higher in seropositive goat herds (with a median of 72.6% [62.1; 88.8]) than in cattle (47.3% [34.8; 63.7]) and sheep (41.9% [31.9; 56.1]) herds. The proportion of herds with a within-herd seroprevalence below 20% was also lower for goats (4.4% [0.7; 11.9]) than for cattle (14.5% [3.1; 28.8]) and for sheep (17.4% [6.3; 31.2]). Furthermore, 5% of seropositive herds had a seroprevalence below 21.0% [8.8; 36.2] for goats, while they had a seroprevalence below 10.0% [3.3; 23.7] for cattle, and below 9.0% [3.1; 18.3] for sheep. The proportion of herds displaying a high within-herd seroprevalence was also high for goats, as compared to the other species: 38.9% [25.2; 61.5] of seropositive goat herds had a within-herd seroprevalence above 80%, while this proportion was only 10.3% [2.4; 29.3] in cattle herds and 6.0% [1.0; 21.0] in sheep herds. Additionally, 95% of seropositive herds had a within-herd seroprevalence below 98% [93.8; 99.9] for goats, while it was below 86.7% [74.4%; 97.4] for cattle and 82% [69%; 94.5] for sheep.

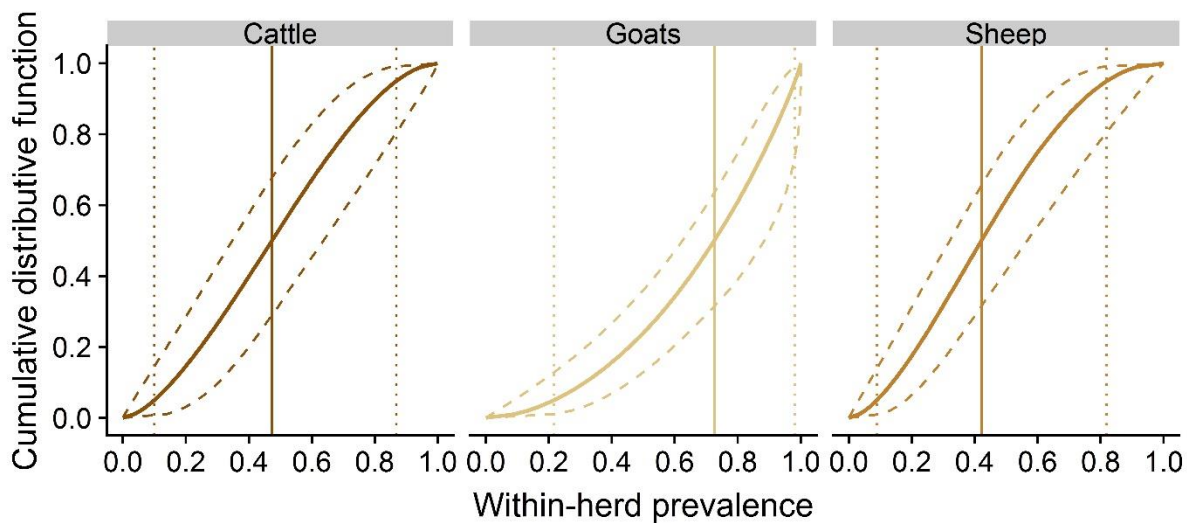


Figure B-7 : Predicted cumulative distribution functions of the within-herd seroprevalence in seropositive herds for each species.

Plain and dashed lines represent the median and the 95% credible intervals of the predicted quantiles, respectively. Vertical plain and dotted lines highlight point estimates of the median, 5th and 95th percentiles of the predicted distribution of the within-herd seroprevalence.

#### III.4. Optimal sample size accounting for herd sensitivity and specificity

HSe values rapidly increased with the sample size, while HSp values decreased, as expected when considering a herd seropositive if at least one animal tests positive (Figure B-8). Using a similar sample size, test 3 was the test with the highest HSe but also the lowest HSp. The optimal sample size for maximizing both HSe and HSp varied depending on the test and animal species considered (e.g., the point estimate was 3 animals in goat herds for test 3 and at least 20 animals in sheep herds for test 1).

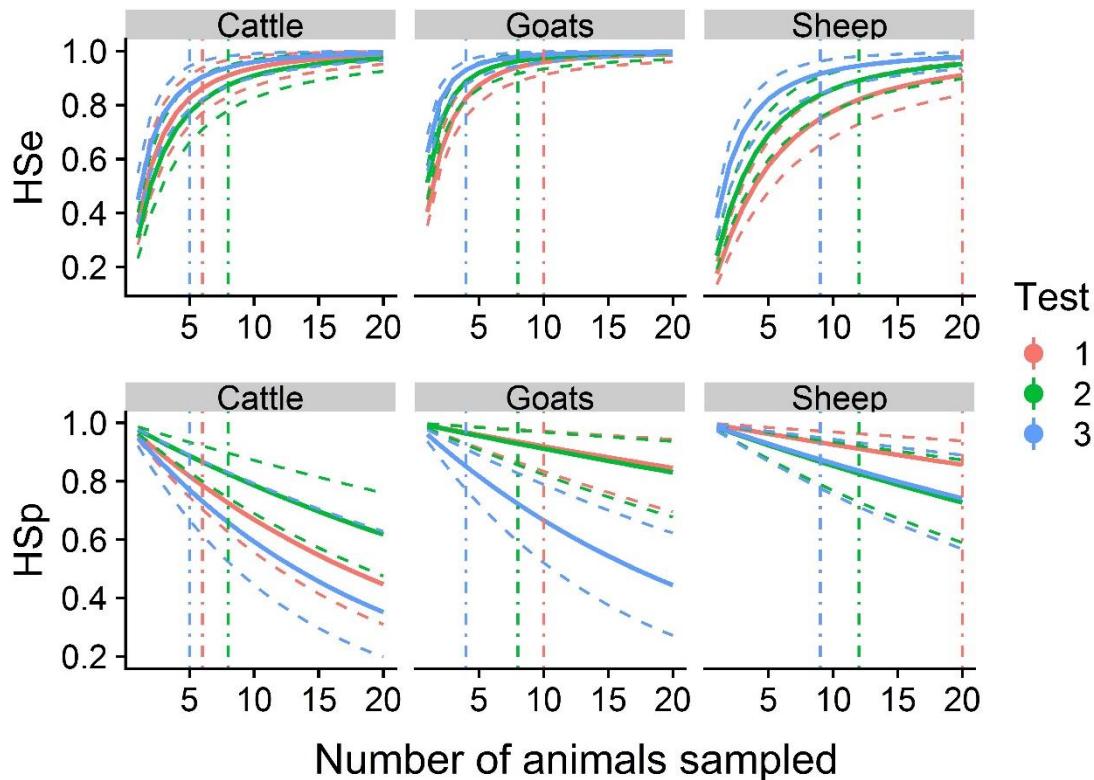


Figure B-8 : Posterior estimates of the herd sensitivities (HSe: probability that at least one animal is positive to the test in a seropositive herd) and specificities (HSp: probability that all animals are negative to the test in a seronegative herd) of the three tests for each species.

The sample size per herd varies from 1 to 20 animals. HSe and HSp were integrated across the whole distribution of the within-herd seroprevalence in each species. Plain and dotted lines represent the median and the 95% credible interval of each parameter. Dot dashed vertical lines represent the optimal sample size (maximizing the Youden Index) for each test and species. All lines are colored in red, green and blue, respectively for tests 1, 2 and 3.

### III.5. Accuracy of the model

#### III.5.1 Comparison of Cauchy and uniform prior distributions

Point estimates of conditional dependence terms obtained with Cauchy prior distribution (hereafter named Cauchy model) were generally closer to the true value used to generate the datasets than point estimates obtained with uniform prior distribution (hereafter named uniform model) (Figures 3, 4 and 5 of Annexes partie 1.III.2). The Cauchy model presented a lower negative mean bias and a higher coverage probability than the uniform model for all Se and Sp estimators in cattle and goats for all scenarios (except scenario 4), and in sheep for scenarios 2 and 3 (Table 6 and 8 of in Annexes partie 1.III.2). The square roots of the quadratic error means of Se and Sp estimators of both models were low; they were lower for the Cauchy model in all scenarios (except scenario 4) in cattle and goats, and for scenarios 2 and 3 in sheep (Table 7 and 9 of in Annexes partie 1.III.2).

#### III.5.2 Accuracy of the latent class model retained in the current study

Point estimates of the Se and Sp values assessed in cattle and goats were generally close and centered on the true values used to generate the datasets, while they were generally less than their respective true values in sheep (Figures 3, 4 and 5 of Annexes partie 1.III.2). The overall mean of the mean bias for Se and Sp estimators ranged between -0.0089 and -0.0028 across all scenarios for goats, between -0.0298 and -0.0102 for sheep, and between -0.0183 and -0.0025 for cattle (Table 6 of Annexes partie 1.III.2). The mean coverage probability considering all Se and Sp estimators ranged between 0.805 and

0.948 across all scenarios for goats, between 0.790 and 0.931 for sheep, and between 0.878 and 0.970 for cattle, respectively (Table 7, Annexes partie 1.III.2). Although point estimates of Se in sheep seemed biased and might underestimate the Se of the test from -0.0113 to -0.0983, 95% credible intervals contained the true value used to generate the dataset in more than 90% of cases.

### III.5.3 Sensitivity analysis

Posterior estimates obtained when considering uniform prior distribution for conditional dependence terms (see Annexes partie 1.VI) were very close to those obtained with Cauchy prior distribution, with a difference of less than 0.5% for Se estimates in sheep (less than 1.4% and 3.6% in goats and cattle respectively), and a difference of less than 0.1% for Sp estimates in sheep (less than 0.1% and 0.4% in goats and cattle respectively).

## IV. Discussion

According to both the World Organisation for Animal Health (OIE) and EFSA, ELISA methods are the reference tests for the serological diagnosis of *C. burnetii* infection in animals (OIE, 2018; Sidi-Boumedine et al., 2010). Nevertheless, in the absence of a gold standard, these tests are not well characterized and interpretation of their results at the individual and herd levels can be biased.

We used LCMs to assess the diagnostic performances of the three commonly used ELISA tests at the respective positivity or doubtful thresholds provided by their manufacturers. Our results allow for better interpretation of these tests and are essential to optimize their implementation as part of epidemiological studies.

Overall, when all hypotheses are verified, the estimation of diagnostic performances from LCMs is less biased than when it is based on an imperfect reference test or on samples of “known-status”. Importantly, using an imperfect gold standard leads to the assessment of relative Se and Sp values (Collins and Huynh, 2014; Kostoulas et al., 2017; Umemneku Chikere et al., 2019). Moreover, unlike studies based on samples of ‘known-status’, LCMs can be used to analyze data collected from the target population in which the diagnostic tests are to be applied in practice (i.e., a population for which the true individual status remains unknown).

### IV.1. Applicability of the data

The animals tested in this study constitute a subsample of a former survey, in which herds were randomly selected within ten French departments (Gache et al., 2017). This subsample was not strictly random since we used the serum samples collected from the first 10 to 13 herds sampled by veterinarians in each department, which are 14.5%, 29.5% and 17.3% of the cattle, goat and sheep herds from the original survey, respectively. For this reason, a sampling bias could not be entirely ruled out: for instance, we may hypothesize that the earliest sampled herds were more likely to have reproductive disorders and/or to belong to farmers with a greater interest to search for *C. burnetii* infection (i.e. farmers with previous experience of Q fever abortions in their herd). Although the potential bias induced by this sampling procedure may have a minor impact on within- or between-herd seroprevalence estimates in each department, it is unlikely to impact the estimations of the tests’ diagnostic performances.

Given the origin of these data, the diagnostic performance estimates obtained in this study are essentially relevant to plan or analyze the results of epidemiological studies dealing with screening or active monitoring data. For the clinical diagnosis of Q fever, the current recommendations are to perform a group diagnosis (at the herd scale) and to use serology as a complement to PCR direct diagnosis (Sidi-Boumedine et al., 2010). However, our data were not specifically collected from herds with reproductive disorders such as series of abortions (i.e., herds with a clinical suspicion of Q fever),

and we cannot ascertain whether diagnostic performances of the three ELISA tests are similar in this context. For example, in herds suspected of clinical Q fever, Se might be higher if most animals that suffer from acute infection display high antibody titers or, conversely, lower if they have not yet seroconverted. Therefore, the Se and Sp values estimated in our study are *a priori* not optimal for use when the tests are performed for diagnostic purposes in an abortive context.

#### IV.2. Definition of the latent status

The latent status is unobserved. It is only assessed by the model as a computer-based consensus between tests and it must be cautiously interpreted. The LCMs were run with data resulting from three ELISA tests that all detect circulating antibodies against *C. burnetii*. Thus, we assumed that the latent status modelled corresponds to “the presence or absence of *C. burnetii*-specific antibodies in a serum sample”: the Se and Sp estimates therefore correspond to the diagnostic performances of these ELISA tests to detect truly seropositive or truly seronegative animals. As previously mentioned in the paragraph about the applicability of the data, the latent status modelled does not (and cannot be extrapolated to) identify animals vaccinated against Q fever or establishing animal freedom from infection or defining *C. burnetii* shedding status or attributing abortions to *C. burnetii*. Clearly, defining a *C. burnetii* infection status is complex and requires specific sampling strategies that need to be interpreted in the context of each herd history (abortions, vaccination, movement and introduction, etc.)(OIE, 2018).

#### IV.3. Constant accuracy across populations

The hypothesis of constant accuracy across the populations was overall satisfied at the scale of the department, except for test 1 performed in cattle sampled from department G. Therefore, we considered that the variations of diagnostic performances across populations were negligible, excluding cattle herds from department G.

The proportion of cows positive to test 1 and negative to tests 2 and 3 was higher in department G. The model considered these cows as false-positive due to lower Sp of test 1 in cattle in this area (Annexes partie 1.V). This result is consistent with the fact that abortions were rarely attributed to *C. burnetii* in this department for at least the past decade, according to the quantitative PCR results obtained by the veterinary laboratory responsible for the diagnosis of abortions in this area. These false-positive cows were sampled from several herds (9 out of the 10 herds sampled in this department). We were not able to identify any specific factor (i.e., age, parity, geographic area) associated with this result. We also discarded the hypothesis of a technical issue at the laboratories because positive and negative controls of each ELISA fulfil the validity criteria defined by the manufacturer. We also discarded a batch effect of test 1: although all cattle from department G were tested with a same batch of test 1, this batch was also used for other species and departments.

Overall, these results point out a potential lack of Sp of test 1 in some epidemiological contexts, at least when applied to cattle. This lack of Sp might be related to the antigen preparation of this test, based on the tick-isolated Nine Mile reference strain: we may hypothesize that this antigen cross-reacts with antibodies against other bacterial species (Edouard et al., 2017; La Scola and Raoult, 1996; Lukáčová et al., 1999), especially some *Coxiella*-like bacteria (Duron et al., 2015; Jourdain et al., 2015); however, data are lacking to assess whether cattle are particularly exposed to *Coxiella*-like bacteria in this department. Overall, we conclude that test 1 should be used and interpreted carefully in cattle because false-positive results may occur, at least in some geographic areas.

#### IV.4. Sensitivity and specificity estimates

According to our global models (cattle from department G being excluded), the three tests were highly specific, especially for goats and sheep, but poorly sensitive, with Se estimates particularly low (they were below 76% for tests 1 and 2 in all species). This result supports the current recommendations of

the OIE that ELISA tests should not be used for the diagnosis of *C. burnetii* infection at the individual level (OIE, 2018). Although test 3 was the most sensitive in all species, it was also the least specific in cattle and goats. The variation in Se and Sp estimates between domestic ruminant species (Figure B-4) is noteworthy, and was already outlined in previous studies (Horigan et al., 2011; Lucchese et al., 2016; Stellfeld et al., 2020). This result points out the importance of considering the species on which a test is intended to be applied when choosing an ELISA test.

#### IV.4.1 Comparison with previous studies

The Sp and Se estimates of the current study are respectively similar and lower than those reported in previous studies (Horigan et al., 2011; Lucchese et al., 2016; Muleme et al., 2016; Paul et al., 2013; Wood et al., 2019). We explain this difference by the fact that our models provide accurate estimations of the conditional dependence between the three ELISA tests. In particular, the conditional dependence for seropositive animals between tests 1 and 2 was greater than 0.1 in all species, which is high compared to the value estimated in other studies, in which conditional dependence was either omitted (and fixed to 0) (Horigan et al., 2011; Lucchese et al., 2016) or estimated at low values (Lucchese et al., 2016; Muleme et al., 2016; Paul et al., 2013; Wood et al., 2019) (0.004 to 0.013 according to Lucchese et al. for the same tests 1 and 2 (Lucchese et al., 2016)).

The high positive conditional dependence between tests 1 and 2 in all species for truly seropositive animals results from a large increase of the probability of mutual false-negative results between tests 1 and 2, compared to the situation where tests are conditionally independent. The estimates of the conditional dependence for seronegative animals between all pairs of tests were low but strictly positive. As a result, even though false-positive animals are rare (because specificities of the tests are high), the probability that an animal would be falsely positive to a test, given that it is already false-positive to another test, is relatively high. Therefore, when suspecting one serum to be falsely positive to one of the three ELISA tests, the procedure for testing this serum with another ELISA test will generally also provide a positive result, even if the animal is truly seronegative.

#### IV.4.2 Differences between the three ELISA tests

Our main hypothesis to explain discrepancies in diagnostic performance estimates between the current and previous studies was that our study considered simultaneously all three ELISA tests and their conditional dependence. As a consequence, the models from previous studies might be adjusted to a latent status that is different from the one in our study (i.e., “the presence or absence of *C. burnetii*-specific antibodies in a serum sample according to the combination of tests 1, 2 and 3”) (Spencer, 2012). In previous studies, only test 1 (Lucchese et al., 2016; Muleme et al., 2016; Wood et al., 2019) and/or test 2 (Lucchese et al., 2016; Paul et al., 2013) were investigated, sometimes in comparison with CFT (Lucchese et al., 2016) or IFA (Muleme et al., 2016; Wood et al., 2019).

Because Paul et al. (Paul et al., 2013) used the same ELISA test (test 2) on two different biological samples (milk and serum), their modelled latent status was likely “being seropositive with test 2”. Regarding the studies of Muleme et al. (Muleme et al., 2016), Lucchese et al. (Lucchese et al., 2016) and Wood et al. (Wood et al., 2019), the modelled latent status may stand for “being seropositive with test 1 and/or test 2”, which is different from being seropositive with the combination of tests 1, 2 and 3. In our study, tests 1 and 2 displayed the highest pairwise conditional dependence for seropositive animals (Figure B-5). Therefore, tests 1 and 2 tend towards the same results in truly seropositive individuals and, for example, if one individual is false-negative (or true-positive) with test 1, it will probably also be false-negative (or true-positive) with test 2. Moreover, because in our study these tests are less sensitive and slightly more specific than test 3, it is possible that these two tests detect only individuals displaying levels of antibodies higher than those detected with test 3; if this assumption is correct, the differences between the Se values estimated in our and other studies may be explained by the fact that the latent status modelled involuntarily differed, being “displaying a high level of antibodies against *C. burnetii*” in previous

studies (Lucchese et al., 2016; Muleme et al., 2016; Wood et al., 2019) against “displaying both low and high levels of antibody against *C. burnetii*” in the current study.

#### IV.4.3 Conditional dependences between tests

The assessment of conditional dependence between tests is a complex issue in LCMs (Albert and Dodd, 2004; Menten et al., 2008). In this study, the results of simulations (Annexes partie 1.III.) show that our model accurately estimated conditional dependence between tests. We hypothesize that we succeeded in estimating high conditional dependence estimates because test 3 was more sensitive and almost as specific as the other two tests, which allowed us to consider that some individuals, negative with both tests 1 and 2 but positive with test 3, were actually truly seropositive.

An alternative might be that test 3 was poorly specific and that the estimates of the current study were biased by the inclusion of a non-specific test; however, if test 3 really lacked Sp, we would expect to observe only few herds with no animal positive to test 3, which was not supported by our data (130 herds among the 308 included in the study were entirely negative with test 3). Moreover, the simulation of scenario 5 demonstrated that the inclusion of a less specific test does not bias significantly the posterior estimates of our model (Annexes partie 1.III.).

#### IV.5. Between- and within-herd seroprevalence estimates

##### IV.5.1 Between-herd seroprevalence

Between-herd seroprevalence estimates were highly variable among geographic areas (Figure B-6), with wide credible intervals due to the small number of herds considered ( $n = 9$  to 13 per department). Between-herd seroprevalence was estimated to be greater than 75% in four departments for goat and sheep herds, and in one department for cattle herds. Conversely, less than 25% of herds were seropositive in five departments for cattle and sheep herds, and in four departments for goat herds. The estimates of the current study are overall similar to those of the original survey (Gache et al., 2017), except that the values are lower (respectively higher) in departments with low (respectively high) between-herd seroprevalence in the original survey.

We explain the higher number of seropositive herds in endemic departments found in our study by the fact that the study of Gache et al. (Gache et al., 2017) was based only on test 2, which is less sensitive than test 3 according to our model; and we explain the detection of fewer false-positive herds in departments where *C. burnetii* infection is rare by the fact that we modelled the imperfect Sp of the tests. Interestingly, similar seroprevalence values were observed in sheep and goat herds in several departments; in addition to the fact that *C. burnetii* strains circulating in sheep and goats present genotypic similarities (Joulié et al., 2017), this observation supports the hypothesis that *C. burnetii* is more frequently transmitted between sheep and goat herds than between cattle and small ruminants herds.

##### IV.5.2 Within-herd seroprevalence

Regarding within-herd seroprevalence, the ranges of the estimates were wide in all species, some herds having a low proportion of seropositive animals, while others had a high proportion. As expected, since the original survey was based on test 2, which is less sensitive than test 3, the within-herd seroprevalence was overall higher in our study than in the original survey (Gache et al., 2017). Moreover, both studies revealed greater within-herd seroprevalence levels in goat herds compared to cattle and sheep herds; these differences are consistent with more active bacterial circulation in goat herds due to the massive shedding of *C. burnetii* and the higher rate of abortions attributed to *C. burnetii* reported in this species (Álvarez-Alonso et al., 2018; Carrié et al., 2019; de Cremoux et al., 2012; Rousset et al., 2009).

#### IV.6. Herd sensitivity and specificity

We chose to calculate HSe and HSp by weighting them across the whole distribution of within-herd seroprevalence in each species, instead of fixing an arbitrary within-herd seroprevalence value (such as the mean or median of its distribution). In this way, estimated values of HSe and HSp are more representative of field situations. Clearly, within-herd seroprevalence is generally not known in advance when preparing a sample plan. Moreover, we calculated HSe and HSp with the aim of detecting all truly seropositive herds, including those with low within-herd seroprevalence (i.e. a herd is considered truly seropositive if at least one parous female is truly seropositive out of the total number of parous females present in the herd). We assume that this target stands for the question “is the herd free of *C. burnetii* or not?”, but it might not be relevant for diagnostic purposes in an abortive context. Indeed, the targeted seroprevalence required to attribute abortion waves to *C. burnetii* is generally higher, as recommended by EFSA in complement to quantitative PCR (Sidi-Boumedine et al., 2010).

We chose to consider that a herd was seropositive if at least one parous female tested positive, and we assessed the optimal sample size to maximize both HSe and HSp for every test and species. Despite low individual Se, HSe rapidly increased with the number of animals tested for all three ELISA tests (Figure B-8). This result shows that, when a herd is considered seropositive as soon as one animal tests positive, the lack of Se of a test becomes unproblematic at the herd level, if several animals are tested. Conversely, HSp rapidly decreased with the number of animals tested; thus, moderate Sp differences at the individual level are amplified at the herd level. Therefore, when establishing a sampling scheme, a compromise is needed between sampling many animals (in order to increase the probability of sampling truly seropositive animals) and sampling few animals (in order to avoid false-positive results in truly seronegative herds). Overall, we recommend considering an optimal sample size, maximizing both HSe and HSp. This sample size varies depending on the considered test and ruminant species: in practice, the choice of an optimal test and sampling strategy should be made after a cost-effectiveness analysis depending on the aim of the screening (e.g., epidemiology, animal introduction, herd status, etc.) and the cost of sampling and testing any supplemental animal.

#### IV.7. Validity of the model

The model developed by Wang et al. in 2017 (Wang et al., 2017b) was adapted for the purpose of this study because it allowed for modelling conditional dependence among multiple tests based on a same biological process. The major adjustment of the model concerned the hierarchical structure of the *WHP* distribution (i.e. a zero-inflated beta-binomial distribution) which allowed us to account for the presence of herds free of seropositive animals (McAloon et al., 2016; Pozzato et al., 2011; Verdugo et al., 2015). This hierarchical structure associated with LCMs was shown to be accurate to assess between-herd seroprevalence in the case of high between-herd seroprevalence and Se values (McAloon et al., 2019), which is the case for at least one of the tests and some departments in the current study.

##### IV.7.1 Identifiability of the model

For each investigated ruminant species, we independently applied a LCM considering three different serological tests performed on numerous populations (each of the 106 cattle herds, 103 goat herds, and 99 sheep herds were considered a distinct population). The LCMs included 28 parameters, i.e., the Se and Sp of the three tests, the eight conditional dependence terms, the ten between-herd seroprevalence terms, and the two hyper-parameters of the within-herd distributions. For LCMs based on three tests, there are seven degrees of freedom for each population, corresponding to the possible number of categories of the cross-classified test results minus one (Pepe and Janes, 2007). Our model was therefore theoretically identifiable if at least four populations with distinct seroprevalence levels were included in the dataset. Based on apparent between- and within-herd seroprevalence levels reported in the original survey (Gache et al., 2017), we hypothesized that many herds (apart from seronegative herds for which seroprevalence is nil) would display distinct and contrasted seroprevalence levels. Accordingly, within-

herd seroprevalence estimates modeled in all three species displayed wide ranges, which means that the number of populations with distinct seroprevalence levels was much greater than four. Thus, the number of degrees of freedom of our dataset was greater than the minimum required for model identifiability. In addition, the convergence of all LCMs met the expectations (see trace plots and Gelman and Rubin's statistics in the Additional file 2 in [online version of this article](#)).

#### IV.7.2 Importance of the prior

Because the model was identifiable and the dataset of high quality, we used non-informative prior distributions for all parameters of the model (Tableau B-3). We chose a  $beta(0.5,0.5)$  distribution for all probability parameters (Zhu and Lu, 2004), and a Cauchy distribution of location 0 and scale 0.039 for conditional dependence terms (chosen so that the 2.5 and 97.5 percentiles were fixed at -0.5 and 0.5, respectively). The choice of Cauchy prior distribution was motivated by the fact that, based on the authors' experience, the use of a uniform distribution for conditional dependence terms (as suggested by Wang et al. (Wang et al., 2017b)) generally favors posterior estimates with relatively high conditional dependence values, even when tests are conditionally independent. In contrast, Cauchy prior distribution, which was recommended for use as a default prior distribution for various models (Gelman, 2006; Gelman et al., 2008), peaks at its location and has long tail ends. Therefore, it allows for occasional large coefficients while still performing a reasonable amount of shrinkage for coefficients near zero (Gelman et al., 2008). As a result, in our case, Cauchy prior distribution favors posterior estimates with relatively low conditional dependence terms, while it allows the convergence of the models toward high conditional dependence terms if suggested by the data.

The simulations performed in this study confirmed that Cauchy prior distribution outperforms uniform distribution for conditional dependence terms because it leads to lower negative bias, higher coverage probability, and lower quadratic error mean in all tested scenarios, except those with very low Se values (scenario 4 in cattle and goats, and scenarios 1, 4 and 5 in sheep, see Annexes partie 1.III for details). Overall, thanks to the high number of animals included in the current study, the impact of prior distributions used for conditional dependence terms was limited, as shown by the similarity of posterior estimates obtained with uniform or Cauchy prior distributions (see results of the sensitivity analysis in Annexes partie 1.VI). Finally, the weak overlaps between posterior and prior distributions confirmed that posterior estimates of the current study are mostly obtained from the information included in the dataset (see output of the model in the Additional file 2 in [online version of this article](#)).

#### IV.7.3 Accuracy of the model

The results of the simulations (Annexes partie 1.III show that the mean negative bias regarding Se and Sp estimators of our model is less than -0.01 in goats, -0.02 in cattle and -0.03 in sheep. The best performances estimated with our model for goats might be attributed to higher levels of within-herd seroprevalence in seropositive goat herds compared to sheep and cattle herds, (with a median of the within herd seroprevalence distribution estimated at 72.6% for goats and 41.9% and 47.3% for sheep and cattle, respectively (Figure B-7)). The highest negative bias on the Se estimators for sheep might be attributed both to lower levels of within-herd seroprevalence in seropositive sheep herds compared to goat herds and to a lower Se of tests 1 and 2 in this species. Accordingly, in cattle, while Se estimators of scenarios 1, 2, 3 and 5 show a low negative bias, scenario 4 (the "low Se") is the most negatively biased.



## V. Conclusion

In conclusion, when datasets were generated according to the main assumption of the model, posterior estimates provided accurate estimations of the true sensitivities and specificities for cattle and goats, even when the scenarios used to generate the datasets included conditional dependence values that were lower or higher than in reality. In sheep,  $Se$  values might be slightly underestimated but the coverage probability of their 95% credible intervals remained above 91%, indicating the importance of considering the whole 95% credible interval when interpreting the results of this study in sheep.

This study is the first to simultaneously assess the diagnostic performances of the three main ELISA tests commercialized for the serological diagnosis of *C. burnetii* infection in domestic ruminants. Our results point out that these tests are less sensitive than estimated in previous studies. The hierarchical beta-binomial LCM developed for the current study may be applied in the future to more than three tests, or to other diseases.

C. PARTIE 2 : ESTIMATION DES DISTRIBUTIONS DES SÉROPRÉVALENCES  
INTRA- ET INTER-ÉLEVAGES DE L'INFECTION PAR *Coxiella burnetii* CHEZ  
LES RUMINANTS DOMESTIQUES EN PRENANT EN COMPTE L'INCERTITUDE  
DIAGNOSTIQUE DU TEST UTILISÉ

---

## PRÉAMBULE

À partir de l'ensemble des données de l'enquête sérologique du dispositif de surveillances de la fièvre Q analysées avec le test 2 et des estimations de sensibilité et spécificité du test 2 réalisées dans la partie 1, les objectifs de cette étude étaient d'estimer (1) la distribution des séroprévalences intra-élevages réelles dans les élevages réellement séropositifs et (2) la distribution des séroprévalences inter-élevages réelles à l'échelle des départements, en prenant en compte l'incertitude diagnostique du test 2 (Figure C-1). Après avoir brièvement rappelé le contexte de cette étude et présenté les méthodes utilisées pour prendre en compte l'incertitude diagnostique, nous présenterons les données, la méthode et les résultats de la partie 2. Enfin, nous discuterons les résultats obtenus au regard des études préalables réalisées et de l'intérêt de la prise en compte de la méthode utilisée.

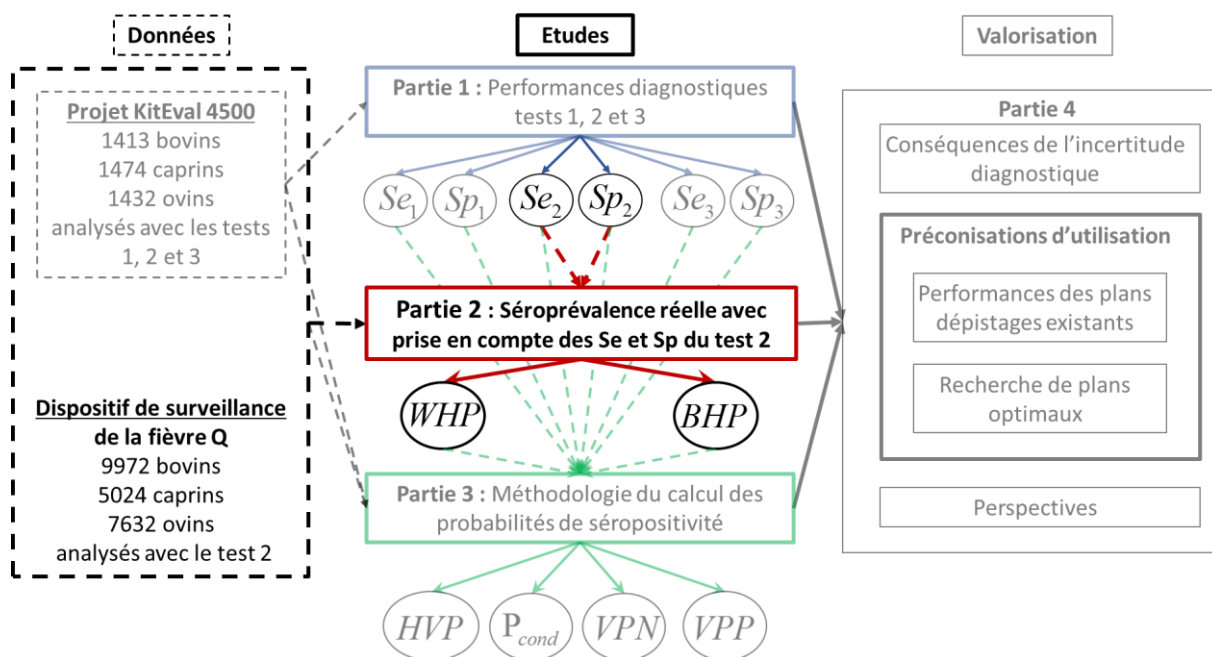


Figure C-1 : Données et informations utilisées pour estimer les séroprévalences intra- et inter-élevages des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques.

$Se$  : Sensibilité,  $Sp$  : Spécificité,  $WHP$  : séroprévalence réelle intra-élevage,  $BHP$  : séroprévalence réelle inter-élevage.

## I. Introduction

### I.1. Contexte de l'étude

En France, la première vaste enquête épidémiologique (et dernière en date) sur la fièvre Q chez les ruminants domestiques a été réalisée entre 2012 et 2015. Elle a permis de collecter les données sérologiques de 9972 bovins, 5024 caprins et 7632 ovins issus respectivement de 731, 349 et 522 élevages français sélectionnés de façon aléatoire dans 10 départements français. En l'absence de données relatives aux performances diagnostiques du test sérologique utilisé, ces données ont été analysées en considérant que le test avait une sensibilité et une spécificité parfaites (Gache et al., 2017). À partir de ces données, des séroprévalences apparentes intra- et inter-élevages apparentes ont été estimées et définies comme les proportions d'individus testés positifs dans chaque élevage et les proportions d'élevages ayant au moins un individu testé positif. L'étude a permis, de plus, de mettre en évidence des différences de séroprévalences apparentes entre espèces de ruminants (séroprévalences apparentes plus élevées chez les caprins que chez les bovins et ovins) et entre types de production au sein de chaque espèce (séroprévalences apparentes plus élevées chez les bovins laitiers que chez les

bovins allaitants).

L'étude réalisée dans la Partie 1 de la thèse a été réalisée sur un sous-échantillon de sérums issu de cette enquête et a permis d'estimer les sensibilité et spécificité du test sérologique utilisé dans le cadre de l'enquête épidémiologique. Le test s'est avéré relativement peu sensible ( $Se$  entre 54 et 75%) et pas parfaitement spécifique ( $Sp$  de 87 à 99%) selon l'espèce de ruminants. L'absence de prise en compte de cette incertitude diagnostique peut avoir des conséquences importantes sur les valeurs estimées des séroprévalences. D'une part, le test étant peu sensible, il est probable que les séroprévalences intra-élevages aient été sous-estimées. D'autre part, le test n'étant pas parfaitement spécifique et les troupeaux ayant été considérés comme séropositifs à partir d'un animal testé positif, il est probable que les séroprévalences inter-élevages aient été, elles, surestimées. Les élevages où un seul animal était positif correspondaient plus probablement à des élevages faussement séropositifs.

Pour avoir une information non biaisée sur le niveau de séroprévalence de *C. burnetii* à l'échelle des 10 départements français, il serait donc pertinent de réévaluer les séroprévalences inter- et intra-élevages en prenant en compte l'incertitude associée au test sérologique utilisé.

## 1.2. Méthode de prise en compte de l'incertitude diagnostique pour estimer des séroprévalences intra- et inter-élevages

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour estimer la prévalence réelle d'une maladie en prenant en compte l'incertitude diagnostique du test utilisé. En 1978, Rogan et Gladen ont proposé une méthode algébrique qui consiste à inverser la formule de calcul de la prévalence apparente ( $P_{app} = Se \times P + (1 - Sp) \times (1 - P)$ , avec  $P_{app}$  la prévalence apparente,  $P$  la prévalence de la maladie et  $Se$  et  $Sp$  les sensibilité et spécificité du test) (Rogan and Gladen, 1978). Cette méthode permet de calculer la prévalence réelle à partir de la prévalence apparente et des  $Se$  et  $Sp$  du test selon la

formule suivante :  $P = \frac{P_{app} + Sp - 1}{Se + Sp - 1}$ . Cette méthode algébrique a été utilisée dans de nombreuses

études, y compris pour estimer les séroprévalences de la fièvre Q (Rizzo et al., 2016; Ruiz-Fons et al., 2010; Wolf et al., 2020). Elle n'est cependant pas applicable lorsque la prévalence apparente est supérieure à la sensibilité du test (dans ce cas  $P_{app} + Sp - 1 > Se + Sp - 1$ , donc  $P$  serait supérieure à 1) ou inférieure à  $1 - Sp$  (dans ce cas  $P_{app} + Sp - 1$  est négative et  $P$  serait négative). De plus, cette méthode ne permet pas de prendre en compte l'incertitude associée aux estimations des  $Se$  et  $Sp$  en l'absence de gold standard (Flor et al., 2020; Lang and Reiczigel, 2014).

Afin de pallier les défauts de la méthode proposée par Rogan et Gladen, différents modèles ont été mis au point pour estimer des prévalences réelles en prenant en compte l'incertitude diagnostique du ou des tests utilisés. Les plus utilisées modélisent le nombre d'individus positifs selon une distribution binomiale dont la probabilité dépend des prévalences et des sensibilité et spécificité du test (Hanson et al., 2003) ou des tests (Branscum et al., 2004) utilisés. Ces modèles sont généralement structurés de façon hiérarchique. La modélisation d'un statut vis-à-vis de la maladie pour chaque élevage (« est-ce que la maladie est présente ou non dans l'élevage ») est modélisée avec une distribution de Bernoulli de probabilité égale à la prévalence inter-élevage. Les prévalences intra-élevages dans les élevages où la maladie est présente sont ensuite modélisées en utilisant soit une distribution beta (Branscum et al., 2004; Fernandes et al., 2019; Hanson et al., 2003; Liapi et al., 2011; McAloon et al., 2016; Okura et al., 2010; Paul et al., 2014; Pozzato et al., 2011; Suess et al., 2002; Verdugo et al., 2015) soit une distribution normale avec un lien logit (Angelidou et al., 2014; Fernandes et al., 2019; Koop et al., 2013; Okura et al., 2010; Paul et al., 2014). Les modèles utilisant une distribution normale permettent également d'évaluer l'effet de facteurs de risque (*e.g.*, race des animaux, taille des élevages, etc.) sur la prévalence d'une maladie. Ainsi des modèles de régression logistique ont été développés à l'échelle intra-élevage (Angelidou et al., 2014; Koop et al., 2013; Okura et al., 2010; Paul et al., 2014; Wolf et al., 2014), ou inter-

élevage (Fernandes et al., 2019). Les régressions logistiques modélisent également l'ensemble de la distribution des prévalences intra-élevages ou inter-élevages en estimant la moyenne et l'écart-type de ces distributions après une transformation logit (Fernandes et al., 2019; Koop et al., 2013; Okura et al., 2010; Paul et al., 2014).

À notre connaissance, les performances et les biais potentiels de ce type de modèle ont été évalués par simulation que dans l'étude de McAllon et al. (McAloon et al., 2019). Cette étude comprenait plusieurs scénarios de simulation relatifs à la situation épidémiologique de la paratuberculose chez les bovins. Elle a montré que, quelle que soit la méthode utilisée (modélisation de la prévalence intra-élevage avec une loi beta ou logit-normale), les performances de ces modèles étaient basses, avec généralement une surestimation de la proportion d'élevages séropositifs. Néanmoins, les performances de ces modèles semblaient meilleures lorsque les prévalences réelles intra-élevages étaient supérieures à 30 %, ce qui est le cas de la séroprévalence intra-élevage de la fièvre Q en France (Partie 1 II.2.7). Enfin, les estimations obtenues par ces auteurs étaient variables en fonction du type de distribution *a priori* utilisée.

Pour limiter les conséquences des distributions *a priori* utilisées, la plupart des études ont utilisé des priors peu informatifs sur la plupart des paramètres du modèle (excepté pour les Se et Sp du test utilisé). Ainsi, dans le cas des études utilisant un modèle de régression logistique, des lois normales de moyenne égale à 0 et d'écart-type supérieur à 30 (Fernandes et al., 2019; Koop et al., 2013; Okura et al., 2010; Paul et al., 2014) et des lois gamma de paramètres inférieurs à 0,001 (Angelidou et al., 2014; Koop et al., 2013; Okura et al., 2010; Paul et al., 2014) étaient utilisées respectivement pour les moyennes et les précisions de la distribution des prévalences modélisées. Néanmoins, ce type de distribution *a priori* largement étendue peut entraîner la convergence du modèle vers des valeurs parfois éloignées du centre de la distribution *a priori* et donc potentiellement peu plausibles d'un point de vue biologique ou épidémiologique. Ainsi certains auteurs préconisent d'utiliser des distributions plus resserrées comme les distributions Cauchy pour les moyennes (Gelman, 2006) et des distributions « demi-Cauchy » pour les écarts-types (Gelman, 2006; Polson and Scott, 2012). Étant donné la variabilité des approches utilisées dans la littérature, le risque de biais important sur les résultats obtenus par ce type de modèle et leur sensibilité au type de distribution *a priori* utilisée, l'implémentation de ces modèles doit être réalisée avec précaution et doit être accompagnée d'une évaluation des performances par simulation (McAloon et al., 2019).

## II. Matériel et méthode

### II.1. Données

L'étude a été conduite dans dix départements pilotes présentant un taux de déclaration des avortements bovins supérieur à la moyenne française. Ce panel de départements devait également permettre d'assurer une bonne représentation de la diversité des systèmes de production et des typologies d'élevages de ruminants.

Dans chacun des dix départements pilotes, 19 à 106 ateliers de ruminants ont été sélectionnés de façon aléatoire parmi les ateliers non vaccinés contre la fièvre Q depuis au moins 5 ans et de taille supérieure à 20 femelles paires chez les bovins et à 50 femelles paires chez les ovins et caprins. Dans chaque atelier inclus, un prélèvement sanguin devait être réalisé sur 11 à 15 femelles paires non vaccinées sélectionnées selon la convenance du vétérinaire préleveur sans tenir compte d'éventuels troubles de la reproduction (Gache et al., 2017). Afin de vérifier l'absence de vaccination contre *C. burnetii* dans l'atelier, chaque vétérinaire préleveur devait également renseigner le statut vaccinal du troupeau. Malgré la consigne d'exclusion de l'étude les ateliers vaccinés, certains des ateliers prélevés avaient été vaccinés : ces ateliers ont été exclus de l'étude. Par ailleurs, les ateliers pour lesquels les vétérinaires préleveurs n'avaient pas renseigné le statut vaccinal ont été inclus dans l'étude (161 ateliers bovins, 55 caprins et 115 ovins), mais les conséquences de leur inclusion ont été évaluées dans l'analyse.

Finalement, les résultats de sérologie de 9972 bovins issus de 731 ateliers, 5024 caprins issus de 349 ateliers et 7632 ovins issus de 522 ateliers ont été inclus dans l'étude. Les nombres d'ateliers et d'animaux par département et par espèce sont détaillés dans le Tableau C-1. Dans la suite du document, nous utiliserons de façon interchangeable les termes « élevage » et « atelier » même si un élevage peut contenir plusieurs ateliers d'espèces ou des types de production différents (par exemple, un atelier laitier et allaitant de la même espèce de ruminants, ou deux ateliers d'espèces différentes). L'information concernant la présence d'autres ateliers au sein des élevages sélectionnés n'a pas été recueillie pendant l'étude.

Tableau C-1 : Nombre d'ateliers et d'animaux inclus pour chaque espèce et chaque département

Départements		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Bovin	Atelier	59	77	53	68	96	60	78	75	95	70
	Animaux	795	1032	737	928	1275	809	1171	975	1314	936
Caprin	Atelier	31	43	11	46	50	8	12	46	56	46
	Animaux	440	631	196	675	696	119	180	660	768	659
Ovin	Atelier	77	82	16	25	49	23	44	104	69	33
	Animaux	1134	1205	238	364	709	336	656	1533	986	471

Les sérums ont été analysés en 2014 et 2015 dans les laboratoires départementaux des différents départements avec le test 2 (LSIVet™ Ruminant Q fever Serum<sup>1</sup>). Le seuil de positivité considéré pour cette étude est celui fourni par le constructeur (sérum positif si le RDO>40 %).

Pour chaque atelier, en complément des résultats sérologiques binaires (positif ou négatif c'est-à-dire respectivement au-dessus ou en dessous seuil de positivité), des informations sur le type de production (laitier/allaitant pour les bovins, laitier pour les caprins et laitier/allaitant/mixte/sélection pour les ovins) et la taille des élevages (nombre de femelles paires présentes au moment du prélèvement pour les bovins et nombre d'animaux présents lors du dernier recensement agricole effectué en 2011 pour les ovins et caprins) ont été extraites des bases de données SIGAL (base de données nationale du domaine vétérinaire) et BDNI (base de données nationale d'identification) respectivement (Figure C-2).

<sup>1</sup> maintenant dénommé PrioCHECK™ Ruminant Q Fever Ab Plate Kit et commercialisé par ThermoFisher Scientific, nommé test 2 dans la partie 1



Figure C-2 : Taille et types de production des élevages inclus dans l'étude

A : Nombre de troupeaux prélevés par type de production et département. B : Distribution (boxplot) du nombre de femelles paires présentes dans l'atelier au moment du prélèvement pour les bovins ou du nombre d'animaux présents dans l'atelier en 2011 pour les ovins et caprins des ateliers inclus dans l'étude par département. Les types d'ateliers sont colorés en fonction du type de production (bleu : laitier, vert : laitier et allaitant, rouge : allaitant, orange : sélection).

## II.2. Modèle et inférence

### II.2.1 Définition des statuts sérologiques à l'échelle des individus et des troupeaux

À l'échelle individuelle, on distingue le statut « **testé positif** » qui est le résultat du test (observé) et le statut « **réellement séropositif** » qui n'est pas directement observé (statut latent estimé par le modèle). Le statut « réellement séropositif » correspond à un individu ayant des anticorps dirigés contre *C. burnetii* dans son sérum. La proportion d'individus réellement séropositifs présents dans l'élevage correspond à la **séroprévalence intra-élevage réelle**, notée *WHP* (pour « Within-Herd Prevalence ») (Figure C-3) et nommée ci-après séroprévalence intra-élevage.

De la même manière, à l'échelle collective, on distingue le statut « **troupeau testé positif** » qui est directement observé et « **troupeau réellement séropositif** » qui est estimé par le modèle. Le statut « troupeau testé positif » est défini comme un troupeau au sein duquel au moins un animal a été testé positif. Le statut troupeau « réellement séropositif » correspond à un troupeau ayant au moins un individu « réellement positif » et dont la séroprévalence intra-élevage est ainsi supérieure ou égale à  $1/N_{ind}$  ( $N_{ind}$  est le nombre d'individus présents dans l'élevage). La proportion de troupeaux réellement séropositifs correspond, dans chaque département, à la séroprévalence inter-élevage réelle notée *BHP* (pour « Between Herd Prevalence ») Figure C-3 et nommée ci-après séroprévalence inter-élevage.

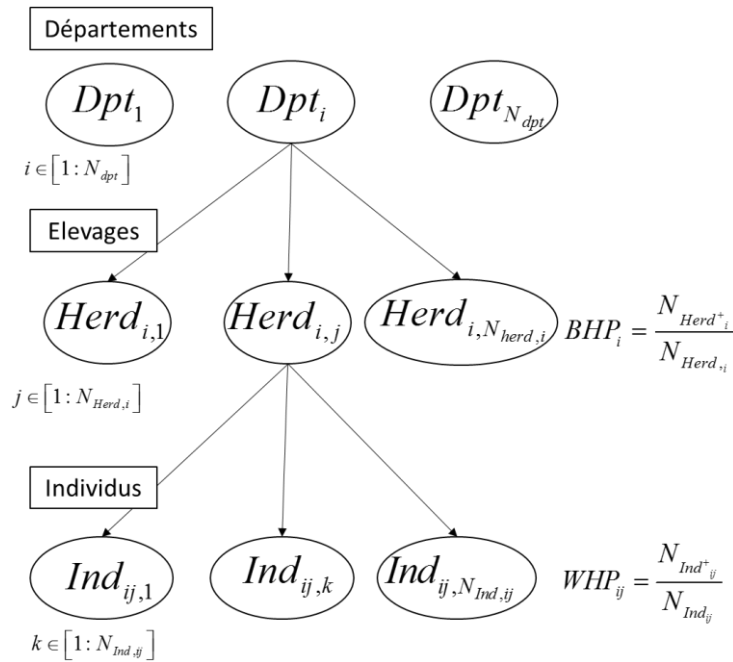


Figure C-3: Structure hiérarchique du modèle.

Avec  $N_{dpt}$  le nombre de départements inclus dans l'étude,  $N_{Herd,i}$  le nombre d'élevages dans le  $i^{\text{ème}}$  département,  $N_{Herd^+_i}$  le nombre d'élevages réellement séropositifs.  $N_{Ind,ij}$  le nombre d'individus dans le  $j^{\text{ème}}$  élevage du  $i^{\text{ème}}$  département et  $N_{Ind^+_{ij}}$  le nombre d'individus réellement séropositifs. La séroprévalence intra-élevage du  $j^{\text{ème}}$  élevage du  $i^{\text{ème}}$  département ( $WHP_{ij}$ ) correspond à la proportion d'individus réellement séropositifs dans l'élevage. La séroprévalence inter-élevage du  $i^{\text{ème}}$  département correspond à la proportion de troupeaux réellement séropositifs dans le département (un troupeau est considéré réellement positif si sa WHP est supérieur à  $1 / N_{Ind,ij}$ , le nombre d'individus dans l'élevage).

## II.2.2 Principe et hypothèses principales du modèle

Afin de modéliser à la fois la distribution des séroprévalences inter- et intra-élevage, un modèle de régression logistique en deux parties a été construit et adapté à partir des différents modèles décrits dans la littérature scientifique (McAloon et al., 2019; Paul et al., 2014; Suess et al., 2002). Le modèle complet est détaillé dans les paragraphes suivants et le diagramme acyclique dirigé (DAG) est présenté en Figure C-4.

Les séroprévalences inter-élevages de chaque département sont modélisées avec un modèle de régression logistique à effet aléatoire sur le département. Les séroprévalences intra-élevages de chaque élevage sont modélisées avec un modèle de régression logistique augmentée en 0 à effet aléatoire sur l'élevage. On suppose que les deux effets aléatoires suivent une loi normale à l'échelle logit et que la distribution des séroprévalences intra-élevage dans l'ensemble des départements peut être modélisée à l'aide d'une seule distribution (autrement dit que les moyennes et variabilités des séroprévalences intra-élevages des élevages séropositifs sont similaires dans tous les départements étudiés).

L'incertitude diagnostique est prise en compte par une loi binomiale modélisant le nombre d'animaux testés positifs dans chaque élevage, dont la probabilité dépendant de la séroprévalence intra-élevage et des sensibilité et spécificité du test utilisé. Le même modèle est utilisé pour chaque espèce de ruminant domestique, mais de façon indépendante.

Deux versions alternatives du modèle original ont été implémentées pour vérifier la robustesse du modèle original décrit dans la section II.2.3. Les versions alternatives sont décrites succinctement dans la section II.4.5.



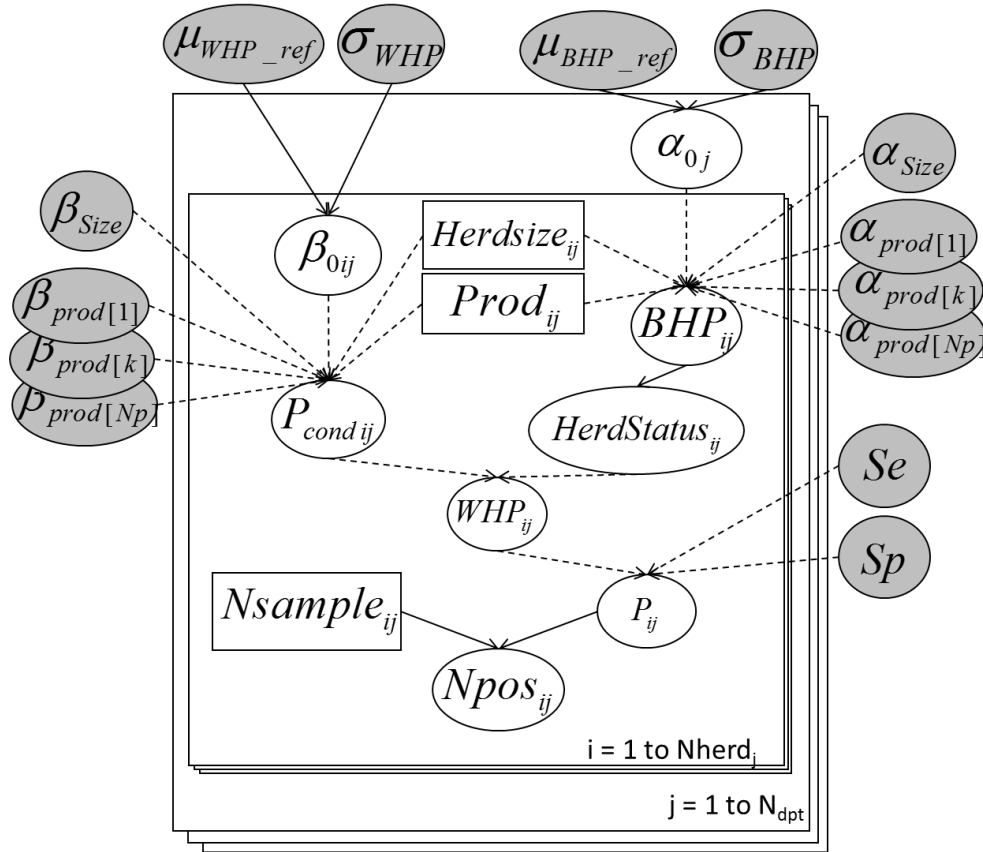


Figure C-4 : Diagramme acyclique dirigé du modèle original, chaque nœud étant représenté par un cercle (pour les variables) ou un carré (pour les covariables).

Les nœuds correspondant aux paramètres à estimer sont colorés en gris. Les flèches en traits pleins et pointillés représentent respectivement les liens stochastiques et déterministes.

## II.2.3 Description du modèle original

### II.2.3.1 Prise en compte de l'incertitude diagnostique

Le statut sérologique vis-à-vis des infections par *C. burnetii* du  $i^{\text{ème}}$  élevage du  $j^{\text{ème}}$  département est noté  $HerdStatus_{ij}$ , il est égal à 0 si l'élevage est réellement séronégatif (séroprévalence intra-élevage nulle) et égale à 1 s'il est réellement séropositif (séroprévalence intra-élevage  $>0$ ).  $HerdStatus_{ij}$  suit une loi de Bernoulli de probabilité égale à  $BHP_{ij}$ , la probabilité de séropositivité du  $i^{\text{ème}}$  élevage du  $j^{\text{ème}}$  département :

$$(2.1) HerdStatus_{ij} \sim \text{bern}(BHP_{ij})$$

La prévalence intra-élevage du  $i^{\text{ème}}$  élevage du  $j^{\text{ème}}$  département,  $WHP_{ij}$ , est égale à 0 dans les troupeaux réellement séronégatifs ou à  $P_{cond\ ij}$  dans les troupeaux séropositifs :

$$(2.2) WHP_{ij} = P_{cond\ ij} \times HerdStatus_{ij}$$

Avec  $P_{cond\ ij}$  la prévalence conditionnelle intra-élevage du  $i^{\text{ème}}$  élevage du  $j^{\text{ème}}$  département, c'est à dire la prévalence intra-élevage de l'élevage si celui-ci est réellement séropositif. Pour que  $P_{cond\ ij}$  reste dans des valeurs cohérentes et pour éviter que certains élevages soient considérés comme séropositifs avec une séroprévalence intra-élevage non nulle, mais très faible,  $P_{cond\ ij}$  est supposée supérieure ou

égale à 1 divisé par le nombre d'individus présents dans l'élevage.

Le nombre d'animaux testés positifs dans le  $i$ ème élevage du  $j$ ème département (noté  $N_{pos_{ij}}$ ) parmi les  $N_{sample_{ij}}$  animaux prélevés, suit une loi binomiale de taille  $N_{sample_{ij}}$  et de probabilité  $P_{ij}$  exprimées en fonction de la séroprévalence intra-élevage ( $WHP_{ij}$ ) et des sensibilité (notée  $Se$ ) et spécificité (notée  $Sp$ ) du test sérologique utilisé :

$$(2.3) \quad \begin{aligned} P_{ij} &= WHP_{ij} \times Se + (1 - WHP_{ij}) \times (1 - Sp) \\ N_{pos_{ij}} &\sim \text{binomial}(N_{sample_{ij}}, P_{ij}) \end{aligned}$$

### II.2.3.2 Régressions logistiques

Pour évaluer l'effet de facteurs de risque de séropositivité intra- ou inter-élevage potentiels, deux modèles de régression logistique à effet aléatoire sont intégrés au modèle avec des effets fixes pour la taille de l'élevage et le type de production et aléatoires pour le département (séroprévalence inter-élevage) et l'élevage (séroprévalence intra-élevage), dont les équations sont données par les formules (2.4) et (2.5).

Étant donnés les grands écarts de taille observés entre les élevages dans chaque espèce, l'effet de la taille est modélisé à l'échelle logarithmique (en base 2). Pour faciliter l'interprétation des moyennes des distributions intra- ou inter-élevages lorsque la variable  $Herdsiz_{e_{ij}}$  est égale à 0, la taille des élevages en log2 est centrée sur la moyenne. Ainsi, lorsque  $Herdsiz_{e_{ij}}$  est égal à 0, la taille de l'élevage est égale à 52, 113 et 182 respectivement chez les bovins, caprins et ovins, et lorsque  $Herdsiz_{e_{ij}}$  augmente de 1 unité (respectivement, diminue de 1 unité), la taille de l'élevage est multipliée par 2 (respectivement divisée par 2). Ainsi,  $\alpha_{size}$  et  $\beta_{size}$  correspondent à l'augmentation ou la diminution (à l'échelle logit) des séroprévalences inter- et intra-élevage lorsque la taille de l'élevage est multipliée ou divisée par 2.

Pour les types de production, on suppose que chaque type est associé à un niveau de séroprévalence différent. Les différences entre les moyennes des distributions des séroprévalences de chaque type à l'échelle logit sont modélisées avec un effet fixe noté  $\alpha_{Prod}$  ou  $\beta_{Prod}$  qui correspond à un vecteur de taille égale au nombre de types de productions évalué (noté  $N_p$ ) et dont les valeurs sont égales à l'écart entre la moyenne du type de production considérée et de la moyenne de la classe de référence.

Dans chaque espèce, la classe de références est définie comme un élevage de taille moyenne (en log 2) et de dont le type de production correspond à celui le plus représenté dans le jeu de donnée (allaitant pour les élevages ovins et bovins et laitier pour les élevages caprins).

Ainsi, le logit de la probabilité de séropositivité du  $i$ ème élevage du  $j$ ème département s'exprime :

$$(2.4) \quad \begin{aligned} \text{logit}(BHP_{ij}) &= \alpha_{0j} + \alpha_{size} \times Herdsiz_{e_{ij}} + \alpha_{Prod(Prod_{ij})} \\ \alpha_{0j} &\sim \text{Norm}(\mu_{BHP\_ref}, \sigma_{BHP}) \end{aligned}$$

Avec :

- $\alpha_{0j}$  l'intercepte aléatoire correspondant au  $j$ ème département qui suit une loi normale de moyenne  $\mu_{BHP\_ref}$  et d'écart-type  $\sigma_{BHP}$  ;
- $\mu_{BHP\_ref}$  la moyenne de la distribution de la séroprévalence inter-élevage dans la classe de référence ( $Herdsiz_{e_{ij}}$  égale à 0 et type de production de référence) ;

- $\alpha_{size}$  l'effet fixe du log2 centré de la taille de l'élevage  $Herdsiz_{ij}$  ;
- $\alpha_{Prod}$  le vecteur des effets fixe correspondant à chaque type de production des élevages ( $Prod_{ij}$  qui correspond au numéro du type de production du  $i^{ème}$  élevage du  $j^{ème}$  département).

De même, le logit de la séroprévalence intra-élevage conditionnelle du  $i^{ème}$  élevage du  $j^{ème}$  département s'exprime :

$$(2.5) \quad \text{logit}(P_{cond\ ij}) = \beta_{0ij} + \beta_{size} \times Herdsiz_{ij} + \beta_{Prod(Prodij)}$$

$$\beta_{0ij} \sim \text{Norm}(\mu_{WHP}, \sigma_{WHP})$$

Avec :

- $\beta_{0ij}$  l'intercepte aléatoire correspondant au  $i^{ème}$  élevage du  $j^{ème}$  département  $\mu_{WHP\_ref}$  et  $\sigma_{WHP}$
- $\mu_{WHP\_ref}$  la moyenne de la distribution de la séroprévalence intra-élevage dans la classe de référence ( $Herdsiz_{ij}$  égale à 0 et type de production de référence).
- $\beta_{size}$  à l'effet fixe sur l'échelle logit associé au log2 centré de la taille de l'élevage (notée  $Herdsiz_{ij}$ )
- $\beta_{Prod}$  le vecteur des effets fixes correspondant à chaque type de production des élevages

#### II.2.4 Loi de distribution a priori du modèle original

Les distributions *a priori* de la sensibilité et de la spécificité du test sérologique utilisé ont été choisies de façon à correspondre aux estimations *a posteriori* de l'étude KitEval 4500 de l'espèce correspondante (Partie 1.III.2). Pour ce faire, une distribution bêta a été ajustée, à l'aide de la fonction fitdist du package SHELF sur R, sur les médianes des distributions et les intervalles de crédibilité à 95% estimés en Partie 1.III.2.

Pour les autres paramètres, des distributions faiblement informatives ont été utilisées pour favoriser des estimations relativement faibles des paramètres du modèle (avec des distributions assez piquées en 0) tout en permettant au modèle de converger vers des valeurs très fortes selon l'information apportée par les données (avec des queues de distribution très étendues)(Gelman, 2006). Pour ce faire des distributions de Cauchy centrées en 0 et d'échelle 2 pour les nœuds  $\mu_{BHP}$ ,  $\mu_{WHP}$ ,  $\alpha_k$  et  $\beta_k$  (Tableau C-2 et Figure C-5) et des lois de distribution demi-Cauchy d'échelle 2 pour les écarts-types ont été utilisées (Gelman, 2006; Polson and Scott, 2012). Ces dernières ont été paramétrées dans JAGS à l'aide d'une distribution scaled.gamma(2,1) sur les précisions (Plummer et al., 2016).

Tableau C-2 : Lois de distribution a priori des paramètres du modèle.

Paramètres		Distribution a priori	Quantile à 2,5 %	Médiane	Quantile à 97,5 %
$\mu_{BHP}, \mu_{WHP}, \alpha_k, \beta_k$		cauchy(0,2)	-25,4	0	25,4
$\sigma_{BHP}, \sigma_{WHP}$		$\frac{1}{\sigma^2} \sim scaled.gamma(2,1)$	0,078	2	50,9
Bovins	<i>Se</i>	$beta(52,5;32,2)$	0,517	0,619	0,718
	<i>Sp</i>	$beta(668,8;16,8)$	0,962	0,975	0,987
Caprins	<i>Se</i>	$beta(192,6;64,0)$	0,684	0,752	0,799
	<i>Sp</i>	$beta(533,2;5,4)$	0,981	0,991	0,997
Ovins	<i>Se</i>	$beta(73,3;62,3)$	0,433	0,538	0,618
	<i>Sp</i>	$beta(720,0;11,9)$	0,974	0,984	0,993

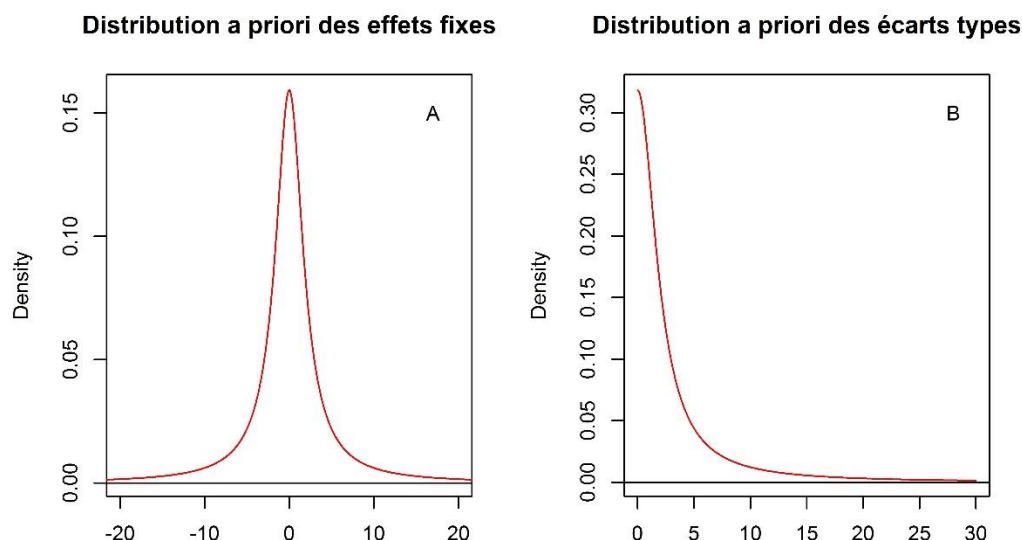


Figure C-5 : Densité des distributions a priori utilisées respectivement pour les paramètres des effets fixes (A : Cauchy (0 ; 2)) et pour les écarts-types (B : demi-Cauchy (0 ; 2))

### II.2.5 Inférences

L'estimation de la distribution jointe *a posteriori* de chacun des paramètres a été réalisée à l'aide de chaînes de Monte-Carlo Markov (MCMC) à partir des distributions *a priori* et des données.

Les calculs ont été réalisés en utilisant JAGS sur R grâce au package rjags (Plummer et al., 2016). Trois chaînes MCMC indépendantes ont été simulées en parallèle. Pour chaque chaîne, 110 000 tirages ont été produits. Les 10 000 premiers ont été éliminés pour atteindre la convergence (phase de chauffe). Pour limiter l'autocorrélation des itérations, les 100 000 tirages restants ont été affinés en ne conservant qu'un tirage sur vingt. 5 000 tirages ont donc été conservés par chaîne.

L'atteinte de la convergence a été vérifiée en examinant la trace des chaînes MCMC et en calculant la statistique de Gelman et Rubin modifiée par Brooks et Gelman (Brooks and Gelman, 1998) et l'autocorrélation en réalisant le diagnostic de Raftery (Raftery and Lewis, 1992). L'estimation ponctuelle de chaque paramètre a été définie comme la médiane de sa distribution marginale *a posteriori* associée à un intervalle de crédibilité à 95 % défini comme les quantiles à 2,5 et 97,5 % de cette distribution.

## II.3. Interprétation et valorisation des résultats du modèle

### II.3.1 Risques relatifs

Étant donné que les niveaux de séroprévalences sont relativement élevés à la fois à l'échelle intra- et inter-élevage (Partie 1, III.3), nous avons préféré calculer directement les risques relatifs plutôt que les Odd-Ratio qui « surestime » généralement l'effet des variables étudiées dans ce contexte lorsqu'ils sont interprétés comme des risques relatifs (Zhang and Yu, 1998). Pour simplifier la présentation des résultats, les risques relatifs associés à la taille seront calculés pour chaque type de production à partir de la taille médiane de référence et les risques relatifs associés à chaque type de production seront calculés en fixant la taille à sa valeur médiane.

Le risque relatif intra-élevage associé à chaque type de production ( $Prod_x$ ) et noté  $RR_{WHP\_Prod_x}$ . Il est défini par rapport au type de production de référence pour une taille d'élevage médiane comme le rapport entre les séroprévalences intra-élevages prédites par le modèle dans un élevage de type de production  $Prod_x$  et de taille médiane et dans un élevage de type de production de référence et de taille médiane :

$$(2.6) RR_{WHP\_Prod_x} = \frac{\text{inv.logit}(\mu_{WHP\_ref} + \beta_{Prod(Prod_x)})}{\text{inv.logit}(\mu_{WHP\_ref})}$$

Le risque relatif intra-élevage associé à la multiplication par deux de la taille de l'élevage dans chaque type de production est noté  $RR_{WHP\_Size\_Prod_x}$ . Il est défini comme le rapport entre les séroprévalences intra-élevages prédites par le modèle dans un élevage de taille égale à deux fois la médiane et dans un élevage de taille médiane (de même type de production  $Prod_x$ ) :

$$(2.7) RR_{WHP\_Size\_Prod_x} = \frac{\text{inv.logit}(\mu_{WHP\_ref} + \beta_{Prod(Prod_x)} + \beta_{size})}{\text{inv.logit}(\mu_{WHP\_ref} + \beta_{Prod(Prod_x)})}$$

De la même façon, on définit les risques relatifs inter-élevages associés au type de production  $Prod_x$  (noté  $RR_{BHP\_Prod_x}$ ) par rapport au type de production de référence pour une taille d'élevage médiane et le risque relatif inter-élevage associé à la multiplication par deux de la taille de l'élevage dans chaque type de production  $Prod_x$  (noté  $RR_{BHP\_Size\_Prod_x}$ ) selon les formules suivantes :

$$(2.8) RR_{BHP\_Prod_x} = \frac{\text{inv.logit}(\mu_{BHP\_ref} + \beta_{Prod(Prod_x)})}{\text{inv.logit}(\mu_{BHP\_ref})}$$

$$(2.9) RR_{BHP\_Size\_Prod_x} = \frac{\text{inv.logit}(\mu_{WHP\_ref} + \alpha_{Prod(Prod_x)} + \alpha_{size})}{\text{inv.logit}(\mu_{WHP\_ref} + \alpha_{Prod(Prod_x)})}$$

Le risque relatif associé à chaque type de production par rapport à la production de référence (ou à la multiplication par 2 de la taille du cheptel par rapport au cheptel de référence) a été calculé pour chacun des 15 000 échantillons joints de la chaîne MCMC afin d'obtenir un échantillon de sa distribution *a posteriori* jointe. L'estimation ponctuelle et l'intervalle de crédibilité à 95 % du risque relatif sont définis comme la médiane et les quantiles 2,5 et 97,5 % de cette distribution *a posteriori* jointe.

### II.3.2 Distributions des séroprévalences intra- et inter-élevages

Pour chaque type d'élevage, les estimations ponctuelles des séroprévalences inter- et intra-élevages ainsi qu'un intervalle de crédibilité à 95 % des quantiles 5 %, 50 % et 95 % des distributions ont été calculées à partir de la distribution *a posteriori* de l'ensemble des paramètres du modèle.

## II.4. Vérification des hypothèses du modèle et de l'ajustement du modèle aux données

Afin de vérifier la fiabilité des estimations réalisées, des analyses de la robustesse des hypothèses émises (II.2.2) et de la robustesse du modèle ont été menées. Ces analyses concernaient le statut vaccinal inconnu (considéré comme négatif) de certains élevages inclus dans l'étude, l'hypothèse de similarité des séroprévalences intra-élevages entre les départements, la normalité des effets aléatoires du modèle et l'adéquation entre les données observées et celles prédites par les modèles à partir des paramètres estimés.

### II.4.1 Impact de l'incertitude du statut vaccinal

Pour évaluer l'impact de l'inclusion d'élevages de statut vaccinal inconnu, les analyses ont été réalisées sur deux sous-jeux de données supplémentaires : 1) en excluant tous les élevages dont le statut vaccinal était inconnu et 2) en incluant uniquement les élevages de statut vaccinal inconnu. Les estimations obtenues ont été comparées avec celles obtenues avec le jeu de données complet.

### II.4.2 Normalité des effets aléatoires

La normalité des effets aléatoires du modèle a été vérifiée en examinant la distribution de la médiane *a posteriori* de l'ensemble des effets aléatoires attribués dans chaque élevage et chaque département.

### II.4.3 Ajustement du modèle aux données

Afin d'évaluer l'ajustement du modèle aux données, une vérification des prédictions *a posteriori* a été réalisée en estimant la distribution *a posteriori* du nombre d'individus testés positifs dans chaque élevage et en la comparant au nombre observé d'individus testés positifs. Pour ce faire, le nombre d'individus testés positifs prédit a été simulé dans chaque élevage selon la structure du modèle original, à l'aide de JAGS sur R. Les effets aléatoires ajustés à chaque itération sur les données réelles ont été inclus pour simuler les données, car l'objectif était de vérifier si, après estimation des effets fixes et aléatoires, le modèle réussissait à simuler des jeux de données comparables à celui observé. La médiane et l'intervalle de crédibilité à 95 % de la distribution prédite ainsi obtenue ont été comparés graphiquement au nombre observé d'individus testés positifs.

### II.4.4 Similarité des distributions de séroprévalences intra-élevages entre départements

Une hypothèse importante du modèle est que, pour un même type d'élevage (taille et type de production), la distribution des séroprévalences intra-élevages est similaire dans tous les départements. Pour vérifier cette hypothèse, la distribution des séroprévalences apparentes dans chaque département et chaque type de production a été examinée visuellement et un modèle comprenant un effet aléatoire à l'échelle des départements sur la séroprévalence intra-élevage a également été réalisé. Les estimations obtenues avec ce modèle ont été comparées avec celles du modèle original (Cf. Annexes partie 2.I).

### II.4.5 Performance du modèle original et des modèles alternatifs

Les performances du modèle original et de deux modèles alternatifs ont été évaluées par simulation. L'ensemble de la procédure est détaillé en Annexes partie 2.II. Brièvement, nous avons défini 17 scénarios de simulation plausibles dans lesquels les valeurs des paramètres utilisés pour simuler des jeux

de données étaient fixées. Pour chaque scénario, nous avons simulé 100 jeux de données de taille et de structure comparables à celui de l'étude. Ces jeux de données ont ensuite été analysés avec trois modèles différents :

- Le modèle original décrit dans la section II.2.3.
- Un modèle de formulation identique au modèle original, mais avec les distributions *a posteriori* utilisées par Paul et al. 2014 (Paul et al., 2014) c'est-à-dire des lois normales de moyenne 0 et de précision 0,001 pour les moyennes et les effets fixes et des lois gamma (0,01,0,01) pour les précisions des distributions. Ce modèle est nommé « Prior normal ».
- Un modèle similaire au modèle original, mais comprenant à l'échelle des départements un effet aléatoire supplémentaire sur la séroprévalence intra-élevage. Ce modèle est nommé « sd\_dep\_WHP ».

Pour chacun des trois modèles et pour chacun des 17 scénarios de simulation (Annexes partie 2.II), la probabilité de couverture, le biais relatif moyen et l'erreur quadratique moyenne associés à chaque paramètre du modèle ont été calculés.

#### II.4.6 Calcul de puissance

Afin de déterminer la puissance de notre étude et l'ordre de grandeur des risques relatifs minimaux que le modèle est capable de détecter sur un jeu de données similaires à celui de l'étude, un calcul de puissance a été réalisé par simulation.

Pour ce faire, nous avons simulé 100 jeux de données en faisant varier, un à un, pour des valeurs allant de 1/3 à 3, les différents risques relatifs modélisés dans l'étude (risques relatifs liés à la taille de l'élevage et au type de production). Pour chaque valeur de risque relatif non égale à un, utilisée pour simuler les données, la puissance de l'étude a été définie comme la proportion de jeux de données simulées conduisant à l'estimation d'un risque relatif dont l'intervalle de crédibilité ne contenait pas un. Le risque alpha de l'étude a été défini comme la proportion de jeux de données simulés avec un risque relatif égal à 1 conduisant à l'estimation d'un risque relatif dont l'intervalle de crédibilité ne contenait pas un. Les détails de la procédure de réalisation du calcul de puissance sont présentés en Annexes partie 2.III.

### III. Résultats

#### III.1. Séroprévalences apparentes sans prise en compte des Se et Sp du test 2

Ces séroprévalences apparentes correspondent à celles présentées dans l'article de Gache et al. 2017, mais en incluant les facteurs de risques étudiés (type de production et taille de l'élevage).

##### III.1.1 Échelle inter-élevage

Quels que soient l'espèce et le type de production concernés, la proportion de troupeaux testés positifs était variable entre départements. La proportion de troupeaux testés positifs apparaissait systématiquement plus basse chez les troupeaux bovins allaitants que chez les troupeaux bovins laitiers, avec des proportions de troupeaux bovins testés positifs allant de 4 % à 61 % chez les allaitants et de 40 % à 80 % chez les laitiers (Figure C-6, A). Chez les caprins, la proportion de troupeaux testés positifs variait entre 25 % et 82 %. Enfin, les proportions de troupeaux testés positifs variaient dans chaque département et type de production allant de 0 à 100 % pour les troupeaux ovins laitiers, de 33 à 84 % pour les troupeaux ovins de type mixte, de 11 à 100 % pour les troupeaux ovins de type viande (Figure C-6, A).

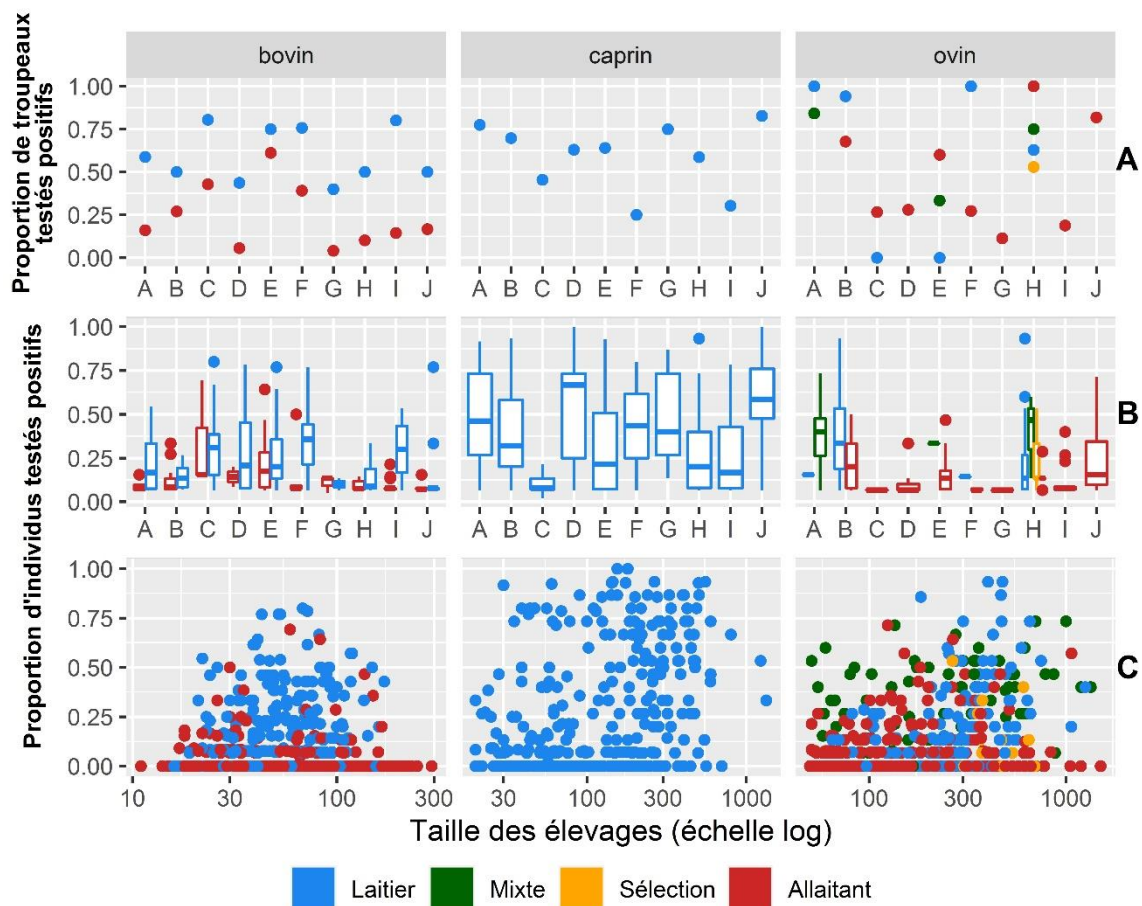


Figure C-6 : Séroprévalences inter- et intra-élevages apparentes.

A : Proportion de troupeaux dont au moins un animal a été testé positif dans chaque département et type de production. B : Boxplot des proportions d'individus testés positifs par élevage dans chaque département coloré en fonction du type de production. C : Nuages de points montrant la proportion d'individus testés positifs dans chaque élevage en fonction de la taille de l'élevage. Les élevages de type de production laitier, mixte, sélection et allaitant sont respectivement colorés en bleu, vert, jaune et rouge.

### III.1.2 Échelle intra-élevage

Dans les trois espèces, lorsque la proportion de troupeaux positifs était faible dans un département, les proportions d'individus testés positifs dans les élevages testés positifs étaient également faibles et correspondent souvent à un unique animal testé positif (Figure C-6, B). Dans les départements où la proportion de troupeaux positifs était plus élevée, les proportions d'individus positifs au sein de chaque élevage étaient variables, mais les distributions étaient homogènes entre départements pour chaque espèce (Figure C-6, B). Chez les caprins, les proportions d'individus testés positifs dans chaque élevage étaient plus élevées que chez les ovins et bovins (Figure C-6B).

Lorsque la taille des élevages augmentait, la proportion d'individus testés positifs dans chaque élevage semblait être plus importante (Figure C-6,C).

## III.2. Distribution des séroprévalences et risques relatifs estimés par le modèle

Les estimations ponctuelles et intervalles de crédibilités de l'ensemble des paramètres du modèle à l'échelle logit sont présentés en Annexes partie 2.IV.

### III.2.1 Comparaison des résultats du test sérologique et des estimations du modèle

Dans toutes les espèces et tous les types de production (sauf les ovins de type « viande »), la médiane



des séroprévalences inter-élevages apparentes (médiane observée) était plus grande que la médiane des séroprévalences réelles (médiane estimée par le modèle) (Tableau C-3). De même, dans tous les espèces et types de production, les médianes des séroprévalences intra-élevages apparentes étaient inférieures aux médianes des séroprévalences réelles estimées par le modèle (Tableau C-3).

Tableau C-3 : Médianes des séroprévalences apparentes (médianes observées) et réelles (médianes estimées par le modèle) pour chaque type de production.

À l'échelle inter-élevage, les médianes observées correspondent aux médianes des proportions d'élevages ayant au moins un animal testé positif, dans chaque département. À l'échelle intra-élevage, les médianes observées correspondent aux médianes des proportions d'animaux testés positifs dans les troupeaux testés séropositifs.

Échelle	Bovin			Caprin			Ovin		
	Type de production	Médiane observée (%)	Médiane estimée (%) [IC à 95 %]	Type de production	Médiane observée (%)	Médiane estimée (%) [IC à 95 %]	Type de production	Médiane observée (%)	Médiane estimée (%) [IC à 95 %]
Inter-élevage	Allaitant	16,3	5,7 [1,5 ; 19,5]	Laitier	63,5	47,1 [25,5 ; 67,2]	Allaitant	28,0	36,7 [5,6 ; 85,5]
							Laitier	78,5	21,6 [1,3 ; 76,2]
	Laitier	54,4	47,9 [20,3 ; 79,2]				Mixte	75,0	32,7 [2,7 ; 87]
							Sélection	52,9	23,5 [1 ; 100]
Intra-élevage	Allaitant	8,3	39,4 [27,3 ; 57]	Laitier	35,7	63,6 [53,4 ; 73,9]	Allaitant	12,5	22,9 [17 ; 31,7]
							Laitier	20,0	36,9 [27,2 ; 48,6]
	Laitier	21,4	38,7 [30,5 ; 49,3]				Mixte	40,0	57,8 [44,5 ; 72]
							Sélection	13,3	18,7 [5,9 ; 52,1]

### III.2.2 Échelle inter-élevage

Le détail des quantiles de la distribution des séroprévalences inter-élevage est détaillé en Annexes partie 2.V. Globalement, dans toutes les espèces et tous les types de production (hormis chez les bovins allaitants) on retrouvait quasiment autant de départements dont plus de la moitié des élevages était réellement séropositive que de départements dont moins de la moitié des élevages était réellement séropositive. (Figure C-7). Par exemple, pour les élevages caprins de taille moyenne (113 chèvres), 54,2 % [27,7 ; 78,8] des départements avaient une proportion d'élevages séropositifs inférieurs à 50 % (et donc 47,8 % supérieur à 50%). Pour les bovins allaitants, 95,8 % [73,0 ; 99,9] des départements avaient une proportion d'élevages séropositifs inférieure à 50 %.

Chez les ovins de tous types de productions, la distribution des séroprévalences inter-élevages était

étalée avec, par exemple chez les ovins allaitants, 32,4% [12,4; 55,9] des départements dont la proportion d'élevages séropositifs était inférieure à 10% et, 32,3% [3,5 ; 47,0] des départements dont la séroprévalence était supérieure à 90% (Figure C-7). Le modèle prédisait donc des situations épidémiologiques contrastées dans les différents départements chez les ovins avec plus de la moitié des départements ayant des proportions d'élevages réellement séropositifs inférieur à 10% ou supérieur à 90%.

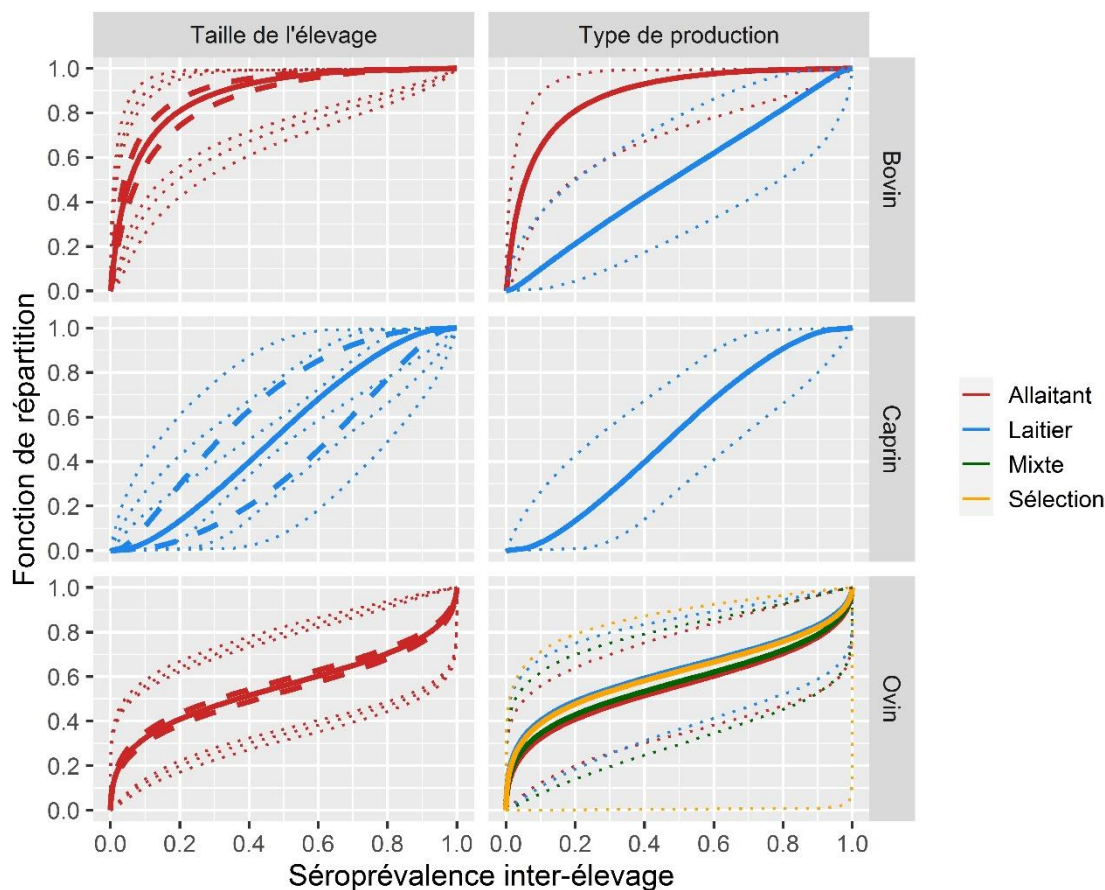


Figure C-7 : Distribution des séroprévalences inter-élevages à l'échelle des départements dans chaque espèce en fonction du type de production et de la taille des élevages.

Estimations ponctuelles (trait épais) et bandes de crédibilité à 95 % (traits pointillés) des fonctions de répartition. La couleur indique le type de production. Les traits épais en tiret correspondent à la fonction de répartition pour des élevages de taille multipliée ou divisée par deux par rapport aux élevages de taille moyenne (en trait plein).

Dans chaque département, les élevages caprins dont la taille est le double de la moyenne avaient un risque d'être séropositifs multiplié par 1,34 [1,16 ; 1,67] et les élevages bovins laitiers de taille moyenne avaient un risque d'être séropositifs multiplié par 7,97 [3,44 ; 22,22] par rapport aux élevages allaitants de même taille (Figure C-9, Tableau C-4). Le risque de séropositivité de ces deux types d'élevage était donc plus élevé par rapport au type de référence.

Pour le risque associé à la taille des élevages, on retrouvait la même tendance pour les élevages bovins et ovins avec un risque d'être séropositifs plus élevé, pour les élevages dont la taille était le double de la moyenne, sans toutefois pouvoir la démontrer (avec des intervalles de crédibilité à 95% comprenant un pour les risques relatifs correspondants) (Figure C-8, Tableau C-4).

Les risques relatifs à l'échelle inter-élevage associés aux types de productions chez les ovins avaient des intervalles de crédibilité très larges qui comprennent tous un (Figure C-9, Tableau C-4), aucun excès de risque de séropositivité à l'échelle inter-élevage n'a été mis en évidence dans notre étude chez les ovins.

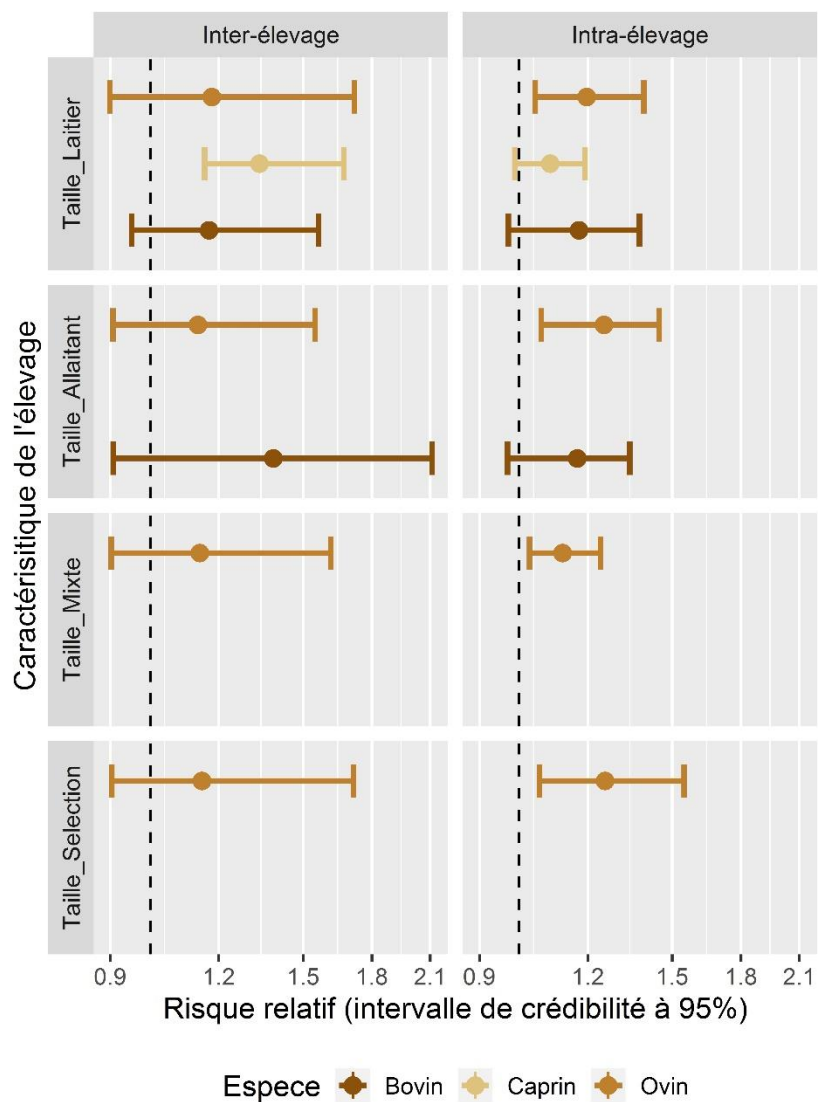


Figure C-8 : Risques relatifs associés à la multiplication par deux de la taille des élevages dans chaque type de production.

Les estimations ponctuelles sont représentées par un point et l'intervalle de crédibilité à 95 % par un segment horizontal. Le trait vertical pointillé correspond à un risque relatif de 1, c'est-à-dire à une absence d'excès de risque par rapport au type de production de référence (élevage allaitant).

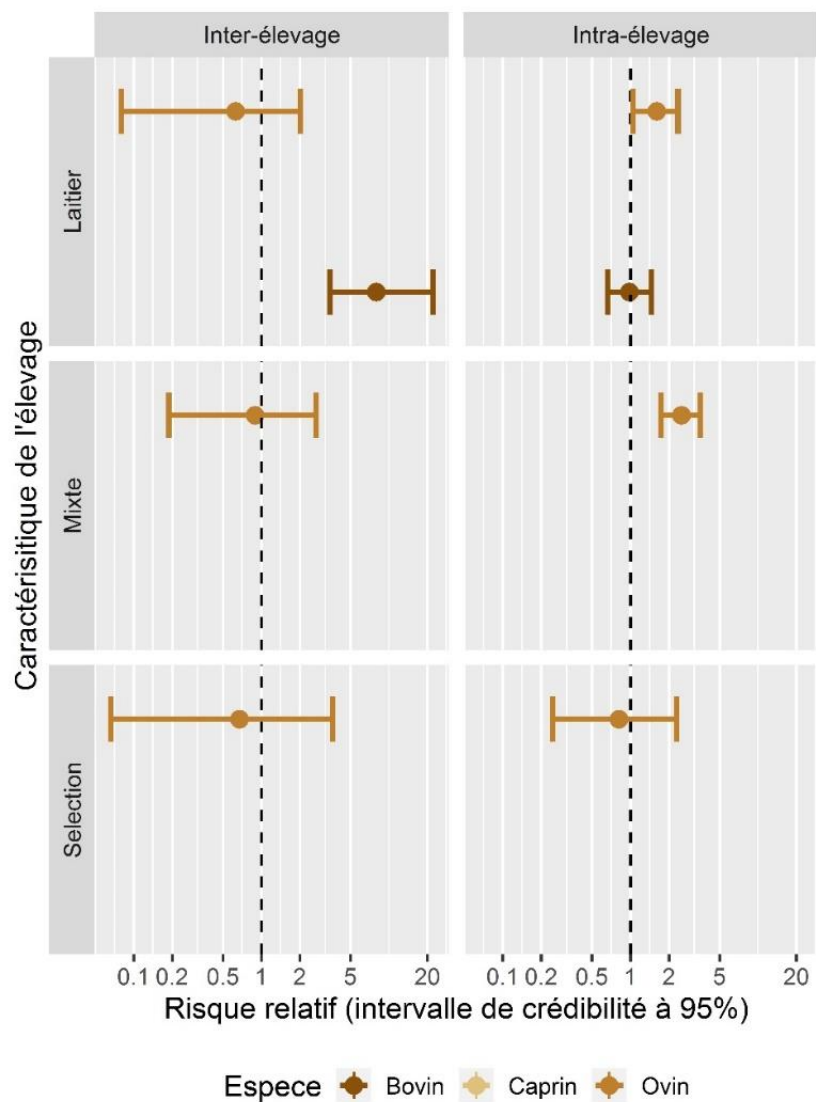


Figure C-9 : Risques relatifs à chaque type de production par rapport à la classe de référence (les élevages de type allaitant pour les ovins et bovins).

Les estimations ponctuelles sont représentées par un point et l'intervalle de crédibilité à 95 % par un segment horizontal. Le trait vertical pointillé correspond à un risque relatif de 1, c'est-à-dire à une absence d'excès de risque par rapport au type de production de référence (élevage allaitant).

Tableau C-4 : Estimation ponctuelle et intervalle de crédibilité à 95 % des risques relatifs associés à chaque type de production et à la taille du troupeau dans chaque espèce. Le risque relatif associé à la taille du troupeau correspond à une multiplication par deux de la taille de l'élevage moyenne dans chaque type de production considéré (égale à 52 bovins, 113 caprins et 182 ovins).

	Bovin		Caprin		Ovin	
Échelle	Facteur de risques	Risques relatifs <sup>a</sup>	Facteur de risques	Risques relatifs <sup>a</sup>	Facteur de risques	Risques relatifs <sup>a</sup>
Inter-élevage	Taille_Allaitant	1,39 [0,91 ; 2,11]	Taille_Laitier	1,34 [1,16 ; 1,67]	Taille_Allaitant	1,13 [0,91 ; 1,55]
	Taille_Laitier	1,17 [0,95 ; 1,56]			Taille_Laitier	1,18 [0,9 ; 1,72]
					Taille_Mixte	1,14 [0,9 ; 1,62]
					Taille_Selection	1,15 [0,9 ; 1,71]
Intra-élevage	Allaitant	*Réf : 5,7 % [1,5 ; 19,5]	Laitier	*Réf : 47,1 % [25,5 ; 67,2]	Allaitant	*Réf : 36,7 % [5,6 ; 85,5]
	Laitier	7,97 [3,44 ; 22,22]			Laitier	0,63 [0,08 ; 2,02]
					Mixte	0,89 [0,19 ; 2,69]
					Sélection	0,67 [0,07 ; 3,63]
Intra-élevage	Taille_Allaitant	1,17 [0,97;1,34]	Taille_Laitier	1,09 [0,99 ; 1,19]	Taille_Allaitant	1,25 [1,06 ; 1,45]
	Taille_Laitier	1,17 [0,97 ; 1,38]			Taille_Laitier	1,2 [1,04;1,39]
					Taille_Mixte	1,12 [1,03 ; 1,24]
					Taille_Selection	1,26 [1,06 ; 1,55]
Intra-élevage	Allaitant	*Réf : 39,4 % [27,3 ; 57,0]	Laitier	*Réf : 63,8 % [52,8 ; 75,1]	Allaitant	*Réf : 22,9 % [17,0 ; 31,7]
	Laitier	0,98 [0,67 ; 1,46]			Laitier	1,61 [1,05 ; 2,36]
					Mixte	2,51 [1,75 ; 3,54]
					Sélection	0,81 [0,25;2,3]

\* Dans le type de production de référence, la médiane et son IC à 95 % de la distribution des séroprévalences inter- ou intra-élevages sont inscrites en italique. <sup>a</sup> : Les risques relatifs étant dépendant de la séroprévalence dans la classe de référence, ceux associés au doublement de la taille de l'élevage sont calculés et présentés dans chaque type de production et ceux associés au type de production sont calculés pour une taille d'élevage moyenne.

### III.2.3 Échelle intra-élevage

Quels que soient l'espèce et le type de production considérés, la séroprévalence intra-élevage était variable avec à la fois une proportion importante d'élevages à faible et forte séroprévalence (Figure C-10). Par exemple, 40 % des élevages caprins séropositifs de taille moyenne comprenaient moins de 27,9% [19,0 ; 39,0] ou plus de 88,9% [82,0 ; 94,3] d'individus réellement séropositifs (Figure C-10, Annexes partie 2.V.).

Les élevages caprins séropositifs du double de la taille moyenne avaient tendance à avoir des séroprévalences intra-élevages plus élevées que les élevages séropositifs de taille moyenne (RR : 1,09 [0,99 ; 1,19]) (Figure C-8, Tableau C-4).

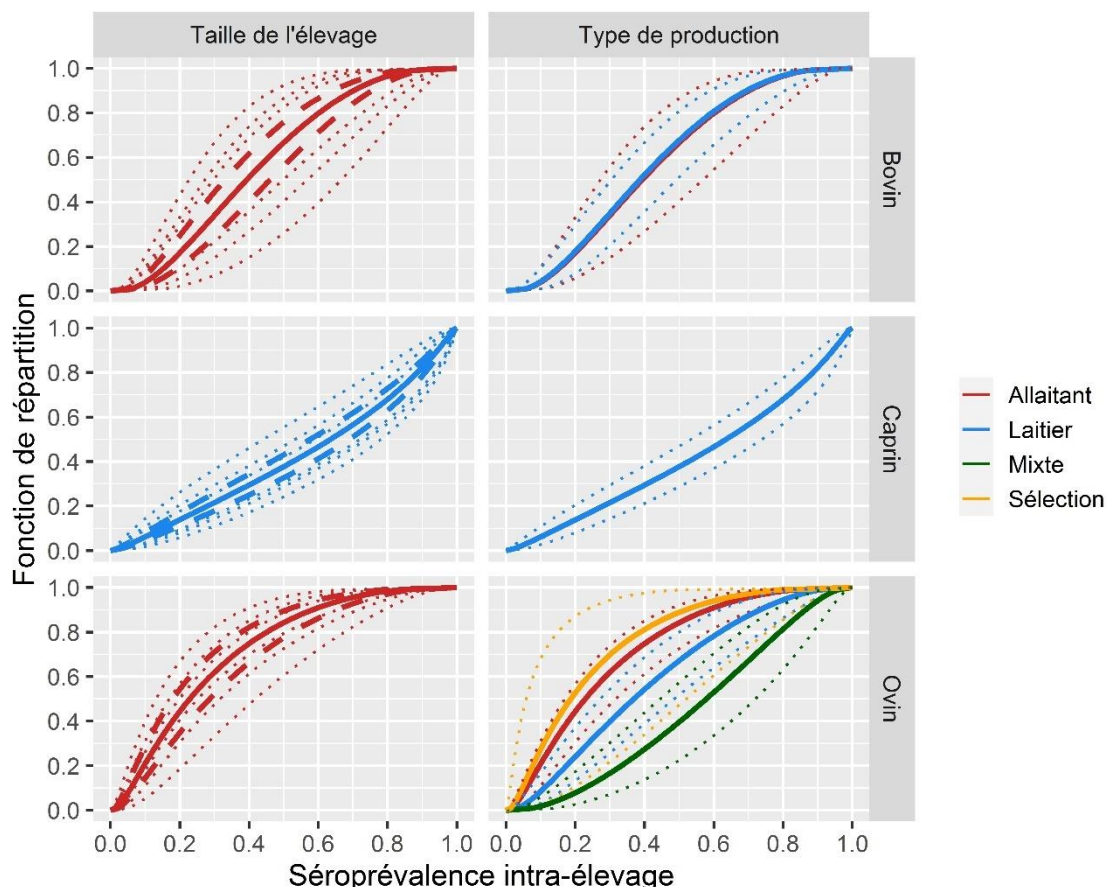


Figure C-10 : Distribution des séroprévalences intra-élevages des élevages séropositifs dans chaque espèce en fonction du type de production et de la taille des élevages.

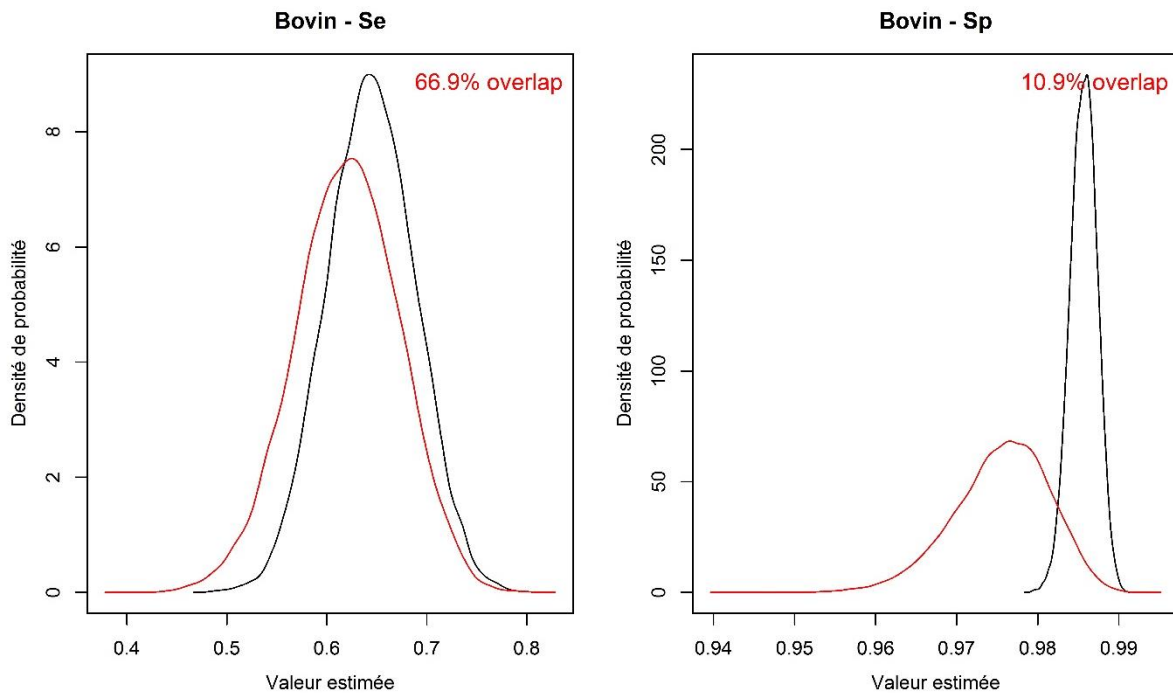
Estimations ponctuelles (traits épais) et bandes de crédibilité à 95 % (traits pointillés) des fonctions de répartition. La couleur indique le type de production. Les tirets correspondent à la fonction de répartition pour des élevages de taille multipliée ou divisée par deux par rapport aux élevages de taille moyenne (trait plein).

À taille identique, les distributions des séroprévalences intra-élevages chez les bovins allaitants et laitiers étaient similaires (Figure C-10) et, lorsque leur taille était multipliée par deux, leur séroprévalence intra-élevage avait tendance à être plus élevée (multipliée par 1,17 [0,97 ; 1,34] chez les allaitants et 1,17 [0,97;1,38] chez les laitiers) (Figure C-8, Tableau C-4).

Quel que soit le type de production, les risques relatifs associés à la multiplication par deux des tailles des élevages ovins étaient supérieurs à un, les élevages ovins de taille plus élevée avaient donc des séroprévalences intra-élevages plus élevées. Enfin, les élevages de type laitier (respectivement de type mixte) avaient une séroprévalence multipliée par 1,61 IC à 95 % [1,05 ; 2,36] (respectivement 2,51 à 95 % [1,75 ; 3,54]) par rapport aux allaitants (Figure C-9, Tableau C-4).

### III.2.4 Sensibilité et spécificité estimées

Concernant les Se et Sp, quelle que soit l'espèce considérée, les intervalles de crédibilité à 95 % *a priori* et *a posteriori* se recoupaient (Figure C-11, Figure C-12 et Figure C-13). Cependant, les estimations ponctuelles *a posteriori* des Se dans les trois espèces et des Sp chez les bovins et ovins étaient légèrement plus élevées *a posteriori* et les estimations des Sp chez les caprins étaient légèrement plus basses *a posteriori*. Cela suggère que l'estimation des séroprévalences a permis de préciser les estimations des Se et Sp du test 2.



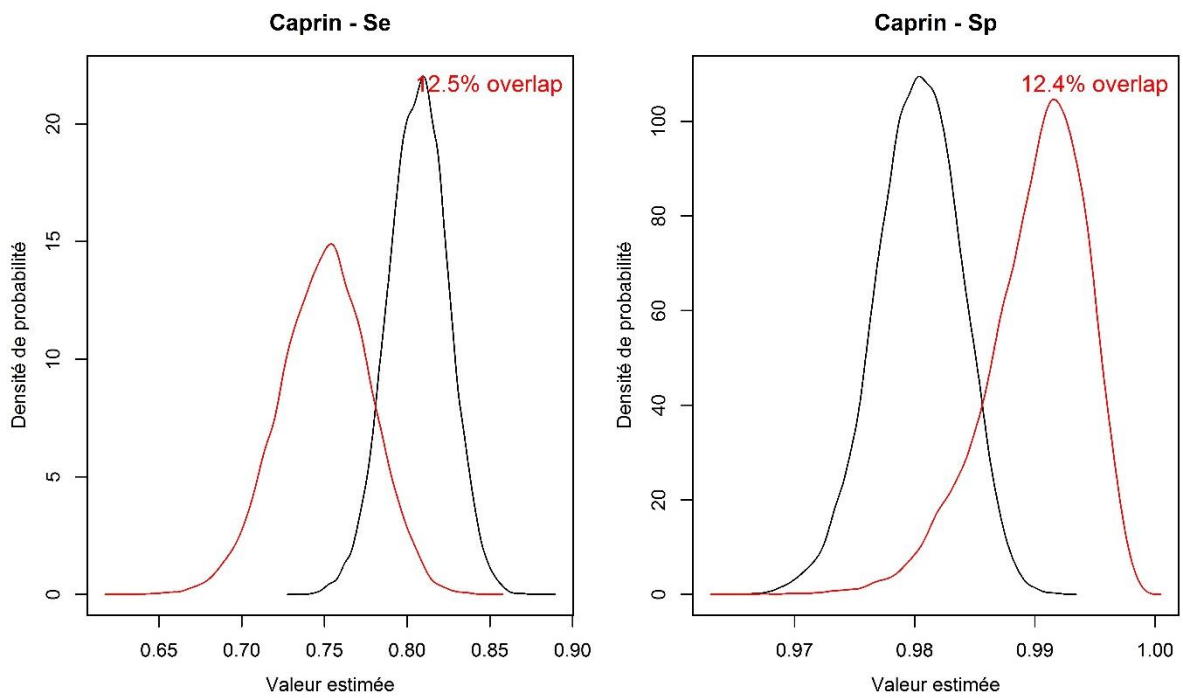


Figure C-12 : Densité des distributions a priori (en rouge) et a posteriori (en noir) de la sensibilité et la spécificité du test 2 chez les caprins  
Le pourcentage inscrit sur les graphiques correspond au pourcentage de recouvrement (overlap) entre les deux distributions.

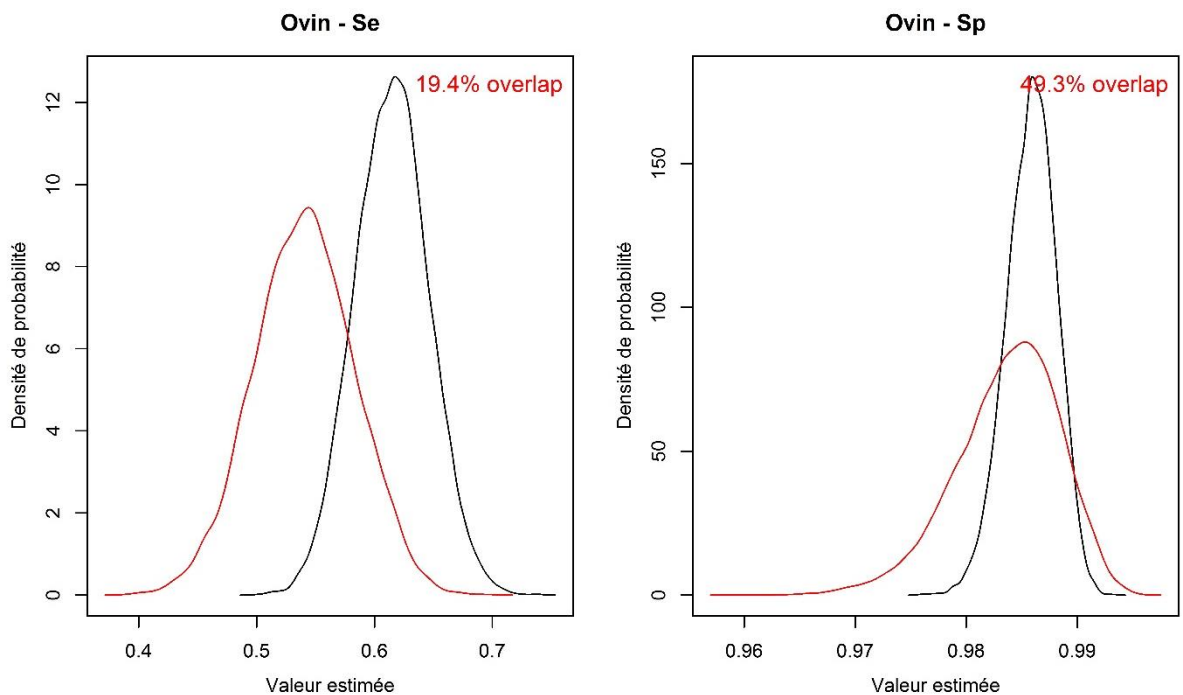


Figure C-13 : Densité des distributions a priori (en rouge) et a posteriori (en noir) de la sensibilité et la spécificité du test 2 chez les ovins.  
Le pourcentage recouvrement (overlap) entre les deux distributions est indiqué en rouge.



### III.3. Vérification des hypothèses du modèle

#### III.3.1 Impact de l'inclusion des élevages de statut vaccinal inconnu

Les estimations de tous les paramètres du modèle obtenues à partir des trois sous-jeux de données différents (jeu de données complet, seulement les troupeaux de statuts vaccinaux inconnus et seulement les troupeaux de statuts vaccinaux connus) étaient similaires. Les intervalles de crédibilité à 95 % obtenus avec l'ensemble des données étaient les plus étroits (Figure C-14). L'inclusion des élevages de statut vaccinaux inconnus ne modifiait pas les estimations ponctuelles du modèle, mais permettait d'obtenir des intervalles de crédibilité plus étroits.

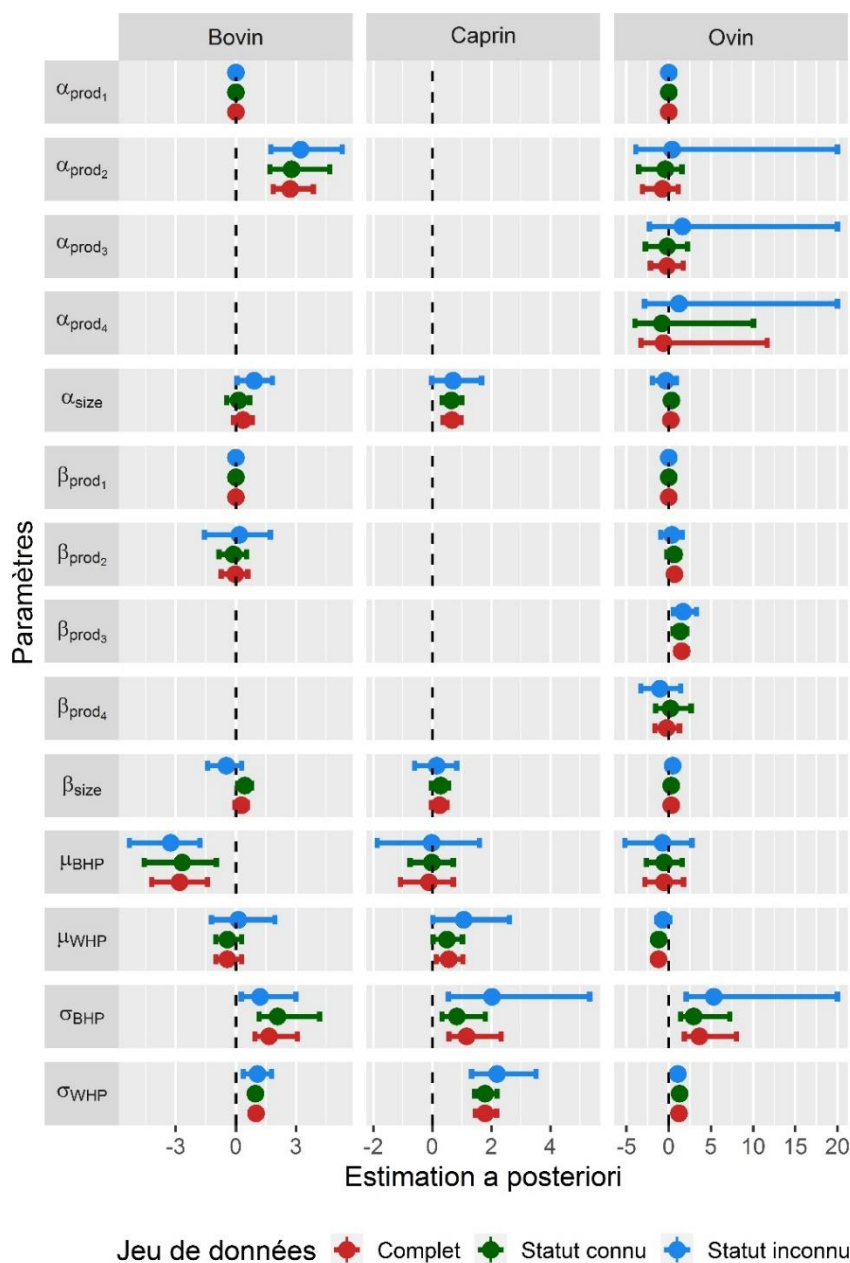


Figure C-14 : Estimations en fonction de la connaissance ou non du statut vaccinal des troupeaux. Estimations ponctuelles (points) et intervalles de crédibilité à 95 % (traits pleins) des paramètres du modèle obtenus sur trois jeux de données différents : en rouge (« Complet ») le jeu de données complet avec les troupeaux non vaccinés et les troupeaux de statuts vaccinaux inconnus, en vert (« statut connu ») uniquement les troupeaux non vaccinés et en bleu (« statut inconnu ») uniquement les troupeaux de statuts vaccinaux inconnus.

### III.3.2 Normalité des effets aléatoires

La distribution des médianes des effets aléatoires des séroprévalences inter-élevages estimées par le modèle pour chaque département semblait assez proche de la normalité avec une position de l'ensemble des médianes des effets aléatoires proche de la diagonale du diagramme quantile-quantile (Figure C-15, A).

Chez les bovins et caprins, excepté pour les élevages à faible probabilité d'être séropositifs qui avaient une médiane proche de 0, la distribution des médianes des effets aléatoires des séroprévalences intra-élevages estimée par le modèle pour chaque élevage était relativement homogène dans tous les départements. Chez les ovins, la distribution était similaire, mais peu homogène entre départements (Figure C-15, B).

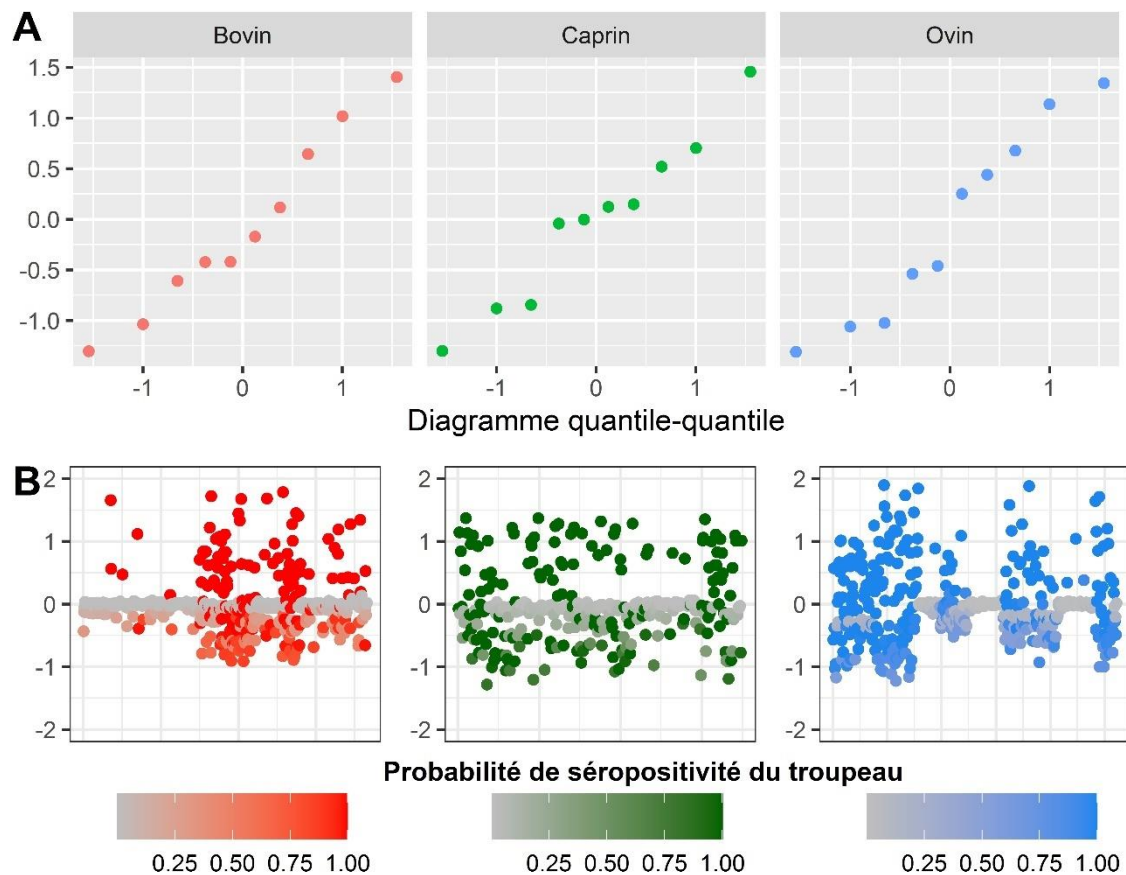


Figure C-15 : Distributions des effets aléatoires aux échelles intra- et inter-élevages.

A : QQplot des médianes a posteriori des intercepts aléatoires centrés et réduits correspondant à la distribution des séroprévalences inter-élevages ( $\alpha_{0,j}$ ) attribuées à chaque département, respectivement colorés en rouge, vert et bleu pour les bovins, caprins et ovins.

B : Distribution des médianes a posteriori des intercepts aléatoires correspondant à la distribution des séroprévalences intra-élevages ( $\beta_{0,ij}$ ) attribuées à chaque élevage. Chaque point correspond à un élevage et est coloré en fonction d'un gradient de couleur, correspondant à la probabilité moyenne prédite de séropositivité de chaque élevage (moyenne de la distribution a posteriori de  $Herdstatus_{ij}$ ), allant de gris pour une probabilité moyenne nulle, à rouge, bleu ou vert (respectivement chez les bovins, caprins et ovins) pour une probabilité moyenne égale à un.

### III.3.3 Ajustement du modèle aux données observées

L'ajustement du modèle aux données observées semblait acceptable. La valeur observée du nombre d'individus testés positifs dans chaque élevage était contenue dans la quasi-totalité des intervalles de crédibilité à 95 % prédits par les modèles (Figure C-16). Les seules exceptions concernaient un élevage caprin et trois élevages ovins dont le nombre observé d'individus testés positifs était supérieur à la borne supérieure de l'intervalle de crédibilité à 95 % prédit par le modèle.

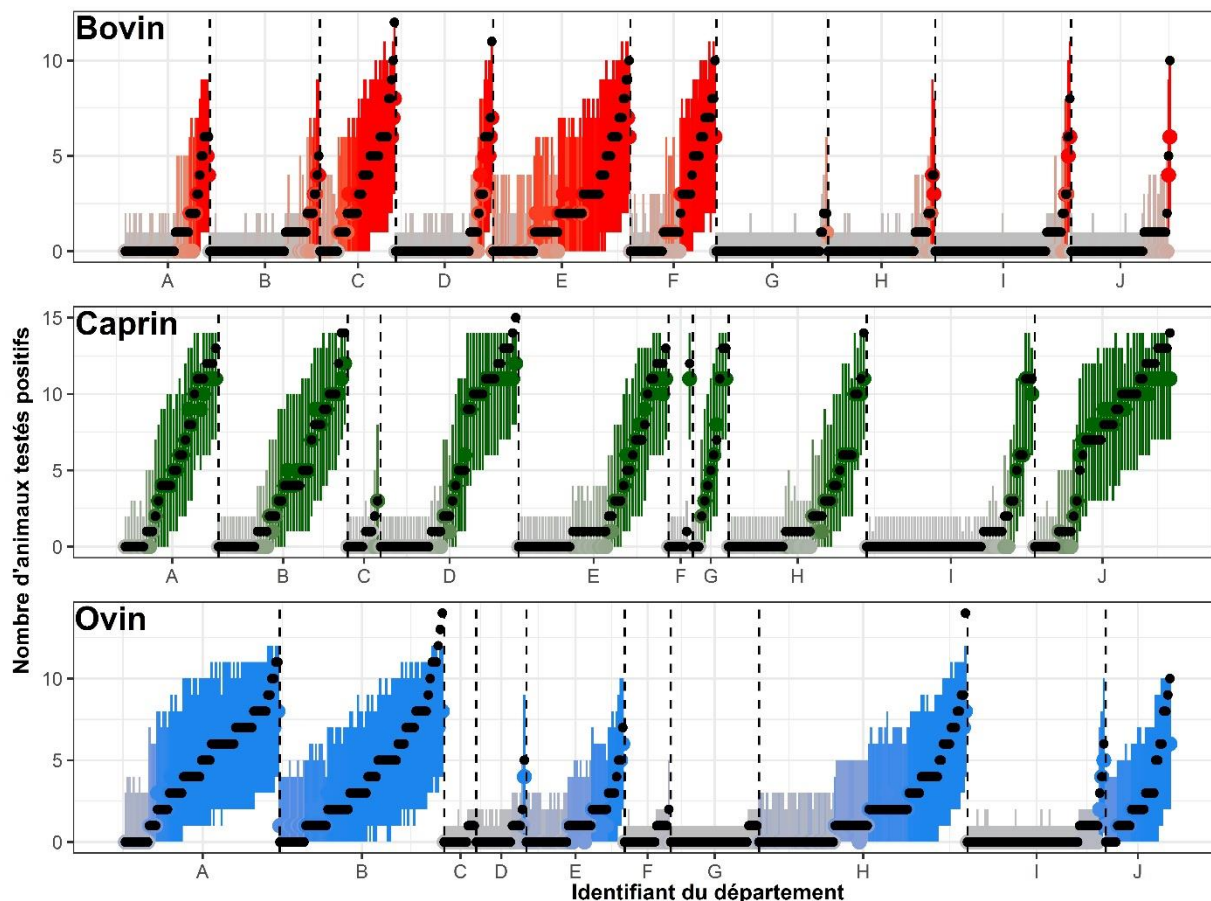


Figure C-16 : Ajustement des prédictions du modèle aux données observées.

Distribution a posteriori du nombre d'individus positifs dans chacun des élevages inclus dans l'étude après prise en compte des facteurs de risque et des interceptes aléatoires de chaque élevage et de chaque département. Dans chaque espèce, les élevages sont classés en abscisse en fonction de leur département d'origine (indexée de A à J) puis du nombre d'individus positifs observés parmi ceux prélevés. Les points noirs correspondent aux données observées, les points (respectivement les traits) de couleur correspondent à la médiane (respectivement l'intervalle de crédibilité à 95 %) de la distribution a posteriori du nombre d'individus positifs dans chaque élevage. Les points et traits sont colorés en fonction d'un gradient de couleur, correspondant à la probabilité prédite moyenne de séropositivité de chaque élevage (moyenne de la distribution a posteriori de  $Herdstatus_{ij}$ ), allant de gris pour une probabilité moyenne nulle à rouge, bleu ou vert, respectivement chez les bovins, caprins et ovins, pour une probabilité moyenne égale à 1.

### III.3.4 Hypothèse d'une distribution identique des séroprévalences intra-élevages des élevages positifs dans tous les départements

Les estimations réalisées avec le modèle comprenant un effet aléatoire supplémentaire dans chaque département à l'échelle de la distribution des séroprévalences intra-élevages étaient quasiment identiques à celles réalisées avec le modèle original (Annexes partie 2.I).

Les performances des modèles avec ou sans l'ajout d'un effet aléatoire département sur la prévalence intra-élevage étaient satisfaisantes dans les trois espèces avec des biais moyens faibles et des

probabilités de couverture satisfaisantes (Annexes partie 2.II.4).

Dans le scénario de simulation où un effet aléatoire était utilisé pour simuler les données (Scénario 2, Annexes partie 2.II.3), les performances du modèle comprenant l'effet aléatoire supplémentaire étaient meilleures que celles du modèle original ; par exemple, on observait chez les caprins un biais relatif moyen égal 0,019, une erreur quadratique moyenne de 0,064 et une probabilité de couverture moyenne égale à 93,62 % pour le modèle avec effet aléatoire supplémentaire alors que ces valeurs sont respectivement 0,026, 0,064 et 91,25 % pour le modèle original (Annexes partie 2.II.4). Dans tous les autres scénarios de simulation, le modèle alternatif estimait un écart-type de l'effet aléatoire supplémentaire proche de ce qui était estimé à partir des données de l'étude alors que cet écart-type était fixé à 0 pour réaliser les simulations des données (Annexes partie 2.II.4).

Enfin, à l'échelle de l'ensemble des 17 scénarios de simulation, le modèle original était plus performant que celui comprenant l'effet aléatoire supplémentaire avec, par exemple chez les caprins, un biais relatif moyen de 0,00, une erreur quadratique moyenne de 0,20 et une probabilité de couverture de 91,04 % (respectivement 0,01, 0,22 et 90,95 % pour le modèle comprenant l'effet aléatoire supplémentaire) (Annexes partie 2.II.4).

### III.3.5 Justesse du modèle et conséquences du choix des distributions *a priori*

#### III.3.5.1 Performance du modèle en fonction des différents scénarios de simulation

Sur l'ensemble des 17 scénarios de simulation, le modèle original avait des performances satisfaisantes dans les trois espèces de ruminants, avec une moyenne des biais relatifs moyens variant de 0,00 chez les bovins et 0,05 chez les ovins et caprins ; une moyenne des erreurs quadratiques moyennes variant de 0,2 chez les bovins à 1,34 chez les ovins ; et une moyenne des probabilités de couverture variant de 91,04 % chez les bovins à 85,02 % chez les caprins (Annexes partie 2.II.4).

Parmi les 17 scénarios de simulation, ceux sur lesquels le modèle original était le moins performant sont les scénarios 3, 6 et 13 correspondants aux scénarios dans lesquels la moyenne de la séroprévalence :

- intra-élevage était plus grande de deux écarts-types (scénario 3) ;
- intra-élevage était plus petite de deux écarts-types (scénario 6) ;
- inter-élevage était plus petite de deux écarts-types (scénario 13).

Dans le scénario 3, le modèle avait tendance à sous-estimer la moyenne de la distribution des séroprévalences intra-élevages. Dans le scénario 6, le modèle avait tendance à surestimer la moyenne de la distribution des séroprévalences intra-élevages et à sous-estimer la moyenne de la distribution des séroprévalences inter-élevages. Dans le scénario 13, le modèle avait tendance à surestimer la moyenne de la séroprévalence intra-élevage (figures 3, 4 et 5 de l'Annexes partie 2.II.4).

#### III.3.5.2 Choix des distributions *a priori* incluses dans le modèle

Même si les biais relatifs moyens et les probabilités de couverture du modèle *a priori* « normal » étaient proches du modèle original utilisant des distributions de Cauchy, les erreurs quadratiques moyennes étaient systématiquement plus élevées pour le modèle « Prior normal » que pour le modèle original avec en moyenne sur l'ensemble des 17 scénarios une erreur quadratique moyenne de 0,20 chez les bovins, 0,28 chez les caprins et 1,34 chez les ovins pour le modèle original contre, respectivement, 2,07, 2,00 et 52,94 pour le modèle « Prior normal ».

### III.3.6 Calcul de puissance

L'ensemble des puissances de l'étude pour chaque facteur de risque et pour chaque valeur utilisée pour réaliser les simulations sont présentées dans les tableaux C1, C2 et C3 respectivement chez les bovins, caprins et ovins.

Globalement, chez les bovins et caprins, la puissance de notre étude était suffisante (supérieurs à 80%) pour identifier des risques relatifs compris entre 1/3 et 3, quel que soit le facteur de risques considérés. Les niveaux de risques relatifs identifiables avec une puissance supérieure à 80% étaient variables en fonction des facteurs de risques considérés allant de niveau relativement faible comme 1,25 pour l'effet de la taille chez les caprins à des niveaux plus élevés comme 2,41 pour le type de production laitier chez les bovins.

Chez les ovins la puissance de notre étude était suffisante (supérieurs à 80%) pour identifier des risques relatifs compris entre 1/3 et 3 uniquement pour les facteurs de risques associés à la taille de l'élevage aux échelles inter- et intra-élevages et ceux associés au type de production laitier et mixte à l'échelle intra-élevage. Les facteurs de risques associés à chaque type de production à l'échelle inter-élevage et ceux associés au type de production sélection à l'échelle inter-élevage n'étaient pas identifiables avec une puissance suffisante parmi les niveaux de risques relatifs simulés.

## IV. Discussion

À notre connaissance, cette étude est la première à estimer de façon simultanée les distributions des séroprévalences intra et inter-élevages des infections par *C. burnetii* chez les trois espèces de ruminants domestiques en prenant en compte l'incertitude du test diagnostique utilisé. Les performances du modèle utilisé ont été évaluées par simulation et cette étude fournit une estimation non biaisée des séroprévalences réelles aux échelles inter- et intra-élevages et de leur variabilité respective dans l'ensemble des départements et des élevages. Cette étude apporte de nouvelles connaissances sur la situation épidémiologique de la fièvre Q dans les dix départements français concernés. Dans un premier temps, nous discuterons de la représentativité des données, puis des estimations fournies par le modèle et enfin de la validité du modèle utilisée sur le jeu de données de l'étude.

### IV.1. Représentativité des données et extrapolation des résultats

#### IV.1.1 Échantillonnage des animaux et des élevages

Les données analysées dans cette étude proviennent d'élevages non vaccinés contre la fièvre Q sélectionnés de façon aléatoire dans chaque département. Au sein de ces élevages, les animaux étaient sélectionnés à la convenance du vétérinaire et avec le consentement de l'éleveur, mais il était demandé de ne pas cibler les femelles ayant avorté ou présentant des troubles de la reproduction. Ce choix devait permettre d'éviter une surestimation de la séroprévalence intra-élevage liée au prélèvement prioritaire d'animaux à risque augmenté d'être séropositif. Néanmoins, le respect du protocole n'a pas pu être vérifié et il est probable qu'un certain nombre de femelles ayant présenté de trouble de reproduction aient été prélevées, pour convaincre les éleveurs à participer en échange d'un dépistage fièvre Q.

Malgré tout, cette enquête n'avait pas été réalisée pour estimer spécifiquement les séroprévalences inter ou intra-élevages dans un contexte abortif. Il est donc probable que les niveaux de séroprévalence et leurs variabilités estimées dans cette étude diffèrent de ceux présents dans des élevages avec des manifestations cliniques de fièvre Q.

#### IV.1.2 Méthode de sélection des 10 départements inclus

Les dix départements inclus dans l'étude ont été choisis afin de disposer d'une bonne représentation des trois espèces de ruminants domestiques (bovin, caprin, ovin), et de la diversité des types de production (laitier/allaitant). L'ensemble des départements inclus permet d'obtenir des estimations des paramètres du modèle représentant la majeure partie des types de production dans chaque espèce, voir des pratiques zootechniques en ciblant des types d'élevages similaires de départements et régions différentes. Le mode de sélection des départements, visant la diversité des types de

production, peut également entraîner une surestimation de la variabilité des séroprévalences inter- ou intra-élevage en donnant plus d'importance à certains types de production moins présents en France. Par exemple, les élevages ovins ayant une production laitière (type de production laitière ou mixte) représentent 41,3% des troupeaux inclus dans notre étude alors qu'ils ne représentent que 9 à 11% (respectivement en 2010 et 2017) à l'échelle de la France (IDELE and CNE, 2020).

Pour être inclus dans l'étude, ces départements devaient également avoir un taux de déclaration des avortements supérieur à la moyenne chez les bovins par rapport aux autres départements afin de faciliter le volet clinique adossé à l'enquête sérologique (Gache et al., 2017). Le biais sur l'estimation des séroprévalences potentiellement induit par l'inclusion non aléatoire de départements ayant un taux de déclaration d'avortement plus élevé est probablement limité, car les principaux facteurs associés à un meilleur taux de déclaration (type de production viande et taille des élevages (Bronner et al., 2013)) sont pris en compte dans les modèles de régression logistique multivariée implémentés dans cette étude.

#### IV.1.3 Conséquences de l'exclusion des troupeaux vaccinés contre *C. burnetii*

Étant donné que les deux vaccins commercialisés, au moment de l'étude, en France et en Europe chez les ruminants domestiques entraînent le développement d'une immunité humorale (Arricau-Bouvery et al., 2005; Muleme et al., 2017) et donc la présence d'anticorps vaccinaux dirigés contre *C. burnetii*, nous avons exclu de l'étude tous les troupeaux vaccinés contre *C. burnetii* au cours des 5 années précédant la réalisation des prélèvements. En filière ovine et caprine, du fait de leur longévité moindre qu'en filière bovine, notamment allaitante, cette durée de 5 ans permet dans la grande majorité des cas de n'avoir plus aucun animal ayant été vacciné au cours de sa vie au moment du prélèvement. Dans les élevages bovins, on ne peut pas exclure qu'il y ait, dans les troupeaux sélectionnés, des animaux ayant été vaccinés étant génisses et toujours présents dans l'élevage au moment des prélèvements. Ces cas sont probablement minoritaires et l'exclusion des troupeaux vaccinés nous permet donc d'estimer les séroprévalences intra- et inter-élevages dues à des infections passées ou en cours sans interférence de la vaccination potentielle sur les résultats du test ELISA utilisé dans l'étude.

Si la vaccination est mise en place en réponse à une circulation de *C. burnetii* dans l'élevage, il est possible que l'exclusion des troupeaux vaccinés ait entraîné une sous-estimation de la proportion d'élevages réellement séropositifs dans ces départements. À l'inverse, si la vaccination est mise en place de façon préventive, avec pour effet de réduire les risques d'introduction et de maintien de l'infection par *C. burnetii* dans l'élevage, le fait d'exclure les troupeaux vaccinés a pu entraîner une surestimation de la proportion d'élevages réellement séropositifs. Dans l'ensemble, le risque de biais lié à l'exclusion des troupeaux vaccinés est probablement limité, car peu d'élevages de ruminants domestiques sont vaccinés contre *C. burnetii* en France. En outre, pour les élevages de petits ruminants vaccinés avec le vaccin bivalent Chlamyvac FQ®, il est probable que la maladie ciblée en première intention soit la chlamydie abortive et non la fièvre Q.

Enfin, nous avons choisi de conserver dans l'étude les troupeaux de statuts vaccinaux inconnus, du fait de leur nombre (161 élevages bovins, 55 caprins et 115 ovins), avec le risque que ces élevages aient, en fait, été vaccinés (il n'était pas possible de savoir si l'absence de ce commémoratif était due simplement au non-report de l'information sur le papier ou à l'absence de contrôle du statut par le vétérinaire). Le biais potentiel lié à ces élevages a été évalué en estimant l'ensemble des paramètres du modèle d'une part dans les troupeaux non vaccinés et d'autre part dans les troupeaux de statut vaccinal inconnu. Les résultats montrent une absence de différence significative entre les estimations des paramètres obtenus à partir de ces deux sous-populations avec cependant des intervalles de crédibilité légèrement plus larges que ceux obtenus à partir du jeu de données complet (Figure C-14). Ces éléments sont en faveur d'une absence de biais et de l'obtention d'estimations plus précises lors de l'inclusion des élevages de statut vaccinal inconnu. L'inclusion de tous les élevages permet ainsi un gain de puissance.

#### IV.1.4 Extrapolation des données

Du fait de l'impact limité des biais potentiels identifiés, les estimations obtenues avec notre échantillon d'étude peuvent raisonnablement être extrapolées à l'ensemble des élevages, non vaccinés, des 10 départements prélevés.

L'extrapolation des résultats obtenus à l'échelle de la France métropolitaine, peut être réalisée dans la mesure où :

- la représentativité relative des types d'élevages en France est conservée ;
- la modélisation des distributions à l'échelle inter- et intra-élevage à l'aide de deux effets aléatoires qui permet d'inférer les gammes de séroprévalences attendues dans les élevages séropositifs et les départements est réalisée, ce qui est le cas ici ;
- les effets fixes des facteurs de risques évalués dans cette étude sont similaires dans les autres départements non inclus dans l'étude.

Idéalement, ce jeu de données devrait être complété par des prélèvements réalisés dans d'autres départements pour vérifier l'adéquation des effets aléatoire et fixe à l'échelle de l'ensemble du territoire français.

#### IV.2. Définition du statut latent et interprétation épidémiologique

En prenant en compte l'incertitude diagnostique du test utilisé, cette étude tente de modéliser la séroprévalence réelle vis-à-vis des infections par *C. burnetii*. Pour rappel, à l'échelle individuelle, le statut modélisé correspond au statut latent de l'animal « réellement séropositif ou réellement séronégatif » qui correspond à « la présence vs l'absence d'anticorps spécifiques de *C. burnetii* dans l'échantillon de sérum ». Ainsi, un individu réellement séropositif est un individu dont le sérum contient des anticorps dirigés contre *C. burnetii* en lien avec une infection présente ou passée (en supposant l'absence d'animaux ayant été vaccinés). À l'inverse, un individu réellement séronégatif est un individu qui n'a jamais été infecté par la bactérie, ou qui a été infecté il y a suffisamment longtemps pour que les anticorps ne soient plus détectables par le test.

Cette définition suppose que tout individu infecté par *C. burnetii* produit des anticorps contre la bactérie même si le test sérologique utilisé n'est pas forcément capable de les détecter (en lien avec sa sensibilité). Si cette hypothèse est vérifiée, alors la prévalence intra-élevage peut être interprétée comme la proportion d'animaux de l'élevage ayant été infectée par *C. burnetii* au cours de leur vie. En revanche, si une part importante des individus ne développe pas de réponse humorale ou que la réponse humorale ne perdure pas à la suite d'une infection par *C. burnetii*, ce qui est plausible puisqu'il s'agit d'une bactérie intracellulaire stricte, alors la séroprévalence intra-élevage ne représente pas la proportion d'individus ayant été infectés par *C. burnetii*. Néanmoins, le modèle estime qu'une proportion non négligeable d'élevages a une séroprévalence réelle supérieure à 95 % dans les trois espèces (Figure C-7). On peut donc supposer que la quasi-totalité des individus infectés de ces élevages est censée être réellement séropositive et donc que peu d'individus ne produisent pas de réponse humorale après l'infection. En revanche, étant donnée la Se modérée des tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii*, tous les individus réellement séropositifs ne sont pas détectés par ces tests sérologiques.

À l'échelle de l'élevage, un troupeau a été défini comme réellement séropositif si au moins un animal était réellement séropositif. Ainsi, la séroprévalence inter-élevage correspond à la proportion d'élevages comprenant au moins un animal ayant été infecté au cours de sa vie par *C. burnetii*. Elle peut être extrapolée à la proportion d'élevages dans lesquels *C. burnetii* circule ou a circulé, même s'il est possible que, dans certains élevages à faible séroprévalence intra-élevage, les quelques animaux réellement séropositifs présents aient été introduits alors qu'ils n'étaient plus infectés.

### IV.3. Estimation des séroprévalences inter et intra-élevages

La prise en compte de l'incertitude diagnostique aboutit à des estimations de séroprévalences intra-élevages réelles plus élevées que celles apparentes, mais à des séroprévalences inter-élevages réelles plus faibles (Gache et al., 2017) (Tableau C-3). La prise en compte de la sensibilité modérée du test sérologique (Se = 60 %, 75 % et 53 % respectivement chez les bovins, caprins et ovins) a permis de corriger la séroprévalence apparente en prenant en compte la présence d'individus faussement négatifs dans les élevages séropositifs. La prise en compte de la spécificité imparfaite du test (Sp = 97,5 %, 99 % et 98,4 % respectivement chez les bovins, caprins et ovins) a permis de limiter le nombre de troupeaux faussement considérés comme séropositifs à cause de la présence d'un faible nombre d'individus faux positifs dans l'élevage. La prise en compte de l'imperfection du test en fonction de l'espèce permet ainsi d'obtenir une estimation plus pertinente d'un point de vue épidémiologique, avec moins d'élevages séropositifs qui cependant, incluaient plus d'animaux séropositifs.

La variabilité des séroprévalences estimées d'un élevage à l'autre (intra-élevages) et d'un département à l'autre (inter-élevages) est importante (Figure C-7 et Annexes partie 2.IV. ), ce qui souligne la diversité des contextes épidémiologiques en élevage de ruminants domestiques, en France. Chez les ovins, cette variabilité est particulièrement marquée entre les différents départements et on retrouve une grande proportion de départements à faible et forte séroprévalences inter-élevages. On note également, quel que soit le type de production, des médianes des séroprévalences inter-élevages plus basses que chez les caprins et bovins laitiers (Tableau C-3). Cette grande variabilité, associée à des médianes plus faibles, pourrait être expliquée par une proportion d'élevage séropositif plus faible dans la plupart des départements chez les ovins, exceptés dans certains départements de l'étude où les animaux de plusieurs troupeaux sont mis en estive sur des pâturages communs. Dans ces départements, le mélange des troupeaux en estive favoriserait la dissémination de la bactérie dans les différents élevages si elle est présente. Cela entraînerait une séroprévalence inter-élevage forte dans certains départements, alors qu'elle est plus faible dans la plupart des autres départements où *C. burnetii* est absente ou dans lesquels il y a moins d'échanges entre les différents élevages ovins.

La proportion de troupeaux séropositifs était semblable à l'échelle des dix départements chez les caprins (médiane 47,1 %) et bovins laitiers (47,9 %) alors qu'elle était plus faible chez les bovins allaitants (5,7 %). Ces résultats suggèrent une diffusion entre élevages similaires, ou une persistance de la séropositivité aux niveaux des élevages équivalente à la suite d'infections par *C. burnetii* dans les élevages caprins et bovins laitiers (Tableau C-3).

Les élevages ovins mixtes et caprins sont les deux types d'élevages avec les séroprévalences intra-élevages les plus élevées (Tableau C-3). Des séroprévalences intra-élevages plus élevées sont également rapportées chez les caprins par d'autres auteurs (Anastácio et al., 2013; Rizzo et al., 2016) et suggèrent une plus forte diffusion de *C. burnetii* dans cette espèce. Cette diffusion pourrait être expliquée par une sensibilité particulière de l'espèce caprine à *C. burnetii*, par une excrétion plus massive de la bactérie par rapport aux autres espèces de ruminants domestiques et/ou par des critères zootechniques spécifiques aux élevages caprins entraînant une plus forte diffusion de l'infection dans ces troupeaux, par exemple, le fait d'être généralement des troupeaux de grandes tailles et souvent hébergés en bâtiment (Rizzo et al., 2016).

### IV.4. Facteurs de risques de séropositivité

#### IV.4.1 Taille des élevages

Les élevages de grandes tailles étaient plus souvent séropositifs et leur séroprévalence intra-élevage plus élevée. Pour les élevages caprins, le risque d'être séropositif était 34% plus élevé (RR 1,34 [1,16 ; 1,67]) pour un doublement de la taille par rapport à la moyenne. De même, au sein des élevages ovins séropositifs de taille double, le risque de séropositivité des individus était 12% à 26% plus élevé chez les ovins selon le type de production (Figure C-8, Tableau C-4). Cette tendance reste identique quelles que soient l'espèce et l'échelle considérées (inter- ou intra-élevages) même si notre étude ne permet



pas de conclure quant à la présence d'un excès de risques en dehors des caprins et ovins, car les intervalles de crédibilité des risques relatifs comprenaient un (Figure C-8, Tableau C-4).

Ce facteur de risque « taille d'élevage » a également été mis en évidence dans d'autres études sur la fièvre Q chez les ovins (Anastácio et al., 2013; Barlozzari et al., 2020; Rizzo et al., 2016; Schimmer et al., 2014; Villari et al., 2018) et les caprins (Anastácio et al., 2013; Schimmer et al., 2011). Plusieurs facteurs peuvent expliquer l'effet de la taille des troupeaux sur la probabilité de séropositivité et sur les proportions d'individus séropositifs au sein des élevages séropositifs. Certains sont directement liés à l'effet mécanique du nombre d'animaux et d'autres, non pris en compte dans cette étude, sont potentiellement confondus avec la taille des élevages.

Parmi les facteurs directement liés à la taille de l'élevage, les élevages de grande taille ont un renouvellement plus régulier des animaux naïfs (par naissance, achat ou perte d'immunité). Cela favorise la persistance et la diffusion des maladies infectieuses au sein du troupeau (Brooks-Pollock and Keeling, 2009; Evans et al., 2010; Nodelijk et al., 2000). De même, dans les grands troupeaux, le nombre de mises bas plus important augmente le nombre de femelles susceptibles d'excréter *C. burnetii* dans l'environnement et donc l'exposition des autres animaux et la persistance de la bactérie dans l'élevage. Cette hypothèse est confortée par le fait que la charge de *C. burnetii* détectée dans les poussières de bâtiments d'élevage est plus élevée dans les troupeaux de grande taille (Carrié et al., 2019).

Concernant les facteurs indirectement liés à la taille des élevages, on peut citer le fait que les élevages de grande taille sont plus sujets à avoir des échanges avec d'autres élevages de façon directe (achats de reproducteurs par exemple) ou indirecte (un grand parcellaire implique potentiellement un plus grand nombre de voisins de pâturage). Ainsi, dans l'étude de Schimmer et al. (Schimmer et al., 2014), bien que les élevages ovins de grandes tailles soient plus souvent séropositifs, seules les variables liées au fait d'avoir un plus grand nombre d'achats d'animaux et à la présence d'ovins parmi les voisins de pâtures étaient conservées dans le modèle de régression logistique multivarié final.

#### IV.4.2 Type de production

Chez les bovins, les élevages laitiers ont un risque pratiquement huit fois plus important d'être séropositifs que les élevages allaitants. Pour autant les séroprévalences intra-élevages des élevages bovins laitiers et allaitants sont similaires (bonne puissance du modèle à détecter une différence à cette échelle). Ce risque relatif est cohérent avec les estimations de l'étude originale (Gache et al., 2017) et de celle de Paul et al. (Paul et al., 2014). La présence d'un excès de risque de séropositivité à l'échelle de l'élevage chez les bovins laitiers peut être due à un plus grand risque d'introduction de *C. burnetii* dans les élevages laitiers ou d'une plus longue persistance des infections et de la contamination de l'environnement dans les élevages laitiers. À l'inverse, une fois l'infection présente dans un élevage, l'absence d'excès de risque lié au type de production chez les bovins à l'échelle intra-élevage suggère que la diffusion de la bactérie chez les bovins est similaire, quel que soit le type de production considérée. L'une des différences pouvant expliquer une plus forte probabilité d'introduction de l'infection, l'achat d'animaux et le recours à des pensions plus fréquent en élevages laitiers qu'en élevages allaitants (notamment pour la gestion du prêtretroupeau qui est plus souvent externalisé pour un troupeau laitier).

On observe le phénomène inverse chez les ovins. À taille équivalente, les élevages laitiers et mixtes ont une séroprévalence intra-élevage 60% supérieure à celle estimée pour les élevages allaitants alors que la probabilité pour un élevage d'être séropositif ne semble pas dépendre pas du type de production (IC du RR incluant un). Cependant, la faible puissance de notre étude pour ces facteurs de risques dans cette espèce, ne permet pas exclure que certains types de production aient une probabilité de séropositivité différente (plus élevée ou plus faible).

Cette plus forte proportion d'animaux séropositifs pour les ovins laitiers par rapport aux ovins allaitants a également été mise en évidence dans d'autres études en Europe (Schimmer et al., 2014; van den Brom et al., 2013) et au Canada (Meadows et al., 2015). Cette différence peut être due à des conditions d'hébergements différentes des ovins laitiers et allaitants. Les ovins allaitants étant plus

souvent mis aux pâturages alors que les brebis laitières sont plus souvent hébergées en bâtiment ce qui favorise la transmission de *C. burnetii* entre les animaux (Schimmer et al., 2014; van den Brom et al., 2013).

#### IV.5. Sensibilité et spécificité du test estimées par le modèle

Malgré le recoupement d'au moins 10,9 % de leurs distributions, les estimations *a posteriori* de la sensibilité et spécificité du test diffèrent légèrement des distributions *a priori* (Figure C-11, Figure C-12 et Figure C-13). Les Se estimées par le modèle sont légèrement plus élevées dans les trois espèces et les Sp sont plus élevées chez les ovins et bovins et plus basses chez les caprins. Ces réévaluations des Se et Sp du test sont compatibles avec une légère sous-estimation des performances diagnostiques des tests dans la Partie 1 déjà mise en évidence par simulation. L'analyse du jeu de données dans son ensemble, en combinant les deux sous-jeux de données des Parties 1 et 2, pourrait permettre d'obtenir des estimations plus fiables des performances diagnostiques du test 2 et potentiellement des deux autres tests.

#### IV.6. Validité et intérêts du modèle

Le modèle utilisé dans cette étude est un modèle à classes latentes modélisant simultanément les séroprévalences inter- et intra-élevages des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques. Étant donné que les statuts sérologiques respectifs des élevages et des individus sont latents (c.-à-d. uniquement estimés de façon indirecte par le modèle à partir des résultats du test), ce type de modèle présente un risque de biais important, d'autant plus marqué que les séroprévalences intra-élevages ou la sensibilité du test utilisé sont faibles (McAloon et al., 2019). Dans ces deux cas de figure, le modèle a du mal à différencier les troupeaux réellement séronégatifs des troupeaux réellement séropositifs à prévalence faible et il tendra à surestimer les séroprévalences inter-élevages (McAloon et al., 2019). Enfin, le choix des distributions *a priori* utilisées en amont de l'estimation peut avoir un impact important sur les résultats du modèle, en particulier celles des Se et Sp du test diagnostique.

Pour limiter au maximum le risque de biais du modèle dans notre étude, nous avons effectué des contrôles de sa validité et estimé ses performances.

##### IV.6.1 Vérification des hypothèses du modèle

Les variabilités des séroprévalences inter- et intra-élevages ont été modélisées à l'aide d'un effet aléatoire suivant une loi normale à l'échelle logit. La normalité de la distribution des effets aléatoires à l'échelle inter-élevage est facilement évaluable sur le diagramme quantiles-quantiles (Figure C-15, A) réalisé à partir des médianes *a posteriori* des effets aléatoires ajustés dans chacun des 10 départements. L'hypothèse de normalité des effets aléatoires à l'échelle inter-élevage semble vérifiée dans notre étude.

L'examen de la distribution des effets aléatoires à l'échelle intra-élevage est plus délicat, car les médianes *a posteriori* des élevages, dont la probabilité de séropositivité estimée par le modèle est faible, sont proches de 0. En effet, dans une grande partie des tirages de la MCMC, les statuts de ces troupeaux sont « séronégatifs » et leur séroprévalence apparente est égale à 0. Néanmoins, le modèle attribue tout de même un effet aléatoire correspondant à une séroprévalence intra-élevage non nulle même si cet effet n'intervient pas pour calculer la probabilité d'être testés positifs. Ainsi, dans tous les tirages de la MCMC où les élevages ont une séroprévalence intra-élevage nulle, la distribution des effets aléatoires à l'échelle intra-élevage suit une loi normale de moyenne égale à 0 indépendante des données observées, dont la médiane est logiquement proche de 0. Ce phénomène explique à la fois tous les points grisés proches de 0 dans la Figure C-15, B, mais également la répartition homogène entre -1 et 1,96 au lieu d'être homogène entre -1,96 et 1,96 comme attendu pour des effets aléatoires normaux réduits. Seule la distribution des effets aléatoires à l'échelle intra-élevage chez les ovins présente quelques anomalies avec des départements où les effets aléatoires ajustés semblent moins variables et d'autres où, au contraire, les médianes *a posteriori* des effets ajustés sont plus élevées que

dans les autres départements. Ces anomalies pourraient être dues à des moyennes des distributions des séroprévalences intra-élevages différentes au sein des élevages ovins issus de départements différents (du fait par exemple de pratiques d'élevages, particulières à certains départements, limitant ou favorisant la diffusion de *C. burnetii* au sein des élevages). La normalité des effets aléatoires à l'échelle intra-élevage semble donc également vérifiée pour l'ensemble des départements chez les bovins, ovins et caprins, mais de potentielles disparités entre les niveaux de séroprévalence intra-élevage entre les différents départements sont possibles.

#### IV.6.2 Variabilité des séroprévalences intra-élevages entre départements

Les estimations *a posteriori* de l'ensemble des paramètres obtenus avec le modèle à effet aléatoire supplémentaire sont similaires à celles obtenues avec le modèle initial (Annexes partie 2.I, figure 2) avec des médianes *a posteriori* et des intervalles de crédibilité à 95 % très proches. Donc, l'ajout de cet effet aléatoire ne modifie pas substantiellement les estimations du modèle.

L'étude de simulation montre que ce modèle à effet aléatoire supplémentaire estime toujours un écart-type de cet effet aléatoire à des valeurs semblables à celles estimées avec le vrai jeu de données, y compris quand la valeur de cet écart-type est fixée à 0 pour simuler les données. De plus, la non-prise en compte de cet effet aléatoire, lorsqu'il est présent, lors de la simulation des données (scénario 2, Annexes partie 2.II.4), n'entraîne qu'une augmentation minime du biais relatif et de l'erreur quadratique moyenne du modèle original par rapport au modèle prenant en compte cet effet, y compris chez les ovins (Annexes partie 2.II.4.3). La prise en compte d'une variabilité potentielle des séroprévalences intra-élevages dans les différents départements par un effet aléatoire supplémentaire, tel que décrit en Annexes partie 2.I, ne modifie pas les estimations du modèle et n'améliore que très légèrement ses performances, et cela uniquement dans le scénario où cet effet aléatoire est utilisé pour simuler les données. Le modèle original étant plus parcimonieux et tout autant fiable (voir plus dans les scénarios de simulations où l'effet aléatoire est absent) est bien à privilégier dans notre étude.

#### IV.6.3 Ajustement du modèle aux données observées

Globalement l'ajustement du modèle aux données est bon (Figure C-16). Seuls quatre élevages (un caprin et trois ovins) discordants présentaient une proportion observée d'individus testés positifs proche de 100 % supérieure à celle prédite par le modèle. Dans le cas des ovins, l'observation d'une prévalence apparente proche de 100 % est difficilement compréhensible avec un test ayant une Se de 0,538 IC à 95 % [0,433 ; 0,618] et une Sp de 0,984 IC à 95 % [0,974 ; 0,993]. Théoriquement, avec de telles valeurs de Se et de Sp, la proportion d'individus testés positifs maximale devrait être proche de 55 % même lorsque la séroprévalence intra-élevage réelle est proche de 100 %. Il est donc possible que, dans ces élevages, la sensibilité du test utilisé soit plus élevée qu'estimée par le modèle. Ces observations remettent donc en cause l'hypothèse de constance des Se et Sp du test dans toutes les populations. Néanmoins, elles ne concernent que trois élevages ovins sur les 522 inclus dans l'étude et un seul élevage caprin sur les 349 inclus.

#### IV.6.4 Apport de la simulation

En complément de la vérification des hypothèses du modèle, une large étude d'évaluation de ses performances a été réalisée par simulation de jeux de données de structures similaires (nombre d'élevages, nombre d'individus prélevés par élevage, etc.) selon 17 scénarios en faisant varier les paramètres du modèle utilisé pour simuler les données sur des valeurs plausibles autour des estimations obtenues à partir des données observées (Annexes partie 2.II).

Cette étude de simulation nous a permis de conclure à de bonnes performances du modèle avec un biais relatif moyen faible, une erreur quadratique moyenne faible et une probabilité de couverture supérieure à 90 % pour la plupart des paramètres et des scénarios considérés dans les trois jeux de données de l'étude (chez les ovins, bovins et caprins). La simulation nous a également permis de valider

le choix des distributions *a priori* utilisées dans notre étude ( *Cauchy*(0,2) ) à la place de celles classiquement utilisées dans les études du même type (distribution normale à grand écart-type supérieur à 10) (Fernandes et al., 2019; Koop et al., 2013; Okura et al., 2010; Paul et al., 2014).

Les scénarios de simulation pour lesquels le modèle présente le biais relatif moyen le plus important sont les scénarios 6 et 13, correspondant respectivement au scénario dans lequel la moyenne des moyennes par département de la séroprévalence intra-élevage est plus petite de deux écarts-types (scénario 6, correspondant à une séroprévalence intra-élevage moyenne inférieure à 10%) et à celui dans lequel la moyenne des séroprévalences inter-élevages est plus petite de deux écarts-types (scénario 13, correspondant à une séroprévalence inter-élevage moyenne de <5%). Le scénario 13 est associé à des séroprévalences intra-élevages réelles simulées faibles et proche de 0. Le biais relatif moyen plus important dans le scénario 6 est cohérent avec l'étude réalisée par McAloon et al. (McAloon et al., 2019) dans laquelle le biais du modèle était d'autant plus important que la séroprévalence intra-élevage était faible. Le biais observé pour le scénario 13 est quant à lui assez intuitif, car, dans ce scénario, très peu de troupeaux sont réellement séropositifs et l'estimation des séroprévalences intra-élevages devient difficile et dépendante des quelques élevages séropositifs inclus, comme en témoigne la grande dispersion des médianes *a posteriori* estimées sur les 100 jeux de données (Annexes partie 2.II.4, Figure 3, 4, 6, 7, 9 et 10). De plus, dans ce type de scénario, les individus testés positifs dans le jeu de données simulées sont, la plupart du temps, des faux positifs que le modèle a du mal à identifier comme tels.

Les niveaux de séroprévalences estimées dans notre étude sont plus élevés que ceux des scénarios de simulation 6 et 13, donc, ce risque de biais mis en évidence par simulation n'a probablement pas de conséquence pour notre étude. Enfin, l'analyse de jeux de données simulées selon une gamme de valeurs des risques relatifs variant entre 1/3 à 3 nous a permis de réaliser un calcul de puissance et de déterminer l'ampleur des risques relatifs pouvant être mis en évidence avec les jeux de données de notre étude.

La réalisation d'une telle analyse de simulation sur des jeux de données similaires à celui de l'étude ne garantit pas totalement l'absence de biais, car la simulation est réalisée en respectant les hypothèses du modèle, ce qui est forcément une simplification par rapport aux données observées. Néanmoins, elle permet d'évaluer le biais potentiel du modèle dans une situation au plus proche de l'étude. Devant la flexibilité des modèles à classes latentes et le risque de biais important qui en découle, l'utilisation de la simulation mériterait d'être beaucoup plus répandue dans les études de ce type (McAloon et al., 2019), pour bien évaluer leurs limites d'application. Ainsi, en l'absence d'une étude de simulation démontrant l'absence de biais important dans les conditions d'application, nous déconseillons d'appliquer les modèles hiérarchiques tels que décrits dans notre étude lorsque les séroprévalences inter- ou intra-élevages attendues sont faibles (respectivement <5% et <10%) et que le test diagnostique a une sensibilité modérée (de 50 à 70%) et une spécificité imparfaite.

## V. Conclusion

Cette étude apporte de nouvelles connaissances sur l'épidémiologie des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques en France. Elle a permis de confirmer et de quantifier les facteurs de risques associés au type de production et à la taille de l'élevage. Toutes espèces confondues, les élevages de grande taille tendent à être plus souvent séropositifs et à avoir plus d'animaux séropositifs. Les élevages de type laitiers sont plus souvent séropositifs chez les bovins et ont des séroprévalences intra-élevages plus importantes chez les ovins.

Cette étude souligne l'intérêt de prendre en compte l'incertitude diagnostique pour estimer des séroprévalences réelles des infections par *C. burnetii*. La méthodologie développée pourrait être utilisée pour harmoniser les études réalisées sur la fièvre Q chez les ruminants domestiques en Europe en permettant la comparaison des données obtenues dans différentes zones géographiques avec différents tests diagnostiques. Enfin, elle permet d'envisager la réalisation des calculs des valeurs prédictives des tests sérologiques à partir des séroprévalences intra- et inter-élevages estimées.

## D. PARTIE 3 : CALCUL DES VALEURS PRÉDICTIVES DES TESTS

---

## PRÉAMBULE

À l'échelle de l'élevage, l'interprétation des résultats d'un plan de dépistage dépend à la fois des sensibilité et spécificité du test utilisé, du nombre d'individus testés positifs parmi ceux prélevés et du contexte épidémiologique dans lequel sont réalisés les tests.

L'objectif de cette partie est de proposer une méthode permettant d'estimer la probabilité de séropositivité de l'élevage (notée HVP) et des individus testés positifs (notée VPP) ou négatifs (noté VPN) sachant les résultats obtenus dans l'élevage, les performances diagnostiques du test utilisé et les caractéristiques de l'élevage (taille de l'élevage et type de production, qui influent sur les séroprévalences intra- et inter-élevages) (Figure D-1).

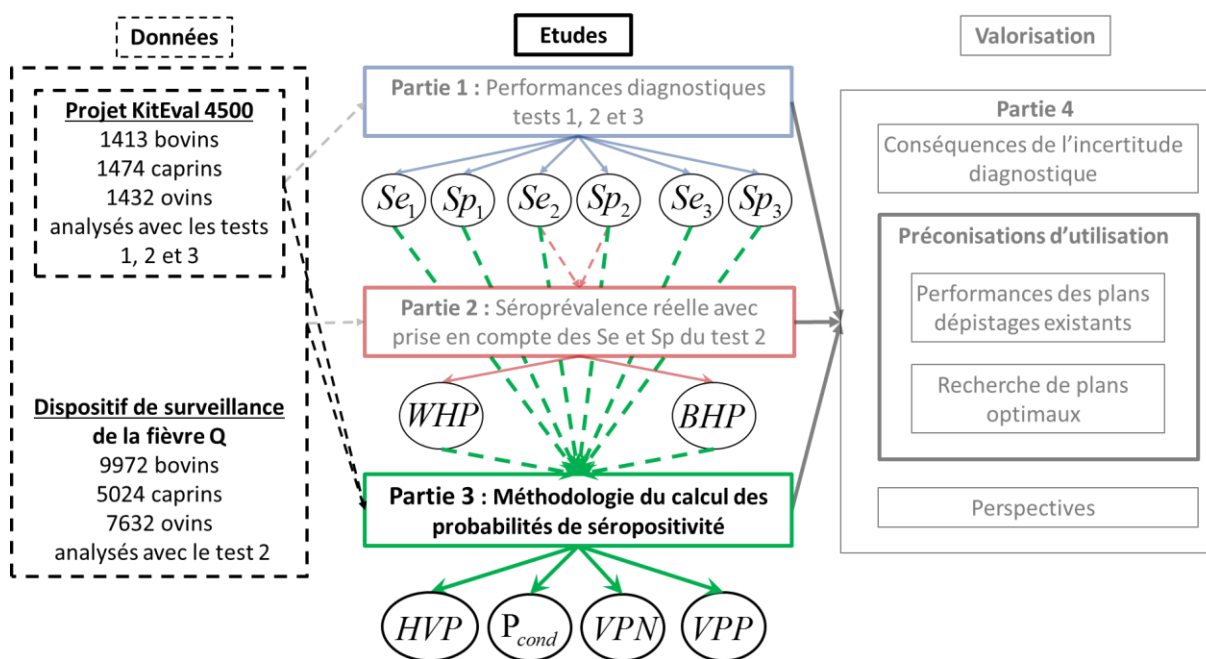


Figure D-1 : Données et informations utilisées pour estimer la séroprévalence réelle intra-élevage (notée  $P_{cond}$ ) les probabilités de séropositivité de l'élevage (notée HVP) et des individus testés positifs (notée VPP) ou négatifs (noté VPN).

$Se$  : Sensibilité,  $Sp$  : Spécificité,  $WHP$  : séroprévalence réelle intra-élevage attendue,  $BHP$  : séroprévalence réelle inter-élevage attendue.

La plupart des études et approches décrites pour interpréter les résultats d'un plan de dépistage à l'échelle individuelle ou de l'élevage passent par le calcul des valeurs prédictives positives du test et du plan de dépistage. Les valeurs prédictives sont calculées en amont de la réalisation du plan de dépistage pour prédire, en fonction d'une règle de décision préétablie dans une situation générale, la probabilité de séropositivité d'un élevage ou d'un individu standard (dont les caractéristiques correspondent à la médiane observée par exemple). Nous rappellerons dans un premier temps les grandes approches proposées pour calculer les valeurs prédictives et leur limite, puis nous verrons comment les utiliser et les adapter pour que chaque utilisateur des tests puisse obtenir une estimation de la probabilité de séropositivité de l'élevage et des individus sur lesquels sont réalisés les tests après prise en compte de l'ensemble des résultats obtenus dans l'élevage.

## I. Introduction

On se place dans le contexte d'un élevage de ruminants domestiques, dans lequel  $N_{pos}$  individus ont été testés positifs avec un test ELISA (de sensibilité  $Se$  et de spécificité  $Sp$ ) parmi les  $N_{sample}$  individus prélevés. L'objectif est de calculer la probabilité qu'un individu testé positif ou négatif dans l'élevage soit réellement séropositif ou réellement séronégatif et la probabilité que l'élevage soit réellement séropositif sachant les résultats du plan de dépistage.

### I.1. À l'échelle individuelle

#### I.1.1 Formule de calcul des valeurs prédictives

À l'échelle individuelle, les probabilités que l'individu soit réellement séropositif ou séronégatif sachant qu'il a été testé positif ou négatif sont respectivement appelées valeurs prédictives positive ( $VPP$ ) et négative ( $VPN$ ). La  $VPP$  et  $VPN$  dépendent des  $Se$  et  $Sp$  du test et de la proportion d'individus réellement positifs dans l'élevage, c'est-à-dire la séroprévalence intra-élevage (noté  $WHP$ ).

$$(3.1) \quad \begin{aligned} VPP &= \frac{WHP \times Se}{WHP \times Se + (1 - WHP) \times (1 - Sp)} \\ VPN &= \frac{(1 - WHP) \times Sp}{WHP \times (1 - Se) + (1 - WHP) \times Sp} \end{aligned}$$

En tenant compte du fait que, si l'élevage est réellement séronégatif, alors  $WHP = 0$  et quelles que soient les  $Se$  et  $Sp$  du test utilisé,  $VPP = 0$  et  $VPN = 1$ .

Si l'on note :

- $HVP$  la probabilité de séropositivité du troupeau testé sachant que  $N_{pos}$  individus ont été testés positifs parmi  $N_{sample}$  ;
- $P_{cond}$  la séroprévalence intra-élevage réelle si l'élevage est séropositif sachant que  $N_{pos}$  individus ont été testés positifs parmi  $N_{sample}$ .

Alors, les  $VPP$  et  $VPN$  s'expriment comme suit :

$$(3.2) \quad \begin{aligned} VPP &= HVP \times \frac{P_{cond} \times Se}{P_{cond} \times Se + (1 - P_{cond}) \times (1 - Sp)} \\ VPN &= (1 - HVP) + HVP \times \frac{(1 - P_{cond}) \times Sp}{P_{cond} \times (1 - Se) + (1 - P_{cond}) \times Sp} \end{aligned}$$

Donc, pour calculer les valeurs prédictives à l'échelle individuelle en tenant compte de l'ensemble des résultats obtenus, on doit estimer dans un premier temps  $HVP$  et  $P_{cond}$ .

#### I.1.2 Estimation de la séroprévalence intra-élevage conditionnelle sachant les résultats obtenus

Dans la Partie 2, nous avons estimé les moyennes et écarts-types des séroprévalences intra-élevages dans l'ensemble des élevages séropositifs à partir des  $Se$  et  $Sp$  du test utilisé (estimée dans la Partie 1)

et du nombre d'individus testés positifs parmi ceux échantillonnés dans chaque élevage inclus dans l'étude. De la même façon, si on suppose que le nombre d'individus testés positifs ( $N_{pos}$ ) parmi les  $N_{sample}$  testés suit une distribution binomiale, de taille  $N_{sample}$  et de probabilité  $P_{cond} \times Se + (1 - P_{cond}) \times (1 - Sp)$  alors, dans un cadre bayésien, on peut inférer la distribution de  $P_{cond}$  à partir de sa distribution *a priori* (estimée dans la Partie 2) combinée avec les données observées ( $N_{pos}$  individus parmi  $N_{sample}$  prélevés), pour obtenir une estimation de la séroprévalence intra-élevage dans le troupeau considéré s'il est séropositif et sachant que  $N_{pos}$  individus ont été testés positifs (Figure D-2).

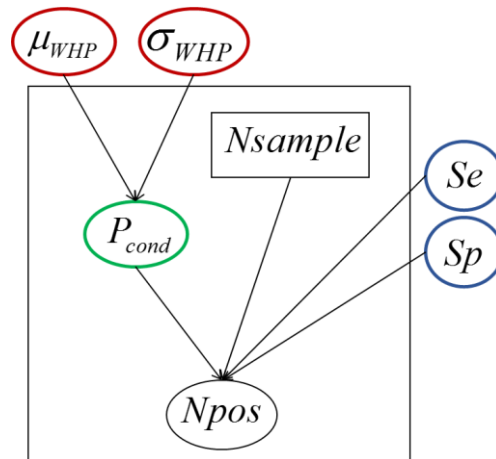


Figure D-2 : Diagramme acyclique dirigé simplifié du modèle utilisé pour estimer la séroprévalence intra-élevage dans les élevages séropositifs sachant que  $N_{pos}$  individus ont été testés positifs parmi les  $N_{sample}$  prélevés.

Les  $Se$  et  $Sp$  du test ont été estimées dans la Partie 1 et la moyenne ( $\mu_{WHP}$ ) et l'écart-type ( $\sigma_{WHP}$ ) de la distribution *a priori* de la séroprévalence intra-élevage ont été estimés dans la Partie 2.

## 1.2. À l'échelle du troupeau

### 1.2.1 Formule de calcul des valeurs prédictives

À l'échelle du troupeau, tout comme à l'échelle individuelle, les valeurs prédictives positive (notée *HVPP* pour « *Herd positive predictive value* ») et négative (*HVPN* pour « *Herd negative predictive value* ») du plan de dépistage dépendent des sensibilité et spécificité du plan de dépistage à l'échelle du troupeau (notées respectivement *HSe* et *HSp*) et de la séroprévalence inter-élevage (notée *BHP* pour « *between-herd prevalence* ») :

$$(3.3) \quad \begin{aligned} HVPP &= \frac{BHP \times HSe}{BHP \times HSe + (1 - BHP) \times (1 - HSp)} \\ HVPN &= \frac{(1 - BHP) \times HSp}{BHP \times (1 - HSe) + (1 - BHP) \times HSp} \end{aligned}$$

Cependant, à l'échelle du troupeau, les *HSe* et *HSp* sont plus complexes à calculer, car elles dépendent des  $Se$  et  $Sp$  du test utilisé, mais également du nombre d'individus testés, de la règle de décision du plan de dépistage (nombre d'individus testés positifs à partir duquel on considère le troupeau comme étant testé positif) et de la séroprévalence intra-élevage.



### I.3. Variabilité et incertitude

#### I.3.1 Variabilité des séroprévalences intra- et inter-élevage

Plusieurs formules ont été proposées pour estimer les HSe et HSp à partir des sensibilité et spécificité en supposant que le nombre d'individus testés positifs suit soit une distribution binomiale soit une distribution hypergéométrique (Cannon, 2001; Gautam et al., 2019). Néanmoins, ces formules supposent que les Se et Sp à l'échelle individuelle soient connues. De plus, la séroprévalence intra-élevage est généralement fixée soit à une valeur seuil basse (séroprévalence minimale que l'on veut être capable de détecter avec le plan de dépistage (Heisey et al., 2014; Ziller et al., 2002)), soit à une valeur moyenne ou médiane (Gautam et al., 2019; Humphry et al., 2004).

En réalité, les séroprévalences intra-élevages des infections par *C. burnetii* sont variables entre les différents élevages réellement séropositifs. Le fait de fixer la séroprévalence intra-élevage à une valeur entraîne donc un biais dans la formule de calcul des *HSe*. Si la *WHP* de l'élevage est plus basse que la valeur seuil fixée, alors la *HSe* sera généralement surestimée par rapport à sa vraie valeur dans l'élevage. En effet, à un nombre d'individus prélevés fixe, la probabilité d'échantillonner un individu réellement séropositif (et donc la probabilité de tester un individu positif) sera plus basse dans l'élevage à *WHP* plus basse. Inversement, si la *WHP* de l'élevage est plus haute que la valeur seuil fixée, alors la *HSe* sera généralement sous-estimée par rapport à sa vraie valeur. Ce biais potentiel n'a pas nécessairement de conséquences importantes quand l'objectif du calcul est d'estimer la sensibilité du plan de surveillance à l'échelle de la population dans une zone indemne (Ziller et al., 2002). En revanche, il a des conséquences plus importantes pour calculer les HSe du plan de dépistage dans chaque élevage échantillonné, car le fait de fixer une valeur de séroprévalence sous-estime la variabilité des situations possibles de chaque élevage et donc la variabilité des HSe.

Pour la valeur prédictive positive ou négative à l'échelle du troupeau, en plus de la variabilité des séroprévalences intra-élevages, il faut également tenir compte de la variabilité des séroprévalences inter-élevages, car pour des valeurs identiques de HSe et HSp, la valeur prédictive positive sera plus faible si la séroprévalence inter-élevage est plus faible et inversement (cf. équation (3.3)). Ce qui veut dire que pour un même nombre d'individus testés positifs dans un élevage, la probabilité de séropositivité sera plus faible ou plus élevée dans une zone à faible ou à forte *BHP*. Si on estime la HVPP d'un élevage particulier, l'idéal est de disposer d'une estimation préalable de la séroprévalence inter-élevage dans la zone concernée, mais, si la *BHP* est inconnue ou que les calculs sont réalisés à l'échelle de la population (c'est-à-dire à l'échelle d'élevage issu de zones géographiques différentes), alors, la non-prise en compte de la variabilité de la *BHP* entraînera une sous-estimation de la variabilité des *HVPP* et *HVPN*.

La non-prise en compte de cette variabilité des séroprévalences intra- et inter- élevages peut avoir des conséquences importantes, en fournissant une estimation des HSe, HSp et des HVPP et HVPN trop précises alors qu'elles sont en fait variables. Un élevage pourra par exemple, se voir attribuer une forte probabilité de séropositivité « moyenne » alors qu'il existe une probabilité non négligeable que cette probabilité de séropositivité soit faible.

#### I.3.2 Incertaince

Dans la Partie 1, nous avons estimé les Se et Sp de chaque test dans chaque espèce et dans la Partie 2, la distribution des séroprévalences inter- et intra-élevages a été modélisée à l'aide d'une distribution logit normale dont nous avons respectivement estimé les écarts-types dans chaque espèce et les moyennes dans chaque type de production.

Tous ces paramètres (Se, Sp, moyennes et écarts-types des distributions inter- et intra-élevages) ont été estimés avec une certaine incertitude qui rend compte de la précision avec laquelle ces paramètres ont été estimés à l'issue de notre étude. Un des fondements de l'inférence bayésienne est d'ailleurs que les paramètres estimés sont décrits par une distribution de probabilité reflétant leur incertitude.

La non-prise en compte de l'incertitude des paramètres du modèle lors de l'estimation des valeurs prédictives conduit naturellement à une sous-estimation de l'incertitude des sensibilité et spécificité à l'échelle du troupeau. On obtient alors des estimations des valeurs prédictives trop précises par rapport à ce qu'elle devrait être selon l'incertitude des paramètres estimés qui ont servi à les calculer.

### I.3.3 Une prise en compte possible de la variabilité et de l'incertitude par MCMC

Dans les Parties 1 et 2 de la thèse, nous avons estimé par inférence bayésienne les distributions *a posteriori* de l'ensemble des paramètres nécessaires à la réalisation des calculs des valeurs prédictives positives des tests à l'échelle de l'élevage.

À l'aide de chaînes de Markov Monte-Carlo (MCMC), il est possible :

- De prendre en compte l'incertitude des estimations de chaque paramètre, en échantillonnant pour chaque itération de la MCMC, ses valeurs dans la distribution estimée dans les Parties 1 et 2.
- De prendre en compte la variabilité des séroprévalences inter- et intra-élevages en simulant, pour chaque itération de la MCMC, une valeur de *WHP* et de *BHP* dans la distribution logit normale correspondante dont les moyennes et écarts-types auront été préalablement échantillonnés dans leurs distributions respectives.

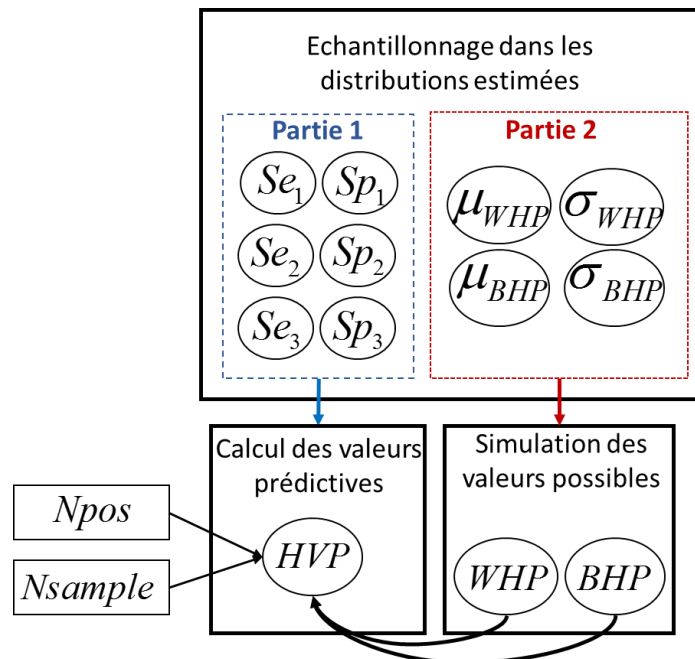


Figure D-3 : Prise en compte de l'incertitude des paramètres par échantillonnage dans les distributions estimées dans les Parties 1 et 2 et de la variabilité des séroprévalences inter- et intra-élevages par simulation à partir des paramètres échantillonnés.

$\mu_{BHP}$  et  $\sigma_{BHP}$  : moyenne et écart-type de la distribution des séroprévalences inter-élevages

$\mu_{WHP}$  et  $\sigma_{WHP}$  : moyenne et écart-type de la distribution des séroprévalences intra-élevages

*HVP* : probabilité de séropositivité du troupeau sachant que  $N_{pos}$  individus ont été testés positifs parmi les  $N_{sample}$  testés.

En calculant les valeurs prédictives à partir de la valeur de chaque paramètre échantillonné et des *WHP* et *BHP* simulées à chaque itération, on obtient un échantillon aléatoire des valeurs prédictives, qui tient compte à la fois de l'incertitude des paramètres et de la variabilité des variables du modèle (Figure D-3).

Cette approche a été utilisée dans plusieurs études visant à calculer les valeurs prédictives à l'échelle du troupeau (Audigé et al., 2001; Audigé and Beckett, 1999; Jordan and McEwen, 1998; Norby et al., 2005; Su et al., 2007; Tsutsui et al., 2003). La première description de l'usage des MCMC pour estimer les valeurs prédictives à l'échelle du troupeau date d'il y a plus de 20 ans (Jordan and McEwen, 1998) et cette étude a été assez fréquemment citée en exemple (69 citations à ce jour, y compris dans des articles très cités comme (Christensen and Gardner, 2000)). Néanmoins à notre connaissance, une seule étude récente (depuis 2007) a réutilisé cette approche pour calculer des valeurs prédictives (Paterson et al., 2020). La faible fréquence d'utilisation de cette approche peut être expliquée, d'une part, par la complexité de la construction de ce type de modèle et de la mise en œuvre de méthodes d'inférence bayésienne (Jordan and McEwen, 1998) et, d'autre part, par une absence d'appropriation, par les utilisateurs des tests, des outils construits dans les études antérieures.

#### I.4. Mise à disposition de la méthode de calculs

##### I.4.1 Objectifs

La plupart des études antérieures réalisées pour aider à l'interpréter le résultat des plans de dépistage et des tests sérologiques visaient à estimer les valeurs prédictives des tests pour des plans d'échantillonnage avec des règles de décision fixées à l'avance. Par exemple, la réalisation d'un test ELISA sur 15 individus et la considération de l'élevage comme séropositif à partir du moment où au moins un individu est testé positif. En pratique, le nombre d'animaux prélevés dans un élevage peut varier et, dans tous les cas, le fait de fixer la règle de décision à l'avance entraîne, souvent, une perte d'information. Dans l'exemple précédent, interpréter le résultat d'un élevage ayant eu plusieurs animaux testés positifs alors que la valeur prédictive a été calculée avec une règle de décision où l'élevage est considéré séropositif si au moins un animal est séropositif, entraînera une sous-estimation de la probabilité de séropositivité du troupeau.

Par ailleurs, les moyennes des distributions de séroprévalences inter- et intra-élevages varient en fonction de la taille de l'élevage et du type production considéré. Pour calculer les valeurs prédictives au plus près de la situation épidémiologique de l'élevage testé, il serait intéressant d'utiliser les moyennes correspondant exactement à son type de production et sa taille, deux facteurs associés à la probabilité de séropositivité et à la proportion d'animaux séropositifs de l'élevage (Partie 2).

Ainsi, pour pouvoir à la fois interpréter les résultats effectivement obtenus dans l'élevage et prendre en compte les caractéristiques de l'élevage considéré, il faut pouvoir estimer les probabilités de séropositivité au cas par cas, dans chaque élevage.

##### I.4.2 Mise à disposition.

La construction des modèles et la mise en œuvre de l'inférence bayésienne ont été facilitées depuis une vingtaine d'années avec le développement de logiciels gratuits tels que WinBUGS (Lunn et al., 2000) ou JAGS (Plummer, 2003). Plus récemment, la mise au point d'un environnement complet pour la création d'application web en interaction avec le logiciel R, sous la forme d'application Shiny (Chang et al., 2017), a permis d'envisager la mise à disposition de ces outils complexes au plus grand nombre. Ainsi, en 2020, Paterson et al. ont développé une application Shiny visant la prise en compte de l'incertitude des tests diagnostiques dédiés à la recherche des agents pathogènes respiratoires chez les mouflons d'Amérique (*Ovis canadensis*) (Paterson et al., 2020).

Avec la création d'une application en ligne Shiny dédiée à l'interprétation des résultats des plans de dépistage sérologique des infections par *C. burnetii*, chaque utilisateur pourrait utiliser un modèle statistique complexe correspondant au plan de dépistage qu'il a utilisé, et dont les paramètres seront estimés en inférence bayésienne sur les données obtenues dans l'élevage qu'il a testé. Ainsi, il pourra estimer les probabilités de séropositivité des individus et du troupeau à partir du nombre d'animaux positifs parmi l'ensemble des animaux testés.

### I.4.3 Utilisation des MCMC dans l'application Shiny

La méthode envisagée pour calculer les valeurs prédictives à l'échelle individuelle et collective, nécessite l'utilisation de MCMC pour :

- échantillonner les valeurs des paramètres du modèle issues des Parties 1 et 2,
- simuler les valeurs de *WHP* et *BHP* à partir de leur distribution respective,
- pour estimer la distribution *a posteriori* de la séroprévalence intra-élevage dans le troupeau, s'il est séropositif et sachant que Npos individus ont été testés positifs.

#### I.4.3.1 Estimation simultanée des paramètres du modèle et des probabilités de séropositivité

Toutes ces étapes sont réalisables dans un seul et même modèle, qui nécessite, pour la séroprévalence conditionnelle d'être inférée après recueil des résultats du plan de dépistage et des caractéristiques de l'élevage.

Néanmoins, les paramètres du modèle ont été estimés à partir de deux jeux de données et dans deux études différentes. Pour obtenir une distribution *a posteriori* jointe de l'ensemble des paramètres du modèle, l'idéal serait d'estimer l'ensemble des paramètres à partir d'un jeu donné combinant celle du projet KitEval 4500 et celle de l'étude épidémiologique en lien avec le dispositif de surveillance de la fièvre Q, modèle qui inclurait également les étapes et nœuds stochastiques et déterministes nécessaires à la réalisation du calcul des probabilités de séropositivité.

La réalisation simultanée de l'inférence des paramètres du modèle ( $Se$ ,  $Sp$ ,  $\mu_{BHP}$ ,  $\sigma_{BHP}$ ,  $\mu_{WHP}$ , et  $\sigma_{WHP}$ ) et des probabilités de séropositivité dans un unique modèle permettrait d'obtenir une distribution *a posteriori* jointe de l'ensemble des paramètres et de conserver la corrélation structurelle entre les différents paramètres estimés. Cependant, la réalisation de l'inférence à partir de l'ensemble des données prend plusieurs heures sur R. Ce long temps de calcul est incompatible avec une application destinée à un utilisateur qui souhaite interpréter les résultats d'un plan de dépistage.

#### I.4.3.2 Utilisation de distribution *a priori* informative

Une solution alternative est d'estimer la distribution *a posteriori* marginale de chaque paramètre du modèle à partir de l'ensemble des données disponibles et d'intégrer ces distributions marginales comme des distributions *a priori* informatives dans le modèle servant à estimer les probabilités de séropositivité. Cette méthode a l'avantage d'être beaucoup plus rapide (de l'ordre de quelques secondes), car les seules données utilisées pour estimer les probabilités de séropositivité sont le nombre d'individus testés positifs, le nombre total d'individus testés et les caractéristiques de l'élevage (espèce, taille, type de production). En revanche, en utilisant les distributions marginales on ne prend plus en compte la corrélation structurelle entre les paramètres qui était présente dans la distribution *a posteriori* jointe. De plus, l'ajustement de distribution de probabilité connue (du type beta par exemple) sur les échantillons *a posteriori* des distributions marginales avec des packages comme *fitdistrplus* (Delignette-Muller and Dutang, 2015) est potentiellement imparfait.

En résumé, le gain de temps de calcul, permis par l'inclusion des distributions marginales *a posteriori* de chaque paramètre plutôt que la réalisation de leurs estimations en temps réel à partir de l'ensemble des données de la thèse, est essentielle pour la prise en main de l'application par les utilisateurs, mais entraîne un risque de biais qu'il faudrait évaluer.

### I.5. Annonce du plan

La suite de l'étude est divisée en sept sections. La section II présente la méthode d'estimation et les distributions marginales obtenues de chaque paramètre à partir de l'ensemble des données de la thèse. La section III, présente la méthode utilisée pour inférer l'ensemble des paramètres nécessaires

aux calculs des probabilités de séropositivité. La section IV détaille la formule utilisée pour calculer les valeurs prédictives à l'échelle du troupeau. La section V présente l'interface utilisateur de l'application Shiny construite et la section VI est une illustration de l'intérêt de l'approche partir d'un cas pratique de demande d'expertise concernant un taureau charolais testé positif en sérologie au moment de sa vente. Enfin, nous discuterons la méthodologie et l'ensemble de cette étude dans la section VII.

## II. Estimation des distributions *a priori* des paramètres du modèle

Pour obtenir une estimation des probabilités de séropositivité du troupeau à partir des données de l'élevage, en tenant compte des estimations réalisées dans les Parties 1 et 2, il est nécessaire :

- soit d'utiliser des distributions *a priori* informatives pour l'ensemble des paramètres du modèle ( $Se$ ,  $Sp$ ,  $\mu_{BHP}$ ,  $\sigma_{BHP}$ ,  $\mu_{WHP}$ , et  $\sigma_{WHP}$ ) ;
- soit d'intégrer dans le modèle le jeu de données qui a servi à estimer ces paramètres.

La deuxième option étant trop longue, en termes de temps de calcul (plusieurs heures), pour être utilisée dans une application destinée à des utilisateurs des tests, cette partie présente la méthode d'obtention des paramètres et leur distribution informative.

Étant donné que, d'une part les  $Se$  et  $Sp$  des trois tests et d'autre part les moyennes et écarts-types des distributions des séroprévalences intra- et inter-élevages ont été estimés dans des modèles différents et à partir de jeux de données différents, nous avons réestimé l'ensemble des paramètres avec un modèle unique à partir d'un jeu de données rassemblant les données des Parties 1 et 2.

### II.1. Description des données et du modèle

Le jeu de données global a été constitué à partir :

- du jeu de données du dispositif de surveillance de la fièvre Q décrit de la Partie 2 de la thèse à la section II.1 ;
- du jeu de données du projet KitEval 4500 décrit dans la partie 1 de la thèse à la section II.1.1.

Pour les échantillons de sérum analysés à la fois par un laboratoire vétérinaire et par le laboratoire national de référence, seuls les résultats du LNR ont été inclus dans le modèle (pour les bovins du département G, seules les données du dispositif de surveillance de la fièvre Q ont été incluses).

La modélisation des séroprévalences intra- et inter-élevages a été réalisée de la même façon que dans la Partie 2 (cf. II.2.3.2). Les séroprévalences inter-élevages de chaque département sont modélisées avec un modèle de régression logistique à effet aléatoire pour la variable département. Les séroprévalences intra-élevages de chaque élevage sont modélisées avec un modèle de régression logistique augmenté en 0 à effet aléatoire élevage. L'incertitude diagnostique est prise en compte par une loi binomiale (pour les échantillons testés avec le test 2 uniquement, cf. partie 2, II.2.3.1) ou multinomiale (pour les échantillons testés avec les trois tests, cf. Partie 1. II.2.3) modélisant le nombre d'animaux positifs avec le ou les tests dans chaque élevage, en considérant que la probabilité de ce nombre dépend de la séroprévalence intra-élevage et des sensibilités et spécificités du ou des tests utilisés.

Comme dans les Parties 1 et 2, les échantillonnages sont réalisés en utilisant JAGS sur R grâce au package rjags (Plummer et al., 2016). Trois chaînes MCMC indépendantes ont été générées en parallèle. Pour chaque chaîne, 110 000 tirages ont été produits. Les 10 000 premiers ont été éliminés pour atteindre la convergence (phase de chauffe). Pour limiter l'autocorrélation des itérations, les 100 000 tirages restants ont été affinés en ne conservant qu'un tirage sur vingt. Au total, 5 000 tirages ont donc été conservés par chaîne et finalement, on obtient 15 000 échantillons joints de chacun des paramètres du modèle.

## II.2. Estimations obtenues et distribution *a priori* informative

La médiane et les quantiles 2,5 % et 97,5 % de la distribution *a posteriori* de chaque paramètre sont présentés dans le Tableau D-1. L'ensemble des 15 000 échantillons de chaque paramètre a été utilisé pour estimer les paramètres de la loi de distribution correspondante à l'aide de la fonction « fitdist », du package fitdistrplus (Delignette-Muller and Dutang, 2015). La forme de la distribution de chaque paramètre a été choisie en fonction :

- de son intervalle de définition :
  - o  $[0 ; 1]$  pour les Se et Sp,
  - o  $[-\infty ; +\infty]$  pour les moyennes et effets fixes des distributions des séroprévalences inter- et intra-élevages,
  - o  $[0 ; +\infty]$  pour leur écart-type,
- en examinant l'adéquation des fonctions de répartition et des diagrammes quantiles-quantiles des distributions empiriques (les 15 000 échantillons joints) et ajustées de chaque paramètre.

Ainsi, des distributions beta (Se et Sp), normale (moyennes et effets fixes) et gamma (écarts-types) ont été ajustées (Tableau D-1).

Tableau D-1 : Estimation a posteriori des paramètres du modèle réalisée sur les deux jeux de données combinés.

Distribution correspondante estimée par la fonction fitdist du package fitdistrplus. Les distributions beta ( $Beta(\beta_1 ; \beta_2)$ ) sont paramétrées en forme 1 ( $\beta_1$ ) et forme 2 ( $\beta_2$ ), les distributions normales ( $Norm(\mu ; \sigma)$ ) en moyenne ( $\mu$ ), écart-type  $\sigma$  ; les distributions gamma ( $Gamma(\alpha ; \beta)$ ) sont paramétrées en forme ( $\alpha$ ) et intensité ( $\beta$ ).

Paramètre	Bovin		Caprin		Ovin	
	Médiane [IC à 95 %]	Distribution correspondante	Médiane [IC à 95 %]	Distribution correspondante	Médiane [IC à 95 %]	Distribution correspondante
Se1	72,2 [64,3 ; 79,2]	$Beta(88,46; 32,15)$	60,2 [55,7 ; 64,8]	$Beta(266,47 ; 175,97)$	45,5 [39 ; 52,1]	$Beta(100,78 ; 120,56)$
Se2	63 [55,2 ; 70,2]	$Beta(95,46 ; 56,74)$	78,7 [74,9 ; 82,2]	$Beta(384,43 ; 104,51)$	61 [55,6 ; 66,3]	$Beta(193,55 ; 123,97)$
Se3	91,6 [83,5 ; 95,7]	$Beta(85,55; 10,33)$	92,4 [88,5 ; 95]	$Beta(245,3 ; 20,75)$	90,4 [83,8 ; 94,9]	$Beta(100,89 ; 11,03)$
Sp1	93,5 [92 ; 94,9]	$Beta(870,54 ; 29,46)$	98,8 [97,7 ; 99,6]	$Beta(461,42 ; 5,73)$	99,2 [98,5 ; 99,7]	$Beta(915,91 ; 7,62)$
Sp2	98,6 [98,2 ; 99]	$Beta(4125,19 ; 60,13)$	98 [97,3 ; 98,7]	$Beta(1463,13 ; 29,87)$	98,5 [98 ; 98,9]	$Beta(2348,60 ; 36,40)$
Sp3	95,8 [94 ; 97,7]	$Beta(418,59 ; 21,23)$	95,5 [93,1 ; 97,3]	$Beta(357,21 ; 17,25)$	97,9 [96,6 ; 98,9]	$Beta(552,27 ; 11,96)$
$\mu_{BHP\_ref}$	-2,54 [-3,84 ; -1,3]	$Norm(-0,64; 0,63)$	-0,14 [-0,99 ; 0,63]	$Norm(-0,15 ; 0,41)$	-0,7 [-2,86 ; 1,52]	$Norm(-0,69; 1,09)$
$\alpha_{lait}$	2,45 [1,66 ; 3,43]	$Norm(2,53 ; 0,45)$	NA	NA	-0,02 [-2,58 ; 2,06]	$Norm(-0,06 ; 1,38)$

Paramètre	Bovin		Caprin		Ovin	
	Médiane [IC à 95 %]	Distribution correspondante	Médiane [IC à 95 %]	Distribution correspondante	Médiane [IC à 95 %]	Distribution correspondante
$\alpha_{mixte}$	NA	NA	NA	NA	0,26 [-1,69 ; 2,29]	<i>Norm</i> (0,27 ; 1,01)
$\alpha_{size}$	0,42 [-0,02 ; 0,86]	<i>Norm</i> (0,42 ; 0,23)	0,71 [0,42 ; 1,01]	<i>Norm</i> (0,71 ; 0,15)	0,15 [-0,26 ; 0,54]	<i>Norm</i> (0,15 ; 0,20)
$\mu_{WHP\_ref}$	-0,57 [-1,1 ; 0,07]	<i>Norm</i> (-0,47 ; 0,31)	0,67 [0,28 ; 1,12]	<i>Norm</i> (0,68 ; 0,22)	-1,04 [-1,43 ; -0,57]	<i>Norm</i> (-1,03 ; 0,22)
$\beta_{lait}$	0,21 [-0,5 ; 0,85]	<i>Norm</i> (0,13 ; 0,35)	NA	NA	0,47 [-0,22 ; 1,06]	<i>Norm</i> (0,45 ; 0,33)
$\beta_{mixte}$	NA	NA	NA	NA	1,15 [0,52 ; 1,78]	<i>Norm</i> (1,15 ; 0,32)
$\beta_{size}$	0,15 [-0,17 ; 0,45]	<i>Norm</i> (0,15 ; 0,16)	0,23 [-0,02 ; 0,47]	<i>Norm</i> (0,23 ; 0,13)	0,34 [0,12 ; 0,58]	<i>Norm</i> (0,35 ; 0,12)
sd_dep_herd	1,49 [0,89 ; 2,7]	<i>Gamma</i> (12,25 ; 7,79)	1,04 [0,52 ; 2,03]	<i>Gamma</i> (8,57 ; 7,78)	3,19 [1,6 ; 7,69]	<i>Gamma</i> (6,02 ; 1,69)
sd_herd	1,02 [0,82 ; 1,24]	<i>Gamma</i> (86,69 ; 83,68)	1,64 [1,33 ; 2,01]	<i>Gamma</i> (92,42 ; 56,14)	1,23 [1,01 ; 1,46]	<i>Gamma</i> (115,20 ; 93,73)



### III. Description du modèle et de l'inférence des paramètres

Les objectifs de l'utilisation des MCMC sont :

- d'échantillonner des valeurs des paramètres du modèle dans leur distribution *a priori* informative afin de prendre en compte l'**incertitude des Se et Sp** estimées pour le calcul des probabilités de séropositivité des individus et de l'élevage testés ;
- de simuler des valeurs de séroprévalences inter- et intra-élevages attendues (*BHP* et *WHP*) en fonction des caractéristiques de l'élevage afin de prendre en compte la **variabilité des séroprévalences** pour calculer la probabilité de séropositivité du troupeau ;
- d'inférer la séroprévalence intra-élevage de l'élevage testé, s'il est réellement séropositif ( $P_{cond}$ ) sachant que  $N_{pos}$  individus parmi  $N_{sample}$  ont été testés positifs, afin de prendre en compte l'**ensemble des résultats obtenus** dans l'élevage pour calculer les **probabilités de séropositivité des individus** testés (*VPP* et *VPN*).

Le diagramme acyclique dirigé du modèle utilisé pour répondre à ces objectifs est présenté dans la Figure D-4.

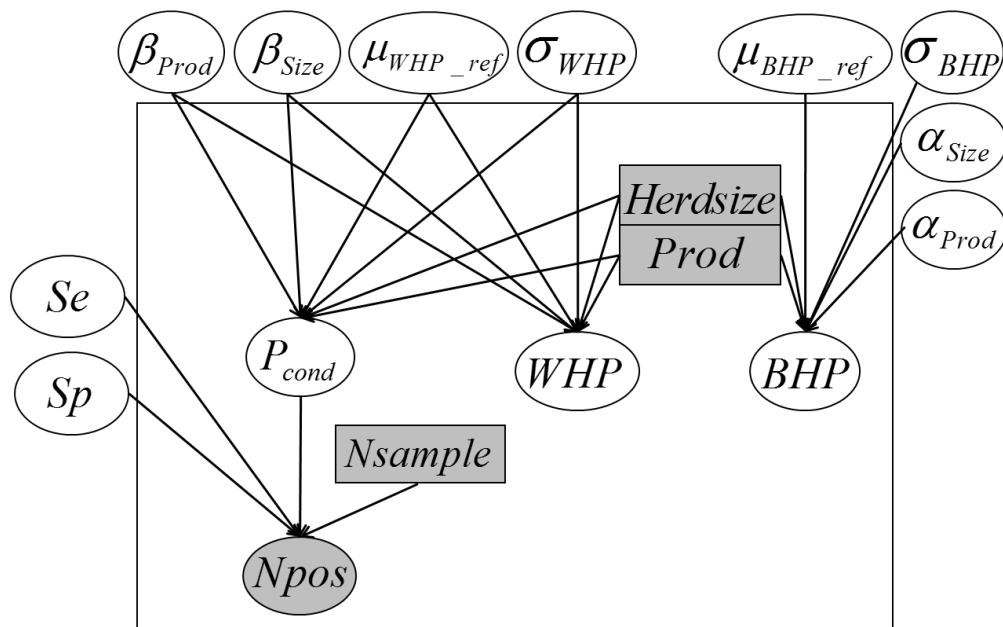


Figure D-4 : Diagramme acyclique dirigé du modèle pour estimer la séroprévalence intra-élevage si l'élevage est séropositif ( $P_{cond}$ ) et simuler des valeurs des séroprévalences inter- et intra-élevages attendues (*BHP* et *WHP*).

Les flèches correspondent à des liens stochastiques entre les variables. Chaque nœud est représenté par un cercle (pour les variables) ou un carré (pour les covariables). Les nœuds grisés correspondent aux données de l'élevage (taille (*Herdsiz*), type de production (*prod*), nombre d'animaux testés (*Nsample*) et nombre d'animaux tests positifs ( $N_{pos}$ )).

### III.1. Séroprévalences inter- et intra-élevages attendues

La structure du modèle est similaire à celle décrite en détail dans la Partie 2 (cf. C.II.2.3.2).

#### III.1.1 Intra-élevage

Le logit de la séroprévalence intra-élevage attendue (noté  $WHP$ ) suit une loi normale d'écart-type  $\sigma_{WHP}$  dont la moyenne dépend du type de production et de la taille de l'élevage :

$$(3.4) \text{logit}(WHP) \sim \text{Norm}(\mu_{WHP\_ref} + \beta_{size} \times Herdsize + \beta_{Prod} \times Prod, \sigma_{WHP})$$

Avec :

- $\mu_{WHP\_ref}$  la moyenne de la distribution de la séroprévalence intra-élevage dans la classe de référence ( $Herdsize$  égale à 0 et type de production de référence (laitier chez les caprins et allaitant chez les ovins et bovins)) ;
- $\beta_{size}$  l'effet fixe sur l'échelle logit associée au log2 centré de la taille de l'élevage (notée  $Herdsize$ ) ;
- $\beta_{Prod}$  l'effet fixe correspondant au type de production de l'élevage (noté  $Prod$ ).

#### III.1.2 Inter-élevage

Le logit de la séroprévalence inter-élevage attendue ( $BHP$ ) suit une loi normale d'écart-type  $\sigma_{BHP}$  dont la moyenne dépend du type de production et de la taille de l'élevage :

$$(3.5) \text{logit}(BHP) \sim \text{Norm}(\mu_{BHP\_ref} + \alpha_{size} \times Herdsize + \alpha_{Prod} \times Prod, \sigma_{BHP})$$

Avec :

- $\mu_{BHP\_ref}$  la moyenne de la distribution de la séroprévalence inter-élevage dans la classe de référence ( $Herdsize$  égale à 0 et type de production de référence (laitier chez les caprins et allaitant chez les ovins et bovins)) ;
- $\alpha_{size}$  l'effet fixe du log2 centré de la taille de l'élevage  $Herdsize$  ;
- $\alpha_{Prod}$  l'effet fixe correspondant au type de production de l'élevage (noté  $Prod$ ).

### III.2. Distribution alternative de la séroprévalence inter-élevage

#### III.2.1 Intérêt de la prise en compte du contexte épidémiologique de l'élevage

On appelle « utilisateur », toute personne qui utilisera la méthodologie présentée pour estimer les probabilités de séropositivité du troupeau en fonction des résultats du plan de dépistage.

Les séroprévalences inter- et intra-élevages sont modélisées selon une distribution logit normale et sont donc variables. Ainsi, un effet aléatoire a été estimé par le modèle dans chaque département pour la séroprévalence inter-élevage et dans chaque élevage pour la séroprévalence intra-élevage. Ces deux effets aléatoires permettent de modéliser la variabilité des séroprévalences inter- et intra-élevages et donc d'estimer les valeurs prédictives à l'échelle du troupeau ou des individus en prenant en compte la variabilité qui existe entre départements et entre élevages.

En l'absence d'information sur le contexte épidémiologique dans lequel les tests sérologiques sont

réalisés, ces effets aléatoires permettent d'éviter d'avoir à choisir des valeurs arbitraires de séroprévalences inter- ou intra-élevages. En revanche, si la séroprévalence inter- ou intra-élevage est connue par l'utilisateur, dans un département ou dans un élevage, alors les valeurs prédictives estimées en prenant en compte la variabilité des séroprévalences intra- et inter-élevages seront trop imprécises et potentiellement fausses. Par exemple, si l'utilisateur sait que la proportion d'élevages réellement séropositifs dans le département est faible, en l'absence de précision sur cette information dans le modèle, les valeurs prédictives seront calculées en considérant qu'il est possible que les séroprévalences inter- ou intra-élevages soient élevées, alors que l'utilisateur sait que ce n'est pas le cas. Il est donc important de laisser une possibilité pour moduler la distribution *a priori* des séroprévalences inter- ou intra-élevages du modèle calculant les valeurs prédictives.

### III.2.2 Méthode de prise en compte du contexte épidémiologique de l'élevage

Plusieurs sources d'information peuvent être utilisées pour préciser la distribution de la séroprévalence inter-élevage (qui correspond ici à la probabilité que le troupeau soit réellement séropositif avant d'interpréter les résultats des tests). L'information la plus fiable serait de disposer d'une estimation de la proportion de troupeaux séropositifs du même type de production et de même taille présents dans le département ou la région de l'élevage. Parmi les autres sources d'informations possibles, l'utilisateur peut s'appuyer sur l'historique de l'élevage (par exemple occurrence d'avortements imputé à *C. burnetii* au cours des précédentes années) ou sur la proportion de séries abortives imputées à la *C. burnetii* dans le département. Quelle que soit la source d'information utilisée, la connaissance de la séroprévalence inter-élevage est souvent partielle et, pour être fidèle à cette connaissance partielle, l'utilisateur doit pouvoir inclure une incertitude liée à l'information qu'il entre dans le modèle.

Ainsi, le modèle laisse la possibilité à l'utilisateur de spécifier une gamme de valeurs possibles pour la séroprévalence inter-élevage. Dans ce cas de figure, au lieu de suivre une distribution logit normale (3.5), la *BHP* suit une distribution beta (3.6) dont les deux paramètres sont estimés à l'aide de la fonction `fitdist` du package `SHELF` (Oakley and O'Hagan, 2010), à partir de la gamme des valeurs possibles qui est interprétée comme un intervalle de crédibilité à 95% (Figure D-5).

$$(3.6) BHP \sim \text{beta}(\beta_1, \beta_2)$$

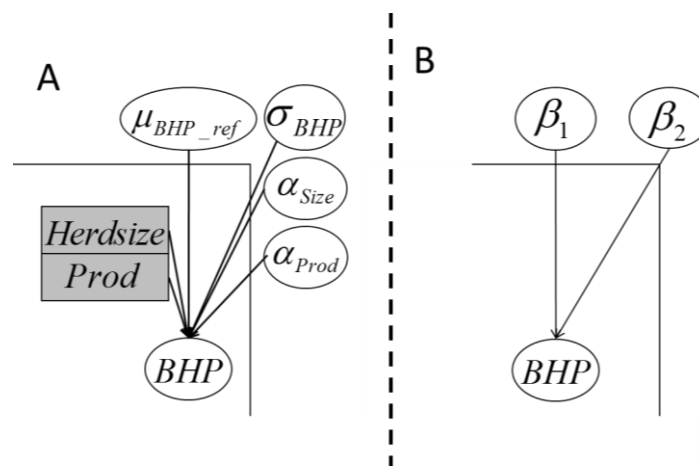


Figure D-5 : Diagrammes acycliques dirigés partiels pour la distribution de la séroprévalence inter-élevage.

Dans le DAG « A », en l'absence d'information renseignée par l'utilisateur, *BHP* suit une loi normale d'écart-type  $\sigma_{BHP}$  et dont la moyenne dépend du type de production et la taille. Dans le DAG « B », *BHP* suit une loi beta dont les paramètres ( $\beta_1$  et  $\beta_2$ ) sont calculés à partir de la gamme de valeurs renseignée par l'utilisateur.

À ce stade, aucune précision sur la séroprévalence intra-élevage de l'élevage testé n'est prévue dans le modèle, néanmoins, si l'utilisateur souhaite intégrer les résultats d'un précédent plan de dépistage réalisé dans l'élevage, il est possible de sommer les nombres d'individus testés positifs et échantillonnés lors des deux plans de dépistage (l'ancien et le nouveau), pour obtenir une estimation des probabilités de séropositivité qui tiennent également compte des données historiques obtenues dans l'élevage.

### III.3. Séroprévalence intra-élevage conditionnelle

Comme la séroprévalence intra-élevage attendue, la séroprévalence intra-élevage conditionnelle de l'élevage s'il est séropositif suit une distribution logit normale d'écart-type  $\sigma_{WHP}$  dont la moyenne dépend du type de production et de la taille de l'élevage (3.4). Cependant, sa distribution *a posteriori* tient compte du nombre d'individus testés positifs ( $N_{pos}$ ) dans l'élevage. Ainsi, on suppose que  $N_{pos}$  suit une loi binomiale de taille  $N_{sample}$  et de probabilité égale à la probabilité pour les individus d'être testés positifs dans l'élevage (qui dépend de  $P_{cond}$  et des  $Se$  et  $Sp$  du test utilisé).

$$(3.7) N_{pos} \sim \text{binomial}(N_{sample}, P_{cond} \times Se + (1 - P_{cond}) \times (1 - Sp))$$

### III.4. Inférence et échantillonnage

L'estimation de la distribution jointe *a posteriori* des  $Se$ ,  $Sp$ ,  $WHP$ ,  $BHP$  et  $P_{cond}$  est réalisée à l'aide de chaînes de Monte-Carlo Markov (MCMC) à partir des distributions *a priori* estimées à partir du jeu de données complet (Tableau D-1) et des résultats du plan de dépistage (pour  $P_{cond}$  uniquement).

Les échantillonnages sont réalisés en utilisant JAGS sur R grâce au package rjags (Plummer et al., 2016). Trois chaînes MCMC indépendantes ont été générées en parallèle. Pour chaque chaîne, 110 000 tirages ont été produits. Les 10 000 premiers ont été éliminés pour atteindre la convergence (phase de chauffe). Pour limiter l'autocorrélation des itérations, les 100 000 tirages restants ont été affinés en ne conservant qu'un tirage sur vingt. Au total, 5 000 tirages ont donc été conservés par chaîne.

Au final, on obtient 15 000 échantillons joints des paramètres  $Se$ ,  $Sp$ ,  $WHP$ ,  $BHP$  et  $P_{cond}$ , qui seront utilisés pour calculer les probabilités de séropositivité du troupeau et des individus.

## IV. Méthode de calcul des probabilités de séropositivité

À la différence des études précédentes qui estimaient les valeurs prédictives positives et négatives des plans de dépistage envisagés, cette étude propose de calculer la probabilité de séropositivité associée à n'importe quelle proportion d'individus testés positifs dans un élevage (Figure D-6). De même, les  $VPN$  (probabilité qu'un individu testé négatif soit réellement séronégatif) et  $VPP$  (probabilité qu'un individu testé positif soit réellement séropositif) calculées tiennent compte de l'ensemble des résultats obtenus dans l'élevage, car elles sont calculées avec la probabilité de séropositivité du troupeau et sa séroprévalence intra-élevage s'il est séropositif sachant le nombre d'individus testés positifs (Figure D-7).

Nous détaillerons dans un premier temps la formule utilisée pour calculer la probabilité de séropositivité du troupeau, puis les formules utilisées pour calculer les VPP et VPN.

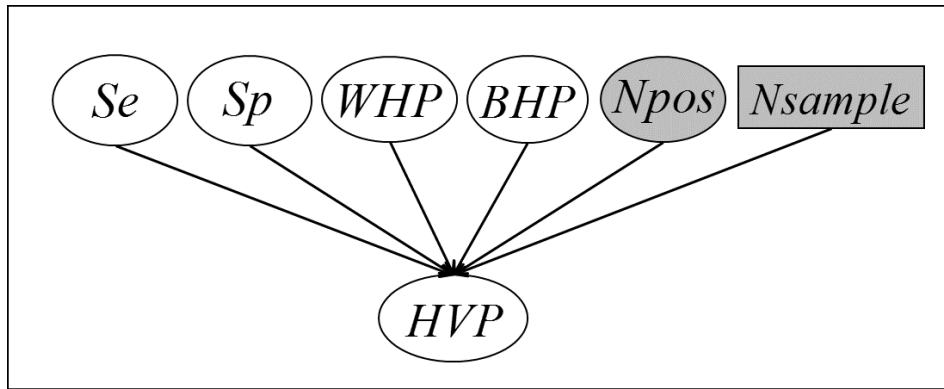


Figure D-6 : Schéma des paramètres intervenant dans le calcul de la probabilité de séropositivité du troupeau (HPV).

Le nombre d'individus testés positifs  $N_{pos}$  parmi les  $N_{sample}$  testés correspond au résultat du plan de dépistage.  $Se$  et  $Sp$  sont les sensibilité et spécificité du test utilisé.  $WHP$  et  $BHP$  sont respectivement les séroprévalences intra- et inter-élevages attendues dans un élevage d'espèce, de taille et de type de production considérés.

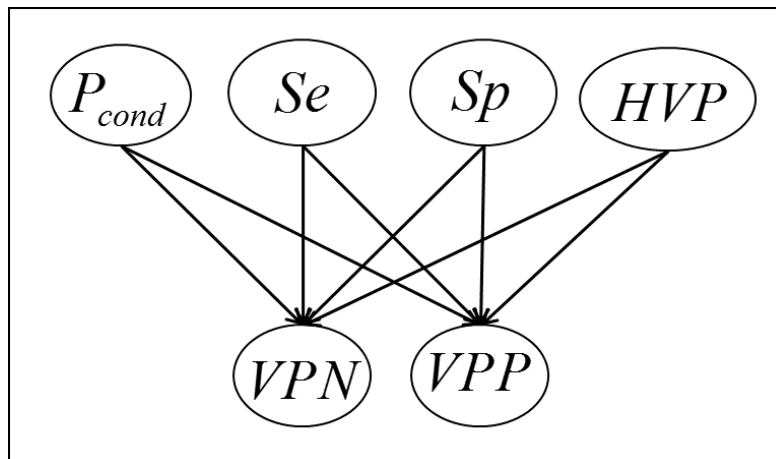


Figure D-7 : Schéma des paramètres intervenant dans le calcul de la probabilité de séropositivité des individus testés négatifs ( $1 - VPN$ ) ou positifs ( $VPP$ ).

Les  $Se$  et  $Sp$  sont les sensibilité et spécificité du test utilisé.  $HPV$  Est la probabilité de séropositivité du troupeau sachant le nombre d'individus testés positifs et  $P_{cond}$  est la séroprévalence intra-élevage conditionnelle de l'élevage s'il est séropositif sachant le nombre d'individus testés positifs.

#### IV.1. Probabilité de séropositivité du troupeau

La probabilité de séropositivité du troupeau sachant que  $N_{pos}$  individus ont été testés positifs parmi  $N_{sample}$  testés est noté  $HPV$ . Si on note  $H^+$  un troupeau réellement séropositif et  $H^-$  un troupeau réellement séronégatif, en appliquant le théorème de Bayes on obtient :

$$(3.8) \quad HPV = P(H^+ | N_{pos}, N_{sample}) = \frac{P(N_{pos} | N_{sample}, H^+) \times P(H^+)}{P(N_{pos} | N_{sample})}$$

Avec :

- $P(N_{pos} | N_{sample}, H^+)$ , la probabilité d'observer  $N_{pos}$  individus testés positifs sachant que  $N_{sample}$  ont été prélevés et que le troupeau est réellement séropositif ;

- $P(H^+)$  est la probabilité que le troupeau soit réellement séropositif ;
- $P(N_{pos}|N_{sample})$  la probabilité d'observer  $N_{pos}$  individus testés positifs parmi les  $N_{sample}$  prélevés.

D'après la formule des probabilités totales, on peut décomposer la probabilité de tester  $N_{pos}$  individus testés positifs parmi  $N_{sample}$  dans les élevages réellement séropositifs et réellement séronégatifs :

$$(3.9) P(N_{pos}|N_{sample}) = P(N_{pos}|N_{sample}, H^+) \times P(H^+) + P(N_{pos}|N_{sample}, H^-) \times P(H^-)$$

Avec,  $P(N_{pos}|N_{sample}, H^-)$  la probabilité d'observer  $N_{pos}$  individus testés positifs sachant que  $N_{sample}$  ont été prélevés et que le troupeau est réellement séronégatif.

Si on note  $BHP$  la séroprévalence inter-élevage dans le département de l'élevage, alors :

$$P(H^+) = BHP \text{ et } P(H^-) = 1 - BHP.$$

Ainsi, d'après (3.8) et (3.9), on obtient :

$$(3.10) HVP = \frac{P(N_{pos}|N_{sample}, H^+) \times BHP}{P(N_{pos}|N_{sample}, H^+) \times BHP + P(N_{pos}|N_{sample}, H^-) \times (1 - BHP)}$$

Pour calculer les probabilités conditionnelles d'observer  $N_{pos}$  individus testés positifs dans un troupeau réellement séropositif ou séronégatif, on suppose que  $N_{pos}$  suit une loi binomiale de taille  $N_{sample}$  et de probabilité égale à la probabilité d'être testés positifs dans l'élevage.

Si le troupeau est séronégatif, pour chaque individu la probabilité d'être testé positif est égale  $1 - Sp$ , dans ce cas, la probabilité d'observer  $N_{pos}$  individus testés positifs parmi les  $N_{sample}$  testés s'exprime comme suit :

$$(3.11) P(N_{pos}|N_{sample}, H^-) = \binom{N_{sample}}{N_{pos}} \times (1 - Sp)^{N_{pos}} \times Sp^{N_{sample} - N_{pos}}$$

Si le troupeau est réellement séropositif, on note  $WHP$  sa séroprévalence intra-élevage réelle attendue, et pour chaque individu la probabilité d'être testé positif est égale  $WHP \times Se + (1 - WHP) \times (1 - Sp)$ , dans ce cas, la probabilité d'observer  $N_{pos}$  individus testés positifs parmi les  $N_{sample}$  testés s'exprime comme suit :

$$(3.12) P(N_{pos}|N_{sample}, H^+) = \binom{N_{sample}}{N_{pos}} \times (WHP \times Se + (1 - WHP) \times (1 - Sp))^{N_{pos}} \times (1 - (WHP \times Se + (1 - WHP) \times (1 - Sp)))^{N_{sample} - N_{pos}}$$

À partir de (3.10), (3.11) et (3.12) on obtient (cf. Annexe partie 3.I pour plus de détails) :

$$(3.13) HVP = \frac{1}{1 + \frac{(1 - BHP)}{BHP} \times \left( \frac{(1 - Sp)}{(Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP))} \right)^{N_{pos}} \times \left( \frac{Sp}{1 - (Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP))} \right)^{N_{sample} - N_{pos}}}$$

#### IV.2. Probabilité de séropositivité des individus

À l'échelle individuelle, l'objectif est de calculer la probabilité qu'un individu testé positif avec le test sérologique soit réellement séropositif (valeur prédictive positive notée  $VPP$  (3.14)) et la probabilité qu'un individu testé négatif soit réellement séronégatif (valeur prédictive négative notée  $VPN$  (3.15)), sachant que  $N_{pos}$  individus ont été testés positifs dans l'élevage.

La valeur prédictive positive est définie comme la probabilité que l'individu soit réellement séropositif (noté  $S^+$ ) sachant qu'il a été testé positif (noté  $T^+$ ) et que  $N_{pos}$  individus ont été testés positifs parmi les  $N_{sample}$  testés dans le troupeau.

$$(3.14) VPP = P(S^+ | T^+, N_{pos})$$

La valeur prédictive négative est définie comme la probabilité que l'individu soit réellement séronégatif (noté  $S^-$ ) sachant qu'il a été testé négatif (noté  $T^-$ ) et que  $N_{pos}$  individus ont été testés positifs parmi les  $N_{sample}$  testés.

$$(3.15) VPN = P(S^- | T^-, N_{pos})$$

D'après le théorème de Bayes :

$$(3.16) VPP = \frac{P(T^+ | S^+) \times P(S^+ | N_{pos})}{P(T^+ | N_{pos})}$$

D'après la formule des probabilités totales :

$$(3.17) P(T^+ | N_{pos}) = P(T^+ | S^+) \times P(S^+ | N_{pos}) + P(T^+ | S^-) \times (1 - P(S^+ | N_{pos}))$$

Et, (3.18)

$$P(S^+ | N_{pos}) = P(S^+ | N_{pos}, Herd^+) \times P(Herd^+ | N_{pos}) + P(S^+ | N_{pos}, Herd^-) \times P(Herd^- | N_{pos})$$

Or,  $P(T^+ | S^+) = Se$  et  $P(T^- | S^-) = Sp$

$$P(Herd^+ | N_{pos}) = HVP \text{ et } P(Herd^- | N_{pos}) = 1 - HVP$$

Si le troupeau est réellement séropositif, alors  $P(S^+ | N_{pos}, Herd^+) = P_{cond}$

Si le troupeau est réellement séronégatif, alors  $P(S^+ | N_{pos}, Herd^-) = 0$

Donc

$$(3.19) VPP = \frac{HVP \times Se \times P_{cond}}{HVP \times (Se \times P_{cond} + (1 - Sp) \times (1 - P_{cond})) + (1 - HVP) \times (1 - Sp)}$$

On obtient la  $VPN$  sachant que  $N_{pos}$  individus ont été testés positifs en suivant le même raisonnement :

$$(3.20) VPN = \frac{(1 - HVP) \times Sp + HVP \times (1 - P_{cond}) \times Sp}{HVP \times ((1 - Se) \times P_{cond} + Sp \times (1 - P_{cond})) + (1 - HVP) \times Sp}$$

### IV.3. Estimation ponctuelle et intervalle de crédibilité

Les  $HPV$ ,  $VPP$  et  $VPN$  sont calculées pour chaque itération de la distribution *a posteriori* jointe obtenue à l'issue de l'inférence et de l'échantillonnage des  $Se$ ,  $Sp$ ,  $WHP$ ,  $BHP$  et  $Pcond$ . Ainsi, on obtient 15 000 valeurs des  $HPV$ ,  $VPP$  et  $VPN$  correspondant aux 15 000 itérations conservées des chaînes MCMC. L'estimation ponctuelle de chaque paramètre a été définie comme la médiane des 15 000 valeurs calculées. Elle est associée à un intervalle de crédibilité à 95 % défini comme les quantiles à 2,5 et 97,5 % de ces 15 000 valeurs.

## V. Interface utilisateur de l'application Shinycox

L'application Shinycox a été construite sur R à l'aide du package RShiny (Chang et al., 2017). La forme finale de l'interface utilisateur de l'application a été adaptée de l'application Shiny du package DRomics (Larras et al., 2018). L'objectif était de créer une interface utilisateur facile d'accès et d'utilisation sous la forme d'une page web. Après une présentation de l'application (Figure D-8), l'utilisateur renseigne dans les étapes 1 à 3 les informations concernant les caractéristiques de l'élevage (Figure D-9), le contexte épidémiologique (Figure D-10) et le plan de dépistage (Figure D-11). Enfin, dans l'étape 4, il peut estimer les valeurs prédictives de son plan de dépistage en quelques secondes (Figure D-12).

### V.1. Page d'accueil

La page d'accueil (Figure D-8) permet de présenter l'application à l'utilisateur, en lui exposant sommairement les objectifs de l'application, les références scientifiques sur lesquelles elle s'appuie, les partenaires impliqués dans le projet ainsi que la personne à contacter en cas de questions.



Figure D-8 : Capture d'écran de la page d'accueil de l'application Shinycox. Présentation de l'application, de son fonctionnement et des sources sur lesquelles s'appuie l'application.

### V.2. Étape 1 : Renseignement des caractéristiques de l'élevage



Dans l'étape 1 (Figure D-9), l'utilisateur renseigne les caractéristiques de l'élevage à savoir :

- l'espèce de ruminants (bovin, caprin ou ovin) ;
- le type de production (laitier pour les caprins, allaitant ou laitier pour les bovins, allaitant, laitier ou mixte pour les ovins) ;
- La taille de l'élevage (nombre de femelles pares pour les bovins, nombre d'individus dans l'élevage pour les ovins et caprins).

Pour le type de production et la taille de l'élevage, une notice explicative est disponible en suivant un lien hypertexte.

The screenshot shows a web interface for Step 1: 'Renseignement des caractéristiques de l'élevage'. At the top, there are navigation tabs: 'Page d'accueil', 'Etape 1' (highlighted), 'Etape 2', 'Etape 3', and 'Etape 4'. Below the tabs, the title 'Renseignement des caractéristiques de l'élevage' is displayed in a large, bold, teal font. The main content area contains three teal-colored boxes, each representing an input field:

- Espèce de ruminant:** A dropdown menu with 'bovin' selected.
- Type de production:** A dropdown menu with 'allaitant' selected. Below the dropdown is a link: 'Cliquez [ici](#) pour obtenir des informations sur le type de production'.
- Nombre de femelles pares dans l'élevage:** A text input field containing the number '50'. Below the field is a link: 'Cliquez [ici](#) pour obtenir des informations sur la taille du troupeau'.

Figure D-9 : Capture d'écran de l'étape 1 de l'application : renseignement des informations concernant les caractéristiques de l'élevage.

### V.3. Étape 2 : Renseignement des informations concernant le contexte épidémiologique

Au cours de l'étape 2 (Figure D-10), l'utilisateur dispose de la possibilité de choisir une gamme des valeurs possibles de la séroprévalence inter-élevage. L'utilisateur peut visualiser l'effet de son choix sur la distribution qui sera utilisée dans le modèle en consultant la figure qui s'affiche sur la même page et qui se met à jour en temps réel. La figure représente les densités de probabilités de la distribution implémentée par défaut dans le modèle (en noir) ou celle élicitée auprès de l'utilisateur (en rouge). La distribution par défaut correspond à une distribution normale sur l'échelle du logit dont la moyenne dépend des caractéristiques de l'élevage. La distribution élicitée correspond à une distribution beta dont les paramètres de forme ont été élicités à l'aide de la fonction `fitdist` du package `SHELF` en considérant la gamme des valeurs possibles renseignées par l'utilisateur comme un intervalle de crédibilité à 95 %.

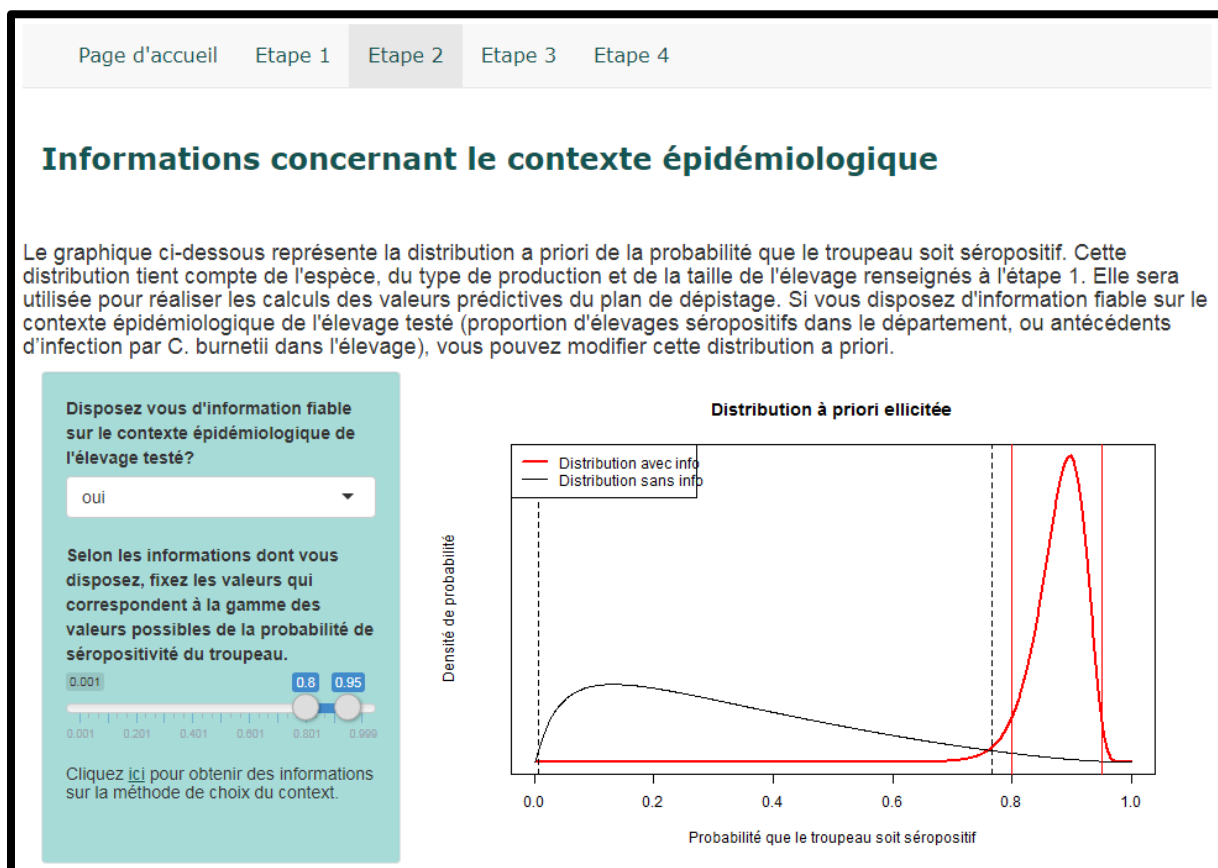


Figure D-10 : Capture d'écran de l'étape 2 de l'application : renseignement des informations concernant le contexte épidémiologique de l'élevage.

La figure représente les densités de probabilité de la distribution de probabilité implémentée par défaut dans le modèle (en noir) ou celle élicitée auprès de l'utilisateur (en rouge).

#### V.4. Étape 3 : Renseignement des informations concernant le plan de dépistage

Dans l'étape 3 (Figure D-11), l'utilisateur renseigne les informations concernant le plan de dépistage réalisé, à savoir :

- Le test ELISA utilisé : ThermoFisher Scientific®, IDEXX® ou Innovative Diagnostic® ;
- Le nombre d'animaux testés dans le troupeau ;
- Le nombre d'individus ayant eu un test positif dans le troupeau.

Page d'accueil Etape 1 Etape 2 Etape 3 Etape 4

## Informations concernant le plan de dépistage réalisé

**Test utilisé**

**Nombre d'animaux testés**

**Nombre d'animaux positifs**

0 2 4 6 8 10 12 14 15

Figure D-11 : Capture d'écran de l'étape 3 de l'application : renseignement des informations concernant le plan de dépistage (test utilisé, nombre d'animaux testés, nombre d'animaux positifs).

## V.5. Étape 4 : Calcul des valeurs prédictives

La dernière étape (Figure D-12) est celle du calcul et de l'affichage des résultats. En appuyant sur le bouton « Calcul », l'utilisateur réalise l'inférence bayésienne de l'ensemble des paramètres d'intérêt. La réalisation des 110 000 tirages dans chaque MCMC prend au maximum 10 secondes, temps qui est précisé à l'utilisateur sous la forme d'un avertissement visuel.

Une fois l'inférence réalisée, après rappel de l'ensemble des informations renseignées par l'utilisateur, l'application affiche l'estimation ponctuelle et l'intervalle de confiance à 95 % de chacun des paramètres. Les paramètres présentés sont :

- La probabilité que le troupeau soit séropositif (*HPV*) ;
- La séroprévalence réelle du troupeau s'il est séropositif ;
- La probabilité qu'un individu testé positif soit réellement séropositif (*VPP*) ;
- La probabilité qu'un individu testé négatif soit réellement séronégatif (*VPN*).

Page d'accueil Etape 1 Etape 2 Etape 3 **Etape 4**

### Calculs et résultats

Cliquez sur ce bouton à chaque fois que vous modifiez les informations des étapes précédentes :

Cliquez [ici](#) pour obtenir des informations sur la méthode de calcul

**Calcul**

**⚠ Attention, le calcul peut prendre quelques dizaines de secondes, les valeurs calculées peuvent varier très légèrement d'un calcul à l'autre.**

### Interprétation des résultats du plan de dépistage réalisé

Sachant que 3 animaux ont été testés positifs avec le test ThermoFisher Scientific parmi les 15 prélevés dans un élevage bovin de type de production viande et de taille 156

La probabilité que le troupeau soit réellement séropositif est de :

1 IC à 95% [0.98; 1]

Si le troupeau est séropositif, sa séroprévalence est estimée à :

0.34 IC à 95% [0.11; 0.67]

La probabilité qu'un individu testé positif soit réellement seropositif est de :

0.96 IC à 95% [0.85; 0.99]

La probabilité qu'un individu testé négatif soit réellement seronégatif est de :

0.84 IC à 95% [0.56; 0.95]

Figure D-12 : Capture d'écran de l'étape 4 de l'application : calcul des valeurs prédictives à l'échelle du troupeau, de la séroprévalence réelle conditionnelle si l'élevage est séropositif et des valeurs prédictives à l'échelle individuelle.

## VI. Résultats de l'application sur un cas pratique

Le cas pratique détaillé dans ce paragraphe correspond à une question d'expertise réelle posée au LNR fièvre Q. Nous présenterons dans un premier temps le contexte de réalisation des analyses puis la façon avec laquelle nous pouvons utiliser l'application pour répondre aux questions des différentes parties prenantes.

### VI.1. Contexte

Un élevage charolais (appelé élevage X) de 160 femelles paires de plus de 2 ans vend tous les ans 80 à 90 reproducteurs sans problème notable et sans historique de fièvre Q rapporté dans l'élevage (notamment pas d'avortement imputé à *C. burnetii* au cours des dix dernières années).

L'élevage X vend un premier taureau à un élevage Y qui rapporte que ce taureau est positif en sérologie pour la fièvre Q à l'introduction. Toutefois, les résultats de l'analyse ne sont pas disponibles et n'ont pas été fournis à l'éleveur vendeur.

L'éleveur vendeur décide de remplacer le taureau et choisit un second taureau reproducteur pour l'éleveur acheteur. Avant la vente, l'éleveur X réalise un dépistage sérologique à l'aide du test ELISA commercialisé par ThermoFisher Scientific (test 2). Le taureau de remplacement et six génisses de l'exploitation ayant été élevés avec ce même taureau sont testés. Le taureau de remplacement est trouvé positif (proche du seuil de séropositivité), en revanche, les six génisses du lot sont testées négatives.

La question d'intérêt pour l'éleveur est la suivante :

**Le taureau est-il réellement séropositif à la fièvre Q ? Ou, s'agit-il d'un faux positif dans un élevage indemne ?**

Il revient au vétérinaire ou au laboratoire d'accompagner le résultat de ces analyses avec une interprétation qui réponde à cette question.

### VI.2. Premiers éléments de réponse sur la base des résultats acquis sur les sept individus testés

En l'absence de précision du contexte épidémiologique, sachant qu'un animal a été testé positif avec le test 2 parmi les sept prélevés dans un troupeau bovin de type de production allaitant et de taille 160 individus :

- La probabilité que l'élevage soit réellement séropositif est de 0,29 (IC à 95 % [0,01 ; 0,94]) ;
- La probabilité que le taureau testé positif soit réellement séropositif est de 0,8 (IC à 95 % [0,09 ; 0,97]).

Les deux intervalles de crédibilité à 95 % sont larges et, en l'état actuel, l'interprétation des résultats du plan de dépistage ne permet pas de conclure quant au statut sérologique, ni du troupeau, ni de l'élevage.

Après interrogation du laboratoire vétérinaire départemental, il s'avère que moins de 10 % des avortements chez les bovins allaitants du département considéré sont imputés à *C. burnetii*. L'élevage X ne présente par ailleurs aucun signe clinique de fièvre Q (absence d'avortement rapporté par l'éleveur). Il a donc été décidé de réaliser de nouveau les calculs en précisant que la séroprévalence inter-élevage est inférieure à 10 % (Figure D-13).

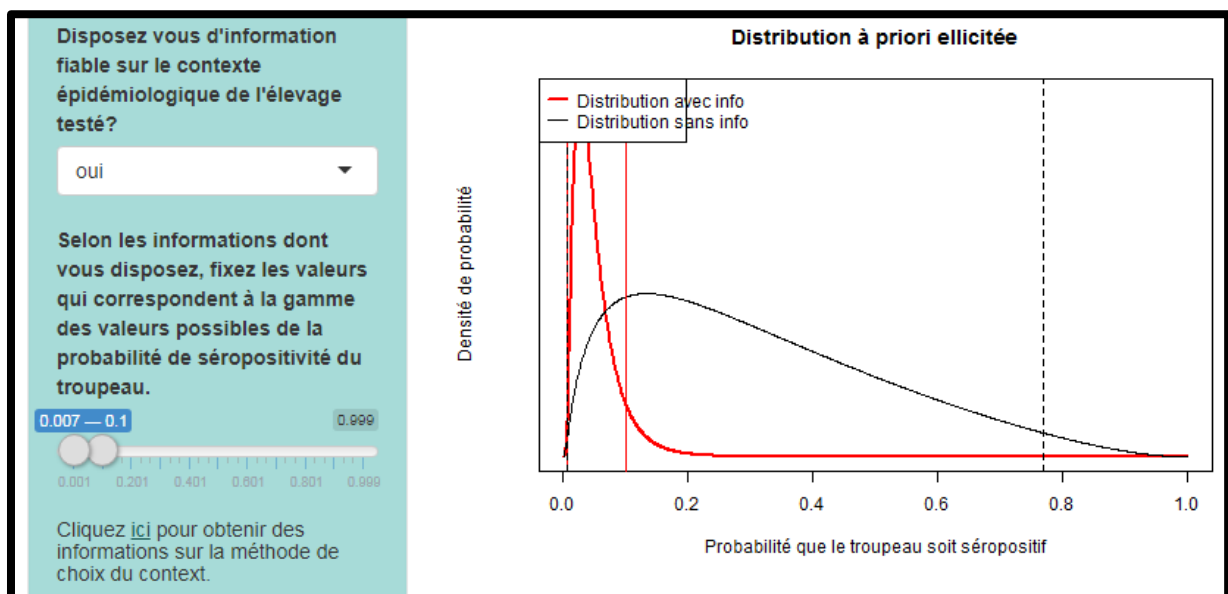


Figure D-13 : Capture d'écran de l'étape 4 en abaissant la borne supérieure de la gamme des valeurs à 0,1.

Après la prise en compte du contexte épidémiologique de l'élevage X,

- la probabilité que l'élevage soit réellement séropositif est de 0,09 (IC à 95 % [0,01 ; 0,29]) ;
- la probabilité que le taureau testé positif soit réellement séropositif est de 0,54 (IC à 95 % [0,08 ; 0,87]).

Conformément à l'information supplémentaire incluse dans le modèle, on constate que les probabilités de séropositivité du troupeau et du taureau ont diminué. Il reste cependant près d'une chance sur deux que le taureau soit réellement séropositif avec un intervalle de crédibilité large.

### VI.3. Seconds éléments de réponse à la suite du test de l'intégralité du troupeau

Pour préciser le statut du troupeau, l'éleveur et son laboratoire vétérinaire décident de retester l'intégralité des sérums collectés lors de la campagne de prophylaxie sanitaire réalisée l'année précédente dans ce troupeau dans le cadre du dépistage sérologique de la rhinotrachéite infectieuse bovine, de la brucellose et de la leucose bovine enzootique. Ainsi, 149 sérums sont testés avec le test 2. Cinq sérums sont positifs.

En l'absence de précision relative au contexte épidémiologique, sachant que cinq animaux ont été testés positifs avec le test 2 parmi les 149 analysés dans un troupeau bovin de type de production allaitant et de taille 160 alors,

- la probabilité que l'élevage soit réellement séropositif est de 0 [0 ; 0,58] ;
- la probabilité que le taureau testé positif soit réellement séropositif est de 0 [0 ; 0,59].

Après prise en compte du contexte épidémiologique de l'élevage X,

- la probabilité que l'élevage soit réellement séropositif est de 0 (IC 0 ; 0,15) ;
- la probabilité que le taureau testé positif soit réellement séropositif est de 0 [0 ; 0,26].

### VI.4. Bilan

L'analyse de 149 sérums de l'élevage et l'interprétation du nombre d'individus testés positifs parmi les 149 ont permis d'estimer que la probabilité de séropositivité de l'individu et du troupeau est proche de 0. La prise en compte du contexte épidémiologique de l'élevage permet de limiter l'incertitude des estimations et donc de préciser que la probabilité de séropositivité de l'élevage est estimée à 0 et qu'elle a 97,5 % de chance d'être inférieure à 0,15. La probabilité de séropositivité du taureau lui-même est également estimée à 0 et à 97,5 % de chance d'être inférieur à 0,26, malgré le fait qu'il ait été testé positif en avec le test 2.

## VII. Discussion

La méthodologie et l'application développées dans cette étude permettent d'interpréter de façon probabiliste les résultats d'un plan de dépistage sérologique des infections par *C. burnetii*. Étant donnée l'incertitude diagnostique associée aux tests ELISA commercialisés, cette méthode permet de traduire les résultats du plan de dépistage en une information exploitable par l'utilisateur du test et donc par l'éleveur.

Une concertation avec de potentiels utilisateurs de l'application (par exemple, les laboratoires départementaux d'analyses, vétérinaires, les GDS, les acteurs de la plateforme ESA...) est prévue afin de préciser leurs attentes et d'y répondre au mieux. L'application est donc encore au stade de développement : l'architecture et la présentation sont amenées à évoluer.

### VII.1. Cadre et objectif de l'utilisation

Le modèle implémenté dans cette étude a pour objectif de calculer des probabilités de séropositivité du troupeau ou des individus. Ces probabilités de séropositivité doivent être interprétées avec précaution étant donnée la persistance d'anticorps plusieurs années après l'infection chez les ruminants domestiques (Berri et al., 2007; Plommet et al., 1973) et les nombreux cas rapportés d'individus séronégatifs alors que de l'ADN de *C. burnetii* est détecté dans leurs fèces, leur mucus vaginal et/ou leur lait (Djebib et al., 2018; Guatteo et al., 2007; Joulié et al., 2017; Rousset et al., 2009). À l'échelle individuelle, le statut réellement séropositif correspond à un individu ayant des anticorps dirigés contre *C. burnetii* dans son sérum, et donc à un individu ayant été infecté (sans nécessairement développer de signes cliniques) par *C. burnetii*. À l'échelle de l'élevage, le statut réellement séropositif correspond à un élevage dont la séoprévalence intra-élevage réelle est non nulle, et donc en pratique à un élevage comprenant au moins un individu réellement séropositif.

Pour permettre au modèle de converger, nous avons utilisé des distributions *a priori* informatives sur l'ensemble des paramètres du modèle. Les paramètres de ces distributions *a priori* ont été obtenus à partir des estimations réalisées sur un jeu de données de 9972 bovins, 5024 caprins et 7632 ovins issus respectivement de 731, 349 et 522 élevages sélectionnés de façon aléatoire dans 10 départements en France. Ces données correspondent à des données de dépistage sérologique des infections par *C. burnetii* et les résultats qui en découlent doivent être utilisés dans ce contexte. Ainsi, l'application pourra être utilisée, par exemple, pour évaluer le statut d'un troupeau ou d'un animal avant un achat ou un regroupement d'animaux (par exemple, avant la montée en alpage ou avant la participation à une foire agricole). En revanche, les  $Se$  et  $Sp$  estimées à partir du jeu de données ne sont pas extrapolables aux résultats des analyses sérologiques réalisées dans un contexte de surveillance événementielle des avortements. Dans ce contexte, si l'épisode abortif est effectivement dû à *C. burnetii*, il est possible que les  $Se$  et  $Sp$  ou la distribution des séoprévalences intra-élevages varient. Le modèle développé ici ne doit donc pas être utilisé pour imputer un épisode abortif à *C. burnetii* dans un élevage.

### VII.2. Ajustement du modèle à la situation réelle, incertitude et variabilité des estimations

#### VII.2.1 Largeurs des intervalles de crédibilité

Les probabilités de séropositivité sont estimées en prenant en compte le nombre d'analyses effectivement réalisées, le nombre d'individus testés positifs et les caractéristiques de l'élevage (type de production et taille de l'élevage). Malgré cela, étant donnée la variabilité importante des séoprévalences intra- et inter-élevages des infections par *C. burnetii* entre les différents élevages et départements, les intervalles de crédibilité à 95 % des probabilités de séropositivité estimées par le modèle sont souvent larges lorsque peu d'individus sont testés positifs (incluant parfois simultanément 5 % et 95 % de probabilité que le troupeau ou l'individu soient réellement séropositifs). Ces larges intervalles de crédibilité sur les estimations sont le reflet d'une grande variabilité des situations épidémiologiques sur le terrain et des performances diagnostiques relativement faibles des

tests ELISA commercialisés. Ils permettent à l'utilisateur d'appréhender l'information réellement apportée par le plan de dépistage et sa variabilité en fonction du contexte épidémiologique.

L'estimation des probabilités de séropositivité avec leur incertitude permet d'analyser de façon critique les règles d'interprétation classiquement utilisées pour les plans de dépistage de la fièvre Q chez les ruminants domestiques. Ainsi, un troupeau est souvent considéré comme positif dès qu'un bovin a été testé positif dans un élevage (Gache et al., 2017; Galluzzo et al., 2019; Schimmer et al., 2014; Villari et al., 2018). Dans l'exemple développé plus haut, la largeur de l'intervalle de crédibilité à 95 % ([0,01 ; 0,94]) associée à la probabilité que le troupeau soit séropositif (sachant qu'un bovin parmi les sept testés est positif avec le test 2), illustre le fait que ce plan de dépistage n'apporte pas une information suffisante pour déterminer le statut sérologique du troupeau et des animaux testés. Dans la Partie 4 de la thèse, d'autres plans de dépistage sérologiques sont proposés en fonction des objectifs de leur réalisation et de leurs valeurs prédictives qui calculées avec la méthodologie présentée dans cette étude.

## VII.2.2 Lever pour améliorer la précision des estimations

La prise en compte de la variabilité des séroprévalences intra- et inter-élevages sous forme d'effet aléatoire est essentielle lorsque la situation épidémiologique de l'élevage est inconnue, pour éviter d'avoir à fixer de façon arbitraire des valeurs de séroprévalence attendue. Cependant, cette forte variabilité peut également augmenter la variabilité des valeurs prédictives lorsque la situation épidémiologique de l'élevage est partiellement connue.

### VII.2.2.1 Prise en compte d'autres facteurs de risques

Pour limiter au maximum les conséquences de cette variabilité, l'ensemble des facteurs de risques liés à l'espèce, la taille de l'élevage ou le type de production ont été implémentés dans le modèle. Ainsi, à chaque utilisation, la gamme de variabilité des séroprévalences inter et intra-élevages est adaptée à chaque élevage en fonction de ses caractéristiques. La prise en compte d'autres facteurs de risque que ceux étudiés dans la Partie 2 de la thèse, comme le nombre d'animaux introduits annuellement (Schimmer et al., 2014) ou la présence d'un autre atelier de production dans l'élevage (Anastácio et al., 2013; Rizzo et al., 2016), pourraient éventuellement permettre d'affiner les valeurs prédictives. Néanmoins, ces facteurs de risque n'ont pas été évalués en prenant en compte l'incertitude des tests ELISA utilisés et ils ne sont donc pas directement comparables avec ceux inclus dans cette étude.

### VII.2.2.2 Prise en compte de l'ensemble des résultats du troupeau à l'échelle intra-élevage

En plus des caractéristiques de l'élevage, le modèle estime systématiquement les valeurs prédictives à l'échelle individuelle en prenant en compte l'intégralité des résultats obtenus dans l'élevage. Ainsi, le modèle estime dans chaque élevage la séroprévalence intra-élevage correspondant au nombre d'individus réellement séropositifs parmi ceux testés. Plus le nombre d'individus testés est grand, plus la précision de l'estimation de la séroprévalence intra-élevage augmente et, par conséquent, plus la précision de l'estimation des valeurs prédictives à l'échelle individuelle augmente.

### VII.2.2.3 Prise du contexte épidémiologique à l'échelle inter-élevage

À l'échelle inter-élevage, l'utilisateur a le choix de renseigner, ou non, une gamme des valeurs possibles de la séroprévalence intra-élevage attendue. Idéalement, le choix de cette gamme de valeurs devrait s'appuyer sur des données épidémiologiques obtenues dans le département, comme la proportion d'élevages séropositifs de taille et de type de production similaires, car cette information est directement intégrable de façon objective dans le modèle.

Néanmoins, d'autres sources d'information peuvent être prises en compte par l'utilisateur de l'application, comme l'occurrence d'avortements imputés à *C. burnetii* ou plus globalement l'historique de l'élevage vis-à-vis des infections par *C. burnetii*. Ces informations sont souvent difficilement extrapolables en une valeur précise de séroprévalence attendue. Afin de limiter les

problèmes d'extrapolation et pour intégrer une part d'incertitude dans l'information renseignée, l'utilisateur peut, selon son expertise, renseigner une gamme des valeurs possibles pour la séroprévalence inter-élevage attendue dans l'élevage concerné par le plan de dépistage.

La gamme des valeurs possibles renseignée par l'utilisateur a été traduite en quantiles 2,5 et 97,5 %, qui servent ensuite à ajuster une distribution beta à l'aide du package SHELf. Pour bien évaluer les conséquences de la gamme de valeur spécifiée sur la distribution *a priori* de la séroprévalence inter-élevage, l'utilisateur peut visualiser en temps réel la densité de probabilité de la distribution beta qu'il ajuste tout en la comparant à la distribution *a priori* sans précision du contexte. Ces courbes dynamiques visent à indiquer à l'utilisateur l'importance de l'effet des données d'entrée sur l'interprétation des résultats. Elles incitent indirectement l'utilisateur à s'appuyer sur des données existantes plutôt que sur le hasard. L'utilisateur peut ainsi choisir d'adapter le contexte épidémiologique du modèle pour obtenir des estimations des valeurs prédictives qui tiennent également compte de son avis d'expert et des données dont il dispose sur le statut du troupeau.

### VII.3. Modèle et méthode d'inférence utilisées

#### VII.3.1 Information *a priori* incluse dans le modèle

##### VII.3.1.1 Intérêt de l'utilisation des distributions marginale

Les probabilités de séropositivité de l'élevage ( *HVP* ) pourraient être calculées à partir d'un échantillon joint des paramètres du modèle ( $Se$ ,  $Sp$ ,  $\mu_{BHP}$ ,  $\sigma_{BHP}$ ,  $\mu_{WHP}$ , et  $\sigma_{WHP}$ ) à condition de simuler les valeurs correspondantes de *WHP* et *BHP* en fonction des caractéristiques de l'élevage. En revanche, pour obtenir une estimation de la séroprévalence intra-élevage conditionnelle d'un élevage séropositif sachant que  $N_{pos}$  individus ont été testé positifs, il est nécessaire de réaliser l'inférence une fois les résultats du plan de dépistage obtenus. Pour limiter le temps de calcul nécessaire à la réalisation de cette inférence, nous avons préalablement estimé les distributions *a posteriori* marginales de chaque paramètre du modèle à partir de l'ensemble des données du dispositif de surveillance de la fièvre Q et du projet KitEval 4500. Ainsi, à la place de plusieurs heures dans un modèle qui inclurait également l'ensemble des données disponibles, l'utilisateur peut obtenir en quelques secondes les probabilités de séropositivité de son élevage. Ce gain de calculs entraîne des sources d'erreurs possibles.

##### VII.3.1.2 Risque de biais lié à la corrélation structurelle entre les paramètres du modèle

Premièrement, en ajustant les distributions marginales de chacun des paramètres, on ne prend plus en compte la corrélation structurelle entre les différents paramètres du modèle. Par exemple, les  $Se$  des tests sont négativement corrélées avec moyennes des distributions intra-élevages (*i.e.*, lorsque les  $Se$  sont échantillonnées à des valeurs faibles dans les MCMC,  $\mu_{WHP}$  est échantillonnée à des valeurs plus hautes). Le principal risque de biais lié à la non-prise en compte de la corrélation structurelle est une augmentation limitée de la largeur des intervalles de crédibilité estimée par le modèle, car certaines combinaisons des valeurs de paramètres, en particulier celles qui conduisent aux probabilités de séropositivité les plus contrastées, sont plus probables que lorsque la corrélation structurelle est prise en compte.

##### VII.3.1.3 Risque de biais lié à l'ajustement des distributions marginales

La seconde source d'erreur possible est liée à la méthode d'ajustement des distributions marginales avec le package `fitdistrplus`. Car, même si l'ajustement des distributions a été réalisé à partir de l'ensemble des 15 000 échantillons de la MCMC en vérifiant l'adéquation entre les distributions empiriques et ajustées de chaque paramètre, l'ajustement d'une forme de distribution connue sur une distribution empirique reste une simplification de la distribution réelle (Delignette-Muller and Dutang, 2015).



#### VII.3.1.4 Bilan de l'utilisation des distributions marginale

À partir des résultats préliminaires obtenus (non présentés dans cette étude), les conséquences de ces deux sources d'erreurs sont limitées pour estimer les probabilités de séropositivité des individus ou élevages. Toutefois, elles devraient être évaluées précisément, en comparant les estimations des probabilités de séropositivité obtenues dans un modèle combinant le calcul des probabilités de séropositivité avec l'estimation des paramètres du modèle à partir de l'ensemble des données de la thèse et celles obtenues en utilisant uniquement les distributions marginales des paramètres du modèle. Cette comparaison sur une large gamme de plans de dépistage dans des élevages d'espèces et de types de production différents devra être réalisée avant la mise à disposition de l'application.

#### VII.3.2 Distribution binomiale du nombre d'individus testés positifs

##### VII.3.2.1 Limites d'application des distributions binomiales

Une des hypothèses principales du modèle est que le nombre d'individus positifs suit une distribution binomiale de taille égale au nombre d'individus testés dans l'élevage et de probabilité égale à  $Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP)$ . La distribution binomiale correspond à un tirage aléatoire avec remise ce qui n'est généralement pas le cas lors du dépistage des infections par *C. burnetii*, car chaque individu n'est testé qu'une fois. En l'absence de remises, la distribution binomiale est considérée comme valable lorsque la taille de la population est très grande (ici la taille de l'élevage) par rapport au nombre d'individus testés (en pratique si la taille de l'échantillon est inférieure à 10 % du nombre total d'individus présents dans l'élevage). Ainsi, plusieurs auteurs préconisent d'utiliser une distribution hypergéométrique lorsque la taille de l'échantillon est supérieure à 10 % par rapport à la taille de l'élevage (Gautam et al., 2019; Paterson et al., 2020).

Cependant, l'implémentation d'une distribution hypergéométrique est complexe et elle représente soit peu d'intérêt soit un risque de biais. En effet, pour inclure une distribution hypergéométrique dans le modèle, il faut modéliser le nombre d'individus positifs présents dans l'élevage. Deux types d'approches ont été proposées pour le faire, soit en considérant que le nombre d'individus positifs dans l'élevage est une variable aléatoire soit en considérant qu'il est fixe pour une séroprévalence intra-élevage donnée.

##### VII.3.2.2 Limites liées à l'implémentation des distributions hypergéométriques

Certains auteurs proposent de modéliser le nombre d'individus testés positifs dans l'élevage d'après une distribution binomiale de probabilité  $Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP)$ , puis de modéliser le nombre d'individus testés positifs selon une distribution hypergéométrique (Jones and Johnson, 2016). Sous cette forme, la distribution hypergéométrique n'intervient que marginalement, quelle que soit la taille de l'échantillon par rapport à la taille de l'élevage, car, pour un même nombre d'individus testés positifs présents dans l'élevage, la séroprévalence intra-élevage varie à chaque itération de la MCMC. Donc, même si la mise en place de la distribution hypergéométrique, sous cette forme, permet d'évaluer précisément la proportion d'individus testés positifs présents dans l'élevage, elle ne permet pas d'estimer plus précisément la séroprévalence intra-élevage lorsque cette dernière est modélisée directement à l'aide d'une distribution binomiale.

Une autre solution est de considérer que le nombre d'individus testés positifs dans l'élevage corresponde à l'espérance de la distribution binomiale de probabilité  $Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP)$  (Gautam et al., 2019; Paterson et al., 2020). Pour une valeur de séroprévalence intra-élevage donnée, l'espérance de la loi binomiale est fixe, cela revient donc à considérer que pour une séroprévalence intra-élevage et des  $Se$  et  $Sp$  données, le nombre d'individus testés positifs avec un test imparfait est fixe. Si la valeur de la probabilité de la distribution binomiale est inférieure à 1 %, cela revient à supposer qu'il serait impossible d'observer un animal positif dans un élevage de taille inférieure à 100 individus.

Ces deux approches d'implémentation d'une distribution hypergéométriques ont donc chacune des limites qui, dans un objectif de parcimonie du modèle, nous ont poussés à favoriser la modélisation du nombre d'individus testés positifs dans l'élevage selon une distribution binomiale. Ce choix peut entraîner des estimations de séroprévalence intra-élevage avec une incertitude relativement grande même lorsque l'intégralité des animaux de l'élevage a été testée, en particulier pour les élevages de petite taille. Les conséquences de la non-implémentation d'une distribution hypergéométrique devraient être évaluées par simulation ce qui n'a pas été réalisé à ce jour. Des concertations avec les utilisateurs potentiels de l'application pourraient également participer à la décision du type de distribution à implémenter, soit une distribution binomiale qui fournira des estimations moins précises soit une distribution hypergéométrique plus précise, mais présentant un risque de biais dans certaines situations.

#### VII.4. Interprétation de l'incertitude et seuil de décision

Une des questions principales que soulève l'utilisation de cette application est la façon dont doivent être interprétées les probabilités de séropositivité et leur incertitude. L'étude ne préconise pas de valeurs seuils de probabilité nécessaires pour déclarer un individu ou un troupeau comme réellement séropositif ou séronégatif. L'application permet de quantifier le risque de séropositivité des animaux ou des troupeaux et le choix d'un seuil de décision dépend des objectifs de l'utilisateur. Ce choix doit être réalisé en fonction des conséquences (rapport coût-bénéfice) de la classification, à tort ou à raison, des individus et des troupeaux comme séropositifs ou séronégatifs sachant qu'ils sont réellement séropositifs ou séronégatifs. Par exemple, les conséquences liées à l'introduction d'un animal réellement séropositif (et donc potentiellement excréteur s'il est toujours infecté) dans un troupeau indemne seront beaucoup plus importantes que celles liées à l'introduction du même animal dans un troupeau séropositif. En complément de cet outil, il serait pertinent d'engager des travaux avec les utilisateurs et professionnels pour proposer des règles de décision adaptées à chaque contexte sur la base des valeurs prédictives estimées par le modèle.

### VIII. Conclusion

Cette étude propose une méthodologie complète, allant de l'implémentation du modèle à sa mise à disposition sous la forme d'une application web, pour interpréter les résultats d'un plan de dépistage sérologique des infections par *C. burnetii*. À partir du nombre d'individus positifs parmi les individus testés, des caractéristiques et du contexte épidémiologique de l'élevage, elle fournit une estimation des probabilités de séropositivité de l'élevage et des individus testés en prenant en compte l'incertitude diagnostique du test utilisé et la variabilité des séroprévalences inter- et intra-élevages. Son interface simple d'utilisation et les informations qu'elle fournit à l'utilisateur permettront de préciser les informations apportées par le plan de dépistage et de rationaliser les décisions de gestion des individus testés ou de prévention des infections par *C. burnetii*.

## E. PARTIE 4 : VALORISATION DES TRAVAUX ET PERSPECTIVES

---

## PRÉAMBULE

Dans la partie 1, nous avons estimé les Se et Sp à l'échelle individuelle et troupeau des trois tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques. L'incertitude diagnostique associée aux Se et Sp imparfaites des tests ELISA ont des conséquences importantes par rapport à leur utilisation en pratique que nous avons prise en compte dans les parties 2 et 3 pour obtenir des estimations des séroprévalences réelles et pour interpréter les résultats de plans de dépistage des infections par *C. burnetii* (Figure E-1). L'ensemble de ce travail permet de souligner l'importance de prendre en compte l'incertitude diagnostique des tests ELISA commercialisés lors de leur utilisation pour le contrôle dans les élevages de ruminants domestiques.

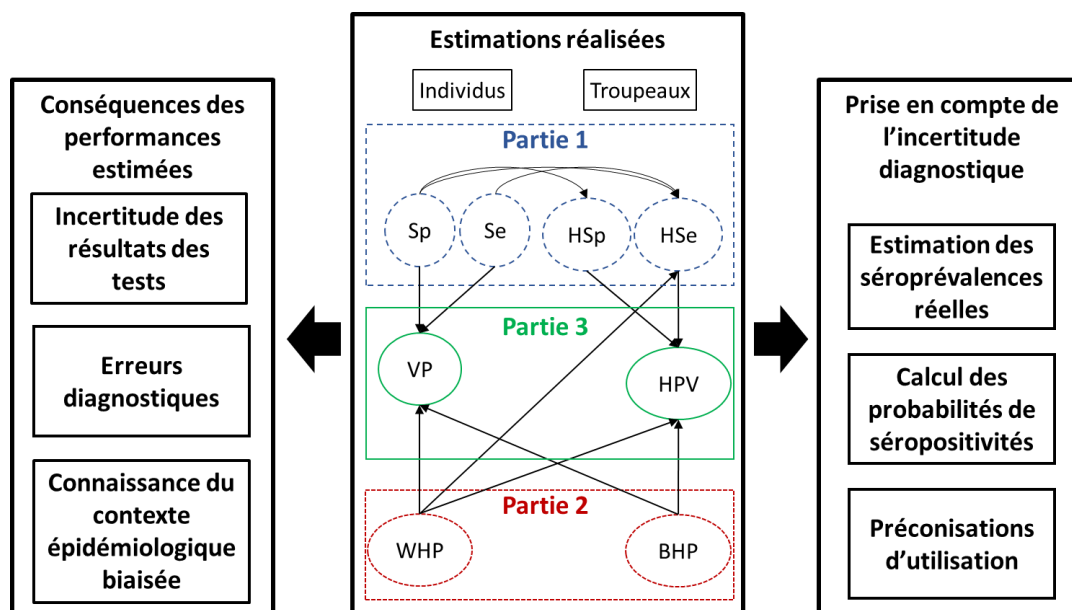


Figure E-1 : Schéma des paramètres estimés dans chaque partie en lien avec les performances des tests sérologiques ELISA commercialisés pour le diagnostic, le dépistage et les enquêtes épidémiologiques des infections par *C. burnetii* : conséquences et solutions mises en œuvre pour prendre en compte leur incertitude diagnostique.

*Sp* : spécificité, *Se* : sensibilité, *HSp* : Spécificité à l'échelle du troupeau, *HSe* : Sensibilité à l'échelle du troupeau, *VP* : valeur prédictive (probabilité de séropositivité de l'individu sachant le résultat du test), *HVP* : valeur prédictive à l'échelle du troupeau (probabilité de séropositivité du troupeau sachant les résultats du test), *WHP* : séroprévalence intra-élevage, *BHP* : séroprévalence inter-élevage.

Après avoir illustré les conséquences des performances diagnostiques estimées sur l'utilisation des tests ELISA à l'échelle individuelle et collective chez les ruminants domestiques, nous évaluerons les avantages et inconvénients de chaque test ELISA, puis les différents plans de dépistage à l'échelle du troupeau, actuellement réalisés ou envisageables, à partir de critères basés sur les performances diagnostiques et sur le risque de séropositivité des élevages de ruminants (Figure E-2).

Nous nous appuyerons sur le volet sérologique des deux plans de dépistage les plus utilisés en France, le protocole OSCAR, utilisé lors du diagnostic différentiel des avortements et le plan utilisé lors de la recherche de l'origine de cas humains groupés (noté respectivement « OSCAR » et « N = 15 » dans la Figure E-2).

Pour rappel, dans le protocole OSCAR, lorsque le « volet PCR » est non conclusif (*i.e.*, une seule des deux femelles prélevées est positive en PCR sur écouvillon vaginal), les prises de sang de six bovins ou 10 ovins/caprins sont analysées par ELISA (OSCAR, 2020a, 2020b). La série abortive est attribuée à *C. burnetii*, si plus de 50 % des individus prélevés sont testés positifs. L'objectif du volet sérologique est donc de confirmer que l'élevage est réellement séropositif tout en vérifiant que sa séroprévalence

intra-élevage est élevée, comme indice d'une pression d'infection.

Pour le protocole utilisé lors de la recherche de la (des) source(s) d'exposition humaine, il est actuellement préconisé de réaliser des prélèvements sérologiques et des écouvillons vaginaux sur 15 femelles de chaque élevage suspecté et de n'analyser les PCR que si au moins un animal est testé positif en sérologie (DGAL, 2010). Le premier objectif du plan de dépistage sérologique est de détecter un maximum de troupeau réellement séropositif, tout en évitant de réaliser les PCR inutilement dans des troupeaux réellement séronégatifs.

Après avoir estimé les performances des tests utilisés dans ces deux domaines différents d'application, nous évaluerons leur potentiel respectif pour confirmer le statut réellement séropositif d'un troupeau en estimant le nombre d'individus testés positifs minimal qu'il est nécessaire d'observer pour pouvoir conclure en fonction des indicateurs évalués. Ensuite, nous chercherons les plans de dépistage les plus adaptés pour chaque test et chaque espèce pour confirmer un statut négatif et pour évaluer le statut des élevages (Figure E-2).

Pour comparer les différents tests et pour évaluer les différents plans de dépistage, nous utiliserons à la fois des indicateurs basés uniquement sur les performances (Se, Sp, HSe et HSp) et des indicateurs qui tiennent compte des risques de séropositivité. Les indicateurs basés sur les performances sont calculés à partir des estimations réalisées dans la partie 1 uniquement. Les indicateurs basés sur le risque sont calculés à partir des estimations des paramètres obtenus dans la partie 3 (qui combine celles obtenues dans les parties 1 et 2). Quel que soit le type d'indicateur considéré, les estimations sont réalisées par inférence bayésienne selon la méthodologie présentée dans la partie 3.

Préconisations d'utilisations			
Performances des plans existants		Recherche de plans optimaux	
Critères de choix du test à utiliser		Détecter les positifs Confirmer un statut négatif	Évaluer le statut des élevages
À l'échelle <b>individuelle</b>	À l'échelle des <b>troupeaux</b>		
Se + Sp	HSe + HSp	Nombre minimal d'individus à tester	Nombre optimal d'individus à tester
Individus FP + FN	Troupeaux FP + FN	HSe > 95%	HSe + HSp
		HVPN > 95%	Troupeaux FP + FN
	OSCAR N = 15	N = ?	N = ?
	Probabilités de séropositivités associées aux résultats des plans		
	Nombre d'individus testés positifs nécessaire pour <b>confirmer un statut positif</b>		
	OSCAR N = 15		

Figure E-2 : Critères utilisés pour évaluer les tests et les plans de dépistage sérologiques des infections par *C. burnetii* en fonction des échelles et des objectifs de chaque plan de dépistage.

Les critères entourés en pointillés sont basés sur les performances uniquement et les critères entourés en trait plain prennent en compte le contexte épidémiologique. Sp : spécificité, Se : sensibilité, HSp : Spécificité à l'échelle du troupeau, HSe : Sensibilité à l'échelle du troupeau, FP = Faux positif, FN = Faux négatif, HVPN : valeur prédictive négative du plan de dépistage (probabilité que les troupeaux négatifs soit réellement séronégatifs)

En fin de discussion, nous présenterons les perspectives de ces travaux, d'abord en lien avec les résultats obtenus, puis en lien avec les autres utilisations possibles des données utilisées et enfin en lien avec la méthodologie développée dans ces travaux.

## I. Conséquences des performances diagnostiques estimées

### I.1. Robustesse et limites des estimations des Se et Sp

#### I.1.1 Données utilisées

L'étude de la partie 1, porte sur la comparaison des tests 1, 2 et 3 aux seuils préconisés par les fabricants (les seuils qualifiés douteux étant considérés comme positifs) et s'appuie sur l'analyse de 4319 échantillons de sérum prélevés sur des bovins, caprins et ovins dans 10 départements français. Au regard des études de comparaison des tests publiées jusqu'à présent, cette collection est la plus représentative des 3 espèces et de la diversité des zones de productions d'élevages de ruminants sur un territoire.

#### I.1.2 Contexte d'application des estimations réalisées

Cette étude a été réalisée sur des sérums prélevés dans le cadre d'une enquête de dépistage sérologique, comme cela est d'ailleurs le cas dans la plupart des études réalisées à notre connaissance. Ce panel d'échantillons représente une large variété d'âges, de parités, de stades ou formes d'infection (récente ou latente, avec ou sans portage, avec ou sans excrétion). En revanche, les formes cliniques abortives sont peu ou pas représentées, donc nous ne pouvons pas exclure la possibilité que les valeurs de Se et Sp estimées aient été différentes si l'étude avait spécifiquement porté sur des animaux ayant récemment avorté à cause de *C. burnetii* et/ou excréteurs de la bactérie. Notre étude s'applique à un contexte de dépistage visant à déterminer les statuts sérologiques des individus ou troupeaux ciblés, qui peut être utile, entre autres, lors :

- D'un achat ou d'un export ;
- D'investigations d'élevages identifiés comme potentielles sources de cas humains, groupés (ou à risque de l'être dans le cas de fréquentation d'un public) ;
- Du diagnostic différentiel d'avortements (le recours à la sérologie étant alors un complément éventuel aux investigations par tests PCR, qui eux sont réalisés sur les femelles ayant avorté récemment) ;
- Lors d'enquêtes épidémiologiques, pour estimer des séroprévalences ou des facteurs de risques de séropositivité.

#### I.1.3 Comparaison des Se et Sp estimées avec les études précédentes

En l'absence de gold standard, pour chaque espèce de ruminant, la modélisation des résultats croisés des trois tests dans un seul modèle à classes latentes a permis d'estimer une dépendance conditionnelle élevée chez les individus séropositifs, entre deux des trois tests ELISA. Ainsi, alors que les sensibilités de ces deux tests avaient été estimées à des valeurs élevées quelle que soit l'espèce de ruminant (de 70,1 % à 100 % pour le test 1 (Horigan et al., 2011; Muleme et al., 2016) et de 81,4 à 100 % pour le test 2 (Emery et al., 2014; Lucchese et al., 2016)) nous avons estimé des sensibilités plus faibles allant de 39,3 % chez les ovins à 72,0 % chez les bovins pour le test 1 et de 53,8 % chez les ovins à 75,2 % chez les caprins pour le test 2 (Tableau E-1). Cette dépendance conditionnelle élevée chez les individus séropositifs entre les tests 1 et 2 a pu être mise en évidence grâce à l'inclusion des résultats du test 3 dont la sensibilité a été estimée à des valeurs plus élevées à la fois chez les ovins (86,9 %), caprins (90,5 %) et bovins (89,0 %).

À notre connaissance, le test 3 n'avait été évalué que dans une autre étude (Horigan et al., 2011), dans laquelle sa sensibilité avait été estimée comme étant basse (de 31,0 % chez les caprins à 51,9 % chez les bovins). Néanmoins, même si l'étude d'Horigan et al. modélisait également les résultats des trois tests ELISA (et d'un test de fixation du complément) par des modèles à classes latentes, elle ne prenait pas en compte la dépendance conditionnelle entre les différents tests, ce qui peut expliquer en partie

les différences de sensibilités estimées entre l'étude d'Horigan et la nôtre. Les spécificités des trois tests sont plus élevées, allant de 95,9 % chez les bovins à 99,2 % chez les ovins pour le test 1, de 97,5 % chez les bovins à 99,1 % chez les caprins pour le test 2 et de 94,8 % chez les bovins à 98,5 % chez les ovins pour le test 3 (Tableau E-1). La dépendance conditionnelle entre les trois tests chez les individus séronégatifs a été estimée à des valeurs basses, mais non nulles chez les caprins, ovins et bovins. Ces valeurs sont plus en accord avec la majorité des publications scientifiques ayant évalué les spécificités d'au moins un des trois tests ELISA. Seule une étude estimait une Sp d'un des tests inférieure à 90 % chez les caprins (Lucchese et al., 2016), mais cette étude manquait de puissance en raison d'une différence trop faible entre les séroprévalences des différentes populations considérées dans le modèle à classes latentes.

Nos estimations sont en accord avec les données de la littérature scientifique sur les tests sérologiques des infections par *C. burnetii* qui rapportent des discordances importantes entre les différents tests sérologiques (Böttcher et al., 2011; Rousset et al., 2007) et entre les tests sérologiques et PCR pour détecter les individus excréteurs et donc infectés parfois de façon chronique (Baumgärtner et al., 1993; Berri et al., 2005; de Cremoux et al., 2012; Djerbib et al., 2018; Guatteo et al., 2007; Rousset et al., 2009). Enfin, la robustesse de notre étude a été évaluée en estimant le biais relatif, l'erreur quadratique moyenne et la probabilité de couverture du modèle implémenté sur des jeux de données simulés de même structure que celui analysé. Ainsi, sur les données simulées, nous avons pu montrer que nos estimations étaient peu biaisées y compris pour des scénarios de simulation supposant que les trois tests étaient conditionnellement indépendants ou supposant que les Se ou Sp des tests étaient meilleures que celles estimées dans l'étude.

## 1.2. Conséquences de l'incertitude diagnostique des tests ELISA des infections par *C. burnetii*

### 1.2.1 À l'échelle individuelle

Ces estimations robustes et relativement faibles des Se des trois tests sérologiques étayant les recommandations de l'OIE, qui considère que les résultats des tests ELISA ne doivent pas être interprétés seuls à l'échelle individuelle (OIE, 2018).

#### 1.2.1.1 Conséquences de l'incertitude diagnostique à l'échelle individuelle

De fait, aucun des trois tests ELISA ne peut être considéré comme un test parfait à Se et Sp = 100 %. Chacun des trois tests présente un risque d'erreur et leurs résultats doivent être interprétés avec précaution (Tableau E-1). Ainsi, parmi les individus réellement séropositifs, environ six ovins sur dix, quatre caprins sur dix et trois bovins sur dix sont faussement négatifs et ne sont pas identifiés comme séropositifs avec le test 1. Le test 2 est légèrement plus sensible que le test 1 chez les ovins et caprins, avec près d'un ovin séropositif sur deux et un caprin séropositif sur quatre faussement testés négatifs. En revanche, ce test est moins sensible chez les bovins, avec environ un vrai séropositif sur trois qui est faussement testé négatif. Le test 3 est plus sensible que les deux autres avec une sensibilité de 86,9 à 90,5 %, ce qui représente tout de même près d'un ruminant réellement séropositif sur dix qui sera faussement testé négatif.

Tableau E-1 : Médiane et intervalle de crédibilité à 95 % des sensibilité et spécificité des trois tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii*.

		Bovin	Caprin	Ovin
Test 1	Se	72,0 [61,8 ; 80,8]	59,2 [53,5 ; 64,1]	39,3 [30,7 ; 47,0]
	Sp	95,9 [94,2 ; 97,7] *	99,1 [98,2 ; 99,7]	99,2 [98,5 ; 99,7]
Test 2	Se	61,9 [51,7 ; 71,8]	75,2 [68,4 ; 79,9]	53,8 [43,3 ; 61,8]
	Sp	97,5 [96,2 ; 98,7]	99,1 [98,1 ; 99,7]	98,4 [97,4 ; 99,3]
Test 3	Se	89,0 [78,5 ; 94,1]	90,5 [83,3 ; 93,8]	86,9 [71,2 ; 93,6]
	Sp	94,8 [92,1 ; 97,8]	96,0 [93,7 ; 97,6]	98,5 [97,3 ; 99,4]

\* La spécificité du test 1 est moins élevée dans un des départements étudiés chez les bovins.

Les trois tests ELISA sont plus spécifiques que sensibles et se trompent donc moins souvent pour les individus réellement séronégatifs qu'au sujet des individus réellement séropositifs. Néanmoins, d'après les résultats des modèles, aucun des trois tests n'est parfaitement spécifique. En particulier, le test 3 est le moins spécifique et donnera des résultats faussement positifs chez près de 5 % des bovins, 4 % des caprins et 1,5 % des ovins réellement séronégatifs. Les trois tests ont également tendance à être moins spécifiques chez les bovins par rapport aux autres espèces. Enfin, dans certaines zones géographiques chez les bovins (dans un des dix départements de l'étude), le test 1 semble encore moins spécifique (avec une spécificité estimée à 75 % dans ce département contre 95,9 % dans les autres départements).

#### 1.2.1.2 Conséquences de la dépendance conditionnelle des tests

Les tests 1 et 2 ont une dépendance conditionnelle élevée chez les animaux réellement séropositifs, quelle que soit l'espèce. Ainsi, les tests 1 et 2 ont tendance à fournir les mêmes résultats chez les individus réellement séropositifs. Si un individu est faux négatif (ou vrai positif) avec le test 1, il sera probablement également faux négatif (ou vrai positif) avec le test 2. Par exemple, la probabilité qu'un ovin soit testé faussement négatif avec le test 1, sachant qu'il est déjà faux négatif avec le test 2 est de 93,3 % alors qu'elle aurait été de 60,7 % si les tests avaient été indépendants conditionnellement (cf. partie 1 section III.2). De même, chez les individus réellement séronégatifs des trois espèces, la dépendance conditionnelle est faible, mais strictement positive pour chaque paire de tests. Par exemple, la probabilité qu'un bovin soit faux positif avec le test 1, sachant qu'il est déjà faux positif avec le test 3, est de 54,5 % alors qu'elle aurait été de 3,9 % si les tests avaient été conditionnellement indépendants. En conséquence, le fait de tester un ruminant domestique avec plusieurs tests ELISA simultanément pour vérifier son statut n'augmente que peu la fiabilité des résultats des tests, même s'ils fournissent le même résultat, car ils ont tendance à être faussement positifs ou négatifs en même temps.

**Quel que soit le résultat obtenu avec un test ELISA, il doit être interprété avec précaution étant donné le risque d'erreur de chaque test à la fois chez les individus réellement séropositifs (résultats faussement négatifs) et chez les individus réellement séronégatifs (résultats faussement positifs).**

**Quel que soit le test ELISA, un résultat positif chez un ruminant domestique apporte une plus grande information qu'un résultat négatif, car peu d'individus sont faussement positifs alors qu'une proportion importante est faussement négative.**

**Le fait de tester un sérum avec plusieurs tests ELISA différents n'augmentera que marginalement la fiabilité des résultats, car les tests sont conditionnellement dépendants et ont tendance à être faussement positifs ou faussement négatifs simultanément.**

#### 1.2.2 Conséquences des Se et Sp à l'échelle du troupeau

À l'échelle de l'élevage, si plusieurs individus sont testés pour évaluer le statut sérologique de l'élevage (« Présence d'au moins un individu réellement séropositif dans l'élevage » ou « Absence d'individu séropositif dans l'élevage »), les sensibilité et spécificité du plan de dépistage à l'échelle du troupeau (respectivement, notées HSe et HSp) vont dépendre à la fois des Se et Sp à l'échelle individuelle, du nombre d'individus testés, de la règle de décision utilisée pour considérer l'élevage comme séropositif, et de la séroprévalence intra-élevage (Christensen and Gardner, 2000).

##### 1.2.2.1 Prise en compte de la variabilité des HSe

La HSp est calculée pour une séroprévalence intra-élevage nulle. En revanche, plus la séroprévalence intra-élevage est élevée, plus la sensibilité à l'échelle du troupeau est élevée, car la probabilité d'échantillonner des individus réellement séropositifs parmi ceux testés augmente et donc la probabilité d'en tester un positif également. Les estimations ponctuelles et les intervalles de crédibilité



des HSe présentées dans le Tableau E-2 et dans la suite du document tiennent compte à la fois de l'incertitude des estimations des différents paramètres du modèle et de la variabilité des séroprévalences intra-élevages dans les élevages séropositifs. Les intervalles de crédibilité des HSe sont donc beaucoup plus larges que ceux des HSp.

Nous avons fait le choix de présenter les estimations des HSe sous cette forme (*i.e.*, médianes et intervalles de crédibilité) pour rendre compte de la variabilité importante des séroprévalences intra-élevages parmi les élevages séropositifs, plutôt que de calculer une valeur moyenne ou de fixer une valeur cible de séroprévalence intra-élevage. La plupart du temps, nous discuterons de la valeur médiane des HSe plutôt que de l'intervalle de crédibilité, car elle correspond à la valeur centrale de la distribution *a posteriori* du paramètre et elle nous semble plus facilement interprétable à l'échelle de la population. Cependant, dans les élevages à faible séroprévalence intra-élevage, la HSe sera plus basse que sa médiane et dans les élevages à forte séroprévalence, elle sera plus élevée. En fonction du contexte spécifique de chaque utilisateur, des estimations plus précises des HSe et de leur incertitude pourraient être réalisées.

#### 1.2.2.2 Comparaison entre les trois espèces

À nombre d'individus échantillonnés et règles d'interprétation fixes, les HSe sont plus élevées chez les caprins que chez les bovins et ovins, car d'une part les sensibilités des tests ELISA sont meilleures à l'échelle individuelle chez les caprins et d'autre part, les séroprévalences intra-élevages sont plus élevées dans les élevages caprins que dans les élevages ovins et bovins (cf. Partie 2 de la thèse). Les HSp sont plus faibles chez les bovins, car les trois tests sont moins spécifiques à l'échelle individuelle dans cette espèce.

#### 1.2.2.3 HSe et HSp du plan « N = 15 »

Lorsque l'on considère le troupeau comme séropositif à partir du moment où au moins un individu est testé positif, plus le nombre d'individus testés dans l'élevage est grand, plus la sensibilité à l'échelle du troupeau augmente, car en testant plus d'animaux on augmente la probabilité d'échantillonner des animaux réellement séropositifs et donc la probabilité d'en tester des positifs. Ainsi, en considérant l'élevage comme séropositif dès qu'un individu est testé positif, la sensibilité à l'échelle du troupeau est meilleure qu'à l'échelle individuelle dès qu'on teste un nombre suffisant d'animaux. Par exemple, alors que la sensibilité du test 1 chez les ovins est estimée à 39,3 % à l'échelle individuelle, la médiane de la sensibilité d'un plan de dépistage testant 15 ovins avec ce test est de 93,6 % (Tableau E-2). En revanche, même si les spécificités à l'échelle individuelle sont élevées, les HSp diminuent quand le nombre d'individus testés augmente. En effet, dans un élevage séronégatif, plus on teste d'animaux, plus le risque d'observer un résultat faussement positif parmi l'ensemble des individus testés augmente. Par exemple, alors que la spécificité du test 3 chez les caprins est de 96,0 % à l'échelle individuelle, la spécificité d'un plan de dépistage testant 15 caprins avec le test 3 est de 54,4 %.

Ainsi, si 15 animaux sont prélevés par élevage et que l'élevage est considéré comme séropositif dès qu'un individu est testé positif, le risque médian d'obtenir un résultat faussement négatif à l'échelle de l'élevage (de ne tester aucun animal positif dans un élevage réellement séropositif) est faible allant de 16,4 % des troupeaux ovins réellement séropositifs si on utilise le test 1 à moins de 1 % des troupeaux caprins si on utilise le test 3. Le risque d'obtenir un résultat faussement positif à l'échelle du troupeau (d'observer au moins un individu faussement positif dans un troupeau réellement séronégatif) est plus important, allant de 11 % chez les ovins en utilisant le test 1 à plus de 50 % chez les bovins en utilisant le test 3 (Tableau E-2).

#### 1.2.2.4 HSe et HSp du plan OSCAR

Pour le volet sérologique du dispositif OSCAR, le troupeau est considéré comme positif à partir du moment où plus de la moitié des 6 ou 10 individus prélevés est testée positive. Le risque d'obtenir un résultat faussement positif dans un troupeau réellement séronégatif est inférieur à 1 % quels que

soient le test et l'espèce considérée. En revanche, la sensibilité de ce plan de dépistage est plus faible et le risque médian d'obtenir un résultat faussement négatif dans un élevage réellement séropositif varie et 98,4 % chez les ovins testés avec le test 1 à 7,1 % chez les caprins testés avec le test 3. Étant donné que le statut ciblé par le dispositif OSCAR correspond plutôt aux élevages à forte séroprévalence, si les avortements en série sont dus à *C. burnetii*, la sensibilité de ce plan de dépistage est, en réalité, plus élevée que les valeurs médianes indiquées dans le Tableau E-2. Pour calculer de façon plus précise la sensibilité du plan de dépistage OSCAR pour imputer des avortements à *C. burnetii*, il faudrait préalablement déterminer la distribution des séroprévalences intra-élevages dans les élevages ayant récemment présenté des avortements imputés à *C. burnetii* (versus d'autres agents abortifs) ce qui n'est pas le cas des distributions des séroprévalences estimées dans la partie 2 de la thèse.

Tableau E-2 : Médiane et intervalle de crédibilité à 95 % des sensibilité et spécificité à l'échelle du troupeau des trois tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii*. Deux plans d'échantillonnage sont considérés (si 15 individus sont prélevés ou si 6 bovins ou 10 ovins/caprins). Un troupeau est considéré comme positif si au moins un individu est positif parmi ceux testés.

			Bovin	Caprin	Ovin
OSCAR	Test 1	HSe	37,9 [0,7 ; 91,5]	44,1 [86,1 ; 83,8]	1,6 [0,01 ; 27,4]
		HSp	99,8 [99,6 ; 99,9]*	100 [99,9 ; 100]	100 [100 ; 100]
	Test 2	HSe	26,6 [0,3 ; 80,8]	72,6 [24,8 ; 98,3]	6,1 [0,003 ; 59,7]
		HSp	99,9 [99,8 ; 99,9]	100 [99,9 ; 100]	100 [100 ; 100]
	Test 3	HSe	55,5 [1,4 ; 99,1]	92,9 [1,2 ; 99,9]	29,3 [12,5 ; 98,9]
		HSp	99,7 [99,1 ; 99,9]	99,9 [99,8 ; 100]	100 [100 ; 100]
N = 15	Test 1	HSe	99,8 [68,8 ; 100]	99,9 [95,7 ; 99,9]	93,6 [33,4 ; 99,8]
		HSp	54,0 [40,7 ; 68,2]*	88,1 [75,8 ; 95,6]	89,0 [79,5 ; 95,3]
	Test 2	HSe	99,5 [57,1 ; 99,9]	100 [83,6 ; 100]	98,2 [47,2 ; 100]
		HSp	69,7 [57,1 ; 80,7]	86,9 [74,1 ; 95,0]	78,7 [66,2 ; 88,2]
	Test 3	HSe	99,9 [77,5 ; 100]	100 [93,1 ; 100]	99,9 [59,1 ; 100]
		HSp	45,7 [29,1 ; 62,6]	54,2 [34,8 ; 70,3]	79,8 [64,7 ; 90,9]

\* La spécificité du test 1 est moins élevée dans un des départements étudiés chez les bovins. Les valeurs calculées ne tiennent pas compte de ce manque de spécificité potentiel dans certains territoires.

**À nombre d'animaux prélevés et règles de décision fixes, les HSe étaient plus élevées en élevages caprins et les HSp plus faibles en élevages bovins.**

**Si l'on considère le troupeau comme positif si au moins un animal est testé positif, alors la sensibilité du plan de dépistage à l'échelle du troupeau est élevée, quels que soient le test et l'espèce dès qu'un nombre suffisant d'individus est testé. En revanche, la spécificité à l'échelle du troupeau diminue avec le nombre d'individus testés.**

**Quels que soient l'espèce et le test utilisé, moins de 1 % des élevages réellement séronégatifs est faussement considéré comme positif avec le protocole OSCAR.**

### 1.2.3 Conséquences des Se et Sp sur la séroprévalence apparente

Au-delà de leur utilisation pour évaluer le statut sérologique des individus et des élevages, les tests sérologiques sont également utilisés pour estimer des séroprévalences des infections par *C. burnetii*. Ces études visent à évaluer la proportion d'élevages et d'animaux séropositifs dans un territoire et éventuellement à identifier les facteurs de risques de séropositivité chez les ruminants domestiques.

#### 1.2.3.1 À l'échelle individuelle

La plupart du temps, ces enquêtes sont réalisées sans prendre en compte l'incertitude diagnostique des tests sérologiques utilisés. Elles ne rapportent que les séroprévalences apparentes et les Odd-Ratio correspondants, ce qui revient à supposer que les Se et Sp du test sont égales à 100 %. La séroprévalence apparente (notée  $P_{app}$ ), dépend de la séroprévalence réelle (notée  $P_{inf}$ ) et des Se et Sp du test :

$$(4.1) P_{app} = Se \times P_{inf} + (1 - Sp) \times (1 - P_{inf})$$

À prévalence réelle constante, la prévalence apparente diminue lorsque la sensibilité du test diminue et lorsque sa spécificité augmente. Ainsi, étant donné les sensibilités relativement basses des trois tests ELISA à l'échelle individuelle, et donc la proportion relativement importante d'individus faussement négatifs, la proportion d'individus testés positifs sous-estime la plupart du temps la proportion d'individus réellement séropositifs. Lorsque les tests sont appliqués dans des élevages séronégatifs ou à séroprévalence réelle faible, alors la séroprévalence apparente pourra surestimer la séroprévalence réelle (nulle ou proche de zéro), car la majeure partie des individus testés positifs seront des individus faussement positifs.

#### 1.2.3.2 Conséquence sur la règle de décision d'OSCAR

Dans le plan de dépistage sérologique d'OSCAR, lorsque le volet PCR n'est pas conclusif, les avortements sont imputés à *C. burnetii*, si au moins 50 % des individus testés sont positifs, quel que soit le test utilisé. En réalité, cette séroprévalence apparente seuil de 50 % correspond à des séroprévalences réelles variables en fonction des tests. Globalement, étant donné que les trois tests ELISA ont une Sp supérieure à 95 %, elle correspondra à des séroprévalences réelles plus élevées si les tests 1 ou 2 sont utilisés, car leur Se est plus faible, et, plus proche de la séroprévalence apparente si le test 3 est utilisé, car sa Se est plus élevée.

#### 1.2.3.3 À l'échelle du troupeau

La prédiction du biais potentiel lié à la non-prise en compte de l'incertitude diagnostique pour estimer des séroprévalences inter-élevages est plus complexe, car les HSe et HSp sont variables en fonction du nombre d'individus testés et de la règle de décision utilisée pour classer les élevages. Si, comme dans la plupart des enquêtes épidémiologiques, on échantillonne au moins 15 animaux dans un élevage et que l'on considère l'élevage comme séropositif dès qu'un animal est testé positif, alors la proportion de troupeaux testés positifs est généralement plus grande que la proportion de troupeaux réellement séropositifs. Si moins d'individus sont testés, ou si une règle de décision différente est utilisée, le biais dans l'estimation de la séroprévalence apparente pourra être différent et varier en fonction des contextes épidémiologiques.

#### 1.2.3.4 Pour évaluer des facteurs de risques

Enfin, l'évaluation de l'effet de certains facteurs sur le risque d'être séropositif est généralement faite en comparant la fréquence d'individus exposés parmi ceux considérés comme séropositifs et ceux considérés comme séronégatifs (en calculant notamment des Odds Ratio entre les séropositifs et séronégatifs). Si les tests utilisés pour classer les individus sont imparfaits, alors les fréquences d'exposition seront biaisées. Pour les facteurs de risque de séropositivité des infections par *C. burnetii*, si l'étude est réalisée dans une population à prévalence relativement élevée (comme dans des élevages séropositifs par exemple), il est probable que certains individus testés négatifs soient faussement négatifs et donc en réalité séropositifs. Si l'on considère un facteur de risque (ou une conséquence potentielle des infections par *C. burnetii*) plus fréquemment présent chez les individus séropositifs, alors la présence d'individus faussement négatifs entraînera une surreprésentation des individus « exposés » au facteur de risque parmi les individus considérés comme négatifs. Cela entraîne alors une sous-estimation de l'Odd ratio calculé à partir des individus testés positifs ou négatifs.

D'un point de vue général, l'estimation d'Odd ratio à partir des résultats d'un test imparfait entraîne systématiquement une sous-estimation de l'Odd ratio réel lorsque les erreurs diagnostiques sont

indépendantes des facteurs de risques étudiés. Lorsque les erreurs diagnostiques sont dépendantes des facteurs de risques considérés alors les Odd ratio pourront être sur ou sous-estimés, mais ils seront généralement biaisés (Greiner and Gardner, 2000b).

#### 1.2.3.5 Conséquences pour les études épidémiologiques antérieures

Ce risque de biais des études épidémiologiques sur les infections par *C. burnetii* est fréquent, car la grande majorité des études ont été réalisées sans tenir compte de l'incertitude diagnostique des tests utilisés, que ce soit :

- pour estimer des prévalences et identifier des facteurs de risques de séropositivité (Anastácio et al., 2013; Fernández-Aguilar et al., 2016; Garcia-Ispierto et al., 2013; Schimmer et al., 2014, 2011; Szymańska-Czerwińska et al., 2017; Villari et al., 2018)
- pour associer une excrétion bactérienne et un statut sérologique (Böttcher et al., 2011; R Guatteo et al., 2007; Lucchese et al., 2015)
- associer des signes cliniques à une infection par *C. burnetii* (Garcia-Ispierto et al., 2013; López-Gatius et al., 2012; Muleme et al., 2017; To et al., 1998; Turcotte et al., 2021).

Cela pourrait expliquer le manque de puissance de certaines études (Turcotte et al., 2021) et certains des résultats contradictoires mis en évidence entre certaines études (De Biase et al., 2018; Garcia-Ispierto et al., 2013). De même, certains auteurs attribuent un risque de biais différent en fonction des tests sérologiques utilisés en considérant que les études utilisant un test CFT sont plus biaisées que celles utilisant des tests ELISA ou IFA (Guatteo et al., 2011). Il est vrai que le risque de biais sera plus important si la sensibilité du test utilisé est plus faible, cependant, le risque de biais est également présent et d'importance variable en fonction des tests ELISA utilisés et de l'espèce sur laquelle ils sont réalisés. La meilleure façon pour limiter le biais lié à l'incertitude diagnostique du test utilisé serait de prendre en compte ses Se et Sp dans l'estimation des séroprévalences, afin d'estimer des séroprévalences réelles et non pas des séroprévalences apparentes. Cela nécessite cependant d'utiliser des méthodes complexes à implémenter et de disposer d'estimations fiables et robustes des Se et Sp du test, ce qui n'était pas le cas avant notre étude pour les tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii*.

**En l'absence de prise en compte de l'incertitude diagnostique, les enquêtes épidémiologiques visant à estimer les séroprévalences des infections par *C. burnetii* sont généralement biaisées.**

**Les proportions d'animaux testés positifs sous-estiment généralement les séroprévalences réelles en raison des faibles Se par rapport aux Sp des tests ELISA évalués.**

**La règle d'interprétation des plans de dépistage sérologiques du diagnostic différentiel des avortements n'est pas équivalente, quel que soit le test ELISA utilisé dans le plan de dépistage.**

**Les proportions d'élevages comprenant au moins un individu testé positif surestiment généralement la séroprévalence inter-élevage réelle.**

**L'effet des facteurs de risques de séropositivité vis-à-vis des infections par *C. burnetii* est probablement sous-estimé dans la majorité des études réalisées chez les ruminants domestiques.**

**La prise en compte des Se et Sp du ou des tests utilisés peut permettre d'obtenir des estimations non biaisées des paramètres évalués.**

## II. Préconisation d'utilisation des tests

Étant donné que les trois tests évalués ont des Se et Sp inférieures à 100 %, chacune des méthodes présente un risque d'erreur diagnostique (risque de faux positif ou de faux négatif). Pour limiter les conséquences et biais potentiels liés à l'utilisation de tests imparfaits, il peut être intéressant d'utiliser le test le plus adapté à l'objectif d'utilisation des tests. Néanmoins, les trois tests ont des Se et Sp différentes en fonction des espèces et, dans un contexte donné, un test peut être plus sensible ou plus spécifique que d'autres. Le choix du meilleur test à utiliser est complexe et dépend de l'espèce cible et du contexte d'utilisation. Plusieurs types d'indicateurs peuvent être utilisés, ceux qui ne prennent en compte que les performances des tests (Se, Sp) et ceux qui tiennent compte du contexte épidémiologique et des probabilités de séropositivité des individus ou des troupeaux.

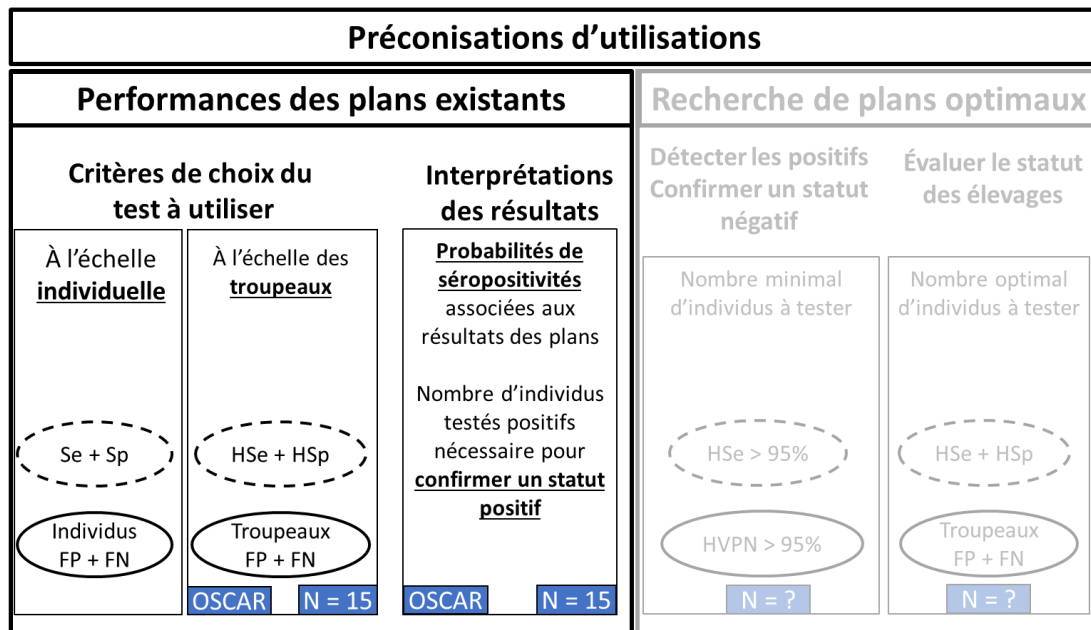


Figure E-3 : Indicateurs utilisés pour choisir le test optimal et évaluer des plans de dépistage sérologique des infections par *C. burnetii*.

### II.1. Critère de choix du test

#### II.1.1 Indicateurs utilisables pour comparer des tests diagnostiques

Plusieurs méthodes ont été proposées pour choisir le test optimal. La plus simple consiste à choisir le test en fonction de l'indice de Youden (noté  $I_Y$ ) qui est égal à la somme des Se et Sp (Youden, 1950). Cette méthode, bien que couramment utilisée, ne prend en compte que les Se et Sp du test (4.2). L'utilisation de l'indice de Youden peut donc induire le choix d'un test non optimal dans certaines situations.

$$(4.2) I_Y = Se + Sp$$

Un autre indicateur couramment utilisé est le taux de « mauvaise classification » global du test (noté  $T_{MC}$ ), c'est-à-dire à la somme des proportions d'individus faussement négatifs (FN) et faussement positifs (FP). Étant donné que la proportion d'individus mal classés dépend à la fois des Se et Sp du test et de la prévalence dans la population (notée  $P$  (4.3)), le choix du test ayant le  $T_{MC}$  le plus bas permet de retenir le test qui classera de façon correcte un maximum d'individus dans le contexte épidémiologique d'utilisation du test.

$$(4.3) T_{MC} = P \times (1 - Se) + (1 - P) \times (1 - Sp)$$

La principale limite du taux de mauvaise classification, et qu'il attribue la même importance aux individus faussement testés positifs et faussement testés négatifs, ce qui ne correspond pas nécessairement aux préoccupations des utilisateurs sur le terrain.

## II.1.2 Conséquences des erreurs de classification

Dans le cas du diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii*, les conséquences de la considération à tort d'un individu ou d'un élevage séronégatif sont généralement plus importantes que celle de la considération, à tort, d'un individu ou d'un élevage séropositif. En effet, si l'on considère la réalisation d'un test préalable à l'achat et l'introduction d'un animal dans un troupeau indemne de fièvre Q, le manque de sensibilité d'un test peut impliquer l'introduction d'un animal faussement négatif (*i.e.*, en réalité séropositif). Lorsque cet animal est excréteur et que l'élevage destinataire est naïf vis-à-vis de *C. burnetii*, cela peut avoir des conséquences cliniques, économiques et zoonotiques importantes. À l'inverse, la considération, à tort, d'un animal comme séropositif implique un refus d'introduction de l'animal dans l'élevage, ce qui a des conséquences économiques plus limitées (recherche d'un nouvel animal à introduire) et des conséquences sanitaires nulles pour l'acheteur. Toutefois, cette situation implique, pour le vendeur, de démontrer l'absence d'individus séropositifs dans son élevage.

Mesurer les conséquences économiques d'une erreur de classement implique la prise en compte des coûts directs et indirects en élevage et ceux associés à d'éventuels cas humains groupés. L'évaluation des conséquences économiques est donc complexe et relative à différentes situations selon le nombre de tests faux positifs, faux négatifs, vrais positifs et vrais négatifs obtenus. En effet, les conséquences financières de la non-identification d'un animal potentiellement excréteur peuvent être supérieures à la valeur propre de l'animal (van Asseldonk et al., 2015). C'est pourquoi, dans le contexte particulier de l'épizootie de fièvre Q aux Pays-Bas, certains auteurs ont préconisé de ne pas réaliser de tests diagnostiques pour sélectionner les animaux à réformer dans des élevages positifs et de réformer l'intégralité des femelles gestantes (Hogerwerf et al., 2014).

Mis à part les conséquences en santé publique, les conséquences économiques sont également dépendantes de la situation épidémiologique de l'élevage (élevage indemne, vacciné ou dans lequel *C. burnetii* circule activement) et de l'objectif de réalisation du test (évaluation du statut avant l'achat, réforme des animaux testés positifs...). Pour simplifier nos préconisations, nous commenterons principalement l'indice de Youden et le taux d'individus ou d'élevages mal classés qui attribuent un même coût à chaque type d'erreur diagnostique. Nous discuterons des conséquences économiques et sanitaires de chaque type d'erreur diagnostique en regard du choix du test.

## II.2. Choix du test optimal à l'échelle individuelle

### II.2.1 En maximisant l'indice de Youden

À l'échelle individuelle, le test 3 est le plus sensible, mais il est aussi le moins spécifique (sauf dans un département chez les bovins). Étant donné que le gain de sensibilité du test 3 est plus important que sa perte de spécificité par rapport aux autres tests, c'est le test 3 qui présente le meilleur indice de Youden dans toutes les espèces (Tableau E-3).

*Tableau E-3 : Médiane et intervalle de crédibilité à 95 % des indices de Youden à l'échelle individuelle pour chaque test et chaque espèce. Les cases grisées correspondent au test ayant le meilleur indice de Youden.*

	Test 1	Test 2	Test 3
Bovin	1,68 [1,58 ; 1,77]*	1,6 [1,49 ; 1,7]	1,84 [1,73 ; 1,9]
Caprin	1,58 [1,52 ; 1,63]	1,74 [1,67 ; 1,79]	1,86 [1,79 ; 1,9]
Ovin	1,39 [1,3 ; 1,46]	1,52 [1,42 ; 1,6]	1,85 [1,69 ; 1,92]

*\* La spécificité du test 1 est moins importante dans un des départements évalués chez les bovins. Les valeurs calculées ne tiennent pas compte de ce manque de spécificité potentiel dans certains territoires.*

## II.2.2 En minimisant le taux d'individus mal classés

Le test 3 est celui qui permet de minimiser le nombre d'individus mal classés lorsque les séroprévalences intra-élevages sont élevées (Figure E-4). En revanche, le test 3 étant moins spécifique que les autres, il entraîne une part plus importante d'individus faussement positifs que les autres tests. Ainsi lorsque les séroprévalences réelles sont inférieures à 9 % chez les bovins, 4 % chez les caprins et 2 % chez les ovins, c'est le test 2 (chez les bovins et caprins) ou le test 1 (chez les ovins) qui minimise le taux d'individu mal classé.

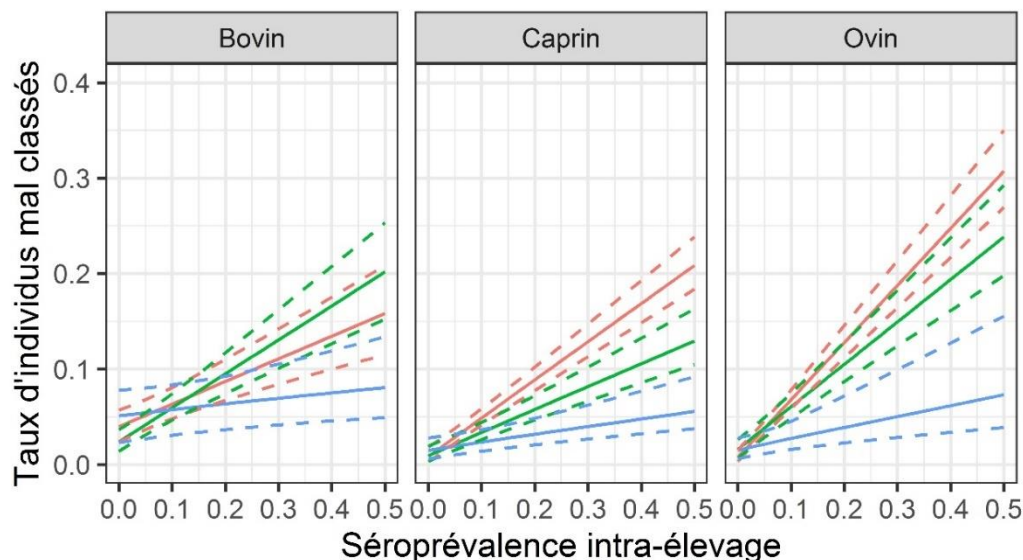


Figure E-4 : Proportions d'individus mal classés de chaque test dans chaque espèce en fonction de la séroprévalence intra-élevage.

Médiane (en trait plein) et bande de crédibilité à 95 % (en trait pointillé), pour des séroprévalences intra-élevages variant de 0 % à 50 %. Les tests 1, 2 et 3 sont respectivement colorés en rouge, vert et bleu.

## II.2.3 Conclusion à l'échelle des individus

Le test 3 est à privilégier dans un contexte de suspicion d'infection par *Coxiella burnetii* (séroprévalence attendue modérée à élevée), car il aura tendance à mieux détecter les individus réellement séropositifs. En revanche, dans un contexte de faible suspicion (séroprévalence attendue faible), et *a fortiori* dans des élevages *a priori* indemnes, ce test présente un plus grand risque que les autres de se tromper en considérant à tort un animal comme séropositif, et il faudra, en fonction des espèces, choisir le test 1 ou test 2 pour minimiser le nombre d'individus mal classés.

Ces préconisations ne sont valables que si on attribue la même importance à la détection des individus réellement séropositifs et séronégatifs. Si l'objectif de réalisation des tests est de détecter une émergence (*i.e.*, l'apparition de nouveaux cas) en élevage *a priori* indemne, donc à séroprévalence intra-élevage attendue faible, le choix du test est orienté par sa capacité à détecter un maximum d'individus réellement séropositifs. Il peut être intéressant de choisir le test 3, même s'il induit un nombre plus élevé d'individus faussement positifs. Ce choix reste pertinent si les individus identifiés positifs, ou les élevages dans lesquels des individus sont identifiés positifs, font ensuite l'objet d'investigations complémentaires pour confirmer ou infirmer les résultats positifs (par exemple, série de PCR sur écouvillon vaginal au moment de la mise bas). Dans ce cas de figure, les conséquences des faux positifs sont relativement faibles, car l'information est vérifiée dans un second temps avant de mettre en place les mesures de gestion adaptées. À défaut de tests suffisamment spécifiques, peu coûteux et sensibles, ce type de plan en deux phases permet la plupart du temps de diminuer le coût global des prélèvements et analyses et d'optimiser la vitesse d'intervention en recherchant les élevages à risque augmenté d'infection, dans toute la zone géographique concernée.

Dans tous les cas, étant donné que les valeurs de sensibilité ( $Se$ ) et spécificité ( $Sp$ ) estimées sont

inférieures à 100 %, le risque d'observer des résultats faux positifs ou faux négatifs est important. En l'absence de connaissance sur la séroprévalence intra-élevage, nous déconseillons l'interprétation d'un résultat unique, quel que soit le test utilisé. Nous préconisons de réaliser un dépistage à l'échelle du troupeau, y compris pour évaluer le risque de séropositivité d'un animal en particulier.

**Étant données les Se et Sp estimées de chaque test dans chaque espèce, aucun test n'est optimal pour être utilisé dans tous les contextes épidémiologiques, chez toutes les espèces.**

**Pour limiter le nombre d'individus mal classés par le test, nous recommandons de privilégier le test 3 dans les départements/espèces où l'infection circule activement (séroprévalence attendue élevée) et le test 1 ou test 2 dans les départements/espèces où l'infection est absente ou présente à bas bruit (séroprévalence attendue faible).**

**Ces recommandations peuvent varier en fonction de l'objectif d'utilisation des tests (par exemple, un test avec une sensibilité élevée pour détecter précocement la présence de nouveaux cas dans une zone indemne ou éviter d'introduire des animaux réellement séropositifs) et des zones géographiques (par exemple, un test avec une spécificité élevée pour éviter des réactions croisées non spécifiques pouvant exister localement).**

**Étant donné le risque d'erreur diagnostique, nous déconseillons l'interprétation d'un résultat unique, quel que soit le test utilisé et nous préconisons de réaliser un dépistage à l'échelle du troupeau, y compris pour évaluer le risque de séropositivité d'un animal en particulier.**

### II.3. Choix du test optimal à l'échelle du troupeau

#### II.3.1 En maximisant l'indice de Youden

À l'échelle du troupeau, si on considère le troupeau comme séropositif à partir du moment où un animal est testé positif parmi ceux échantillonnés, la moins bonne sensibilité à l'échelle individuelle des tests 2 et 1 devient peu problématique, car le risque d'obtenir un résultat faussement négatif diminue avec le nombre d'individus réellement séropositifs testés. À l'inverse, la plus faible spécificité du test 3 peut devenir problématique, car le risque d'identifier à tort un animal comme séropositif augmente avec le nombre d'individus réellement séronégatifs testés.

Ainsi, pour le plan de dépistage utilisé lors de la recherche de l'origine de cas groupés de fièvre Q chez l'humain, c'est le test 1 qui présente le meilleur indice de Youden chez les ovins, le test 2 chez les bovins et les tests 1 ou 2 chez les caprins. Le plan de dépistage sérologique d'OSCAR étant peu sensible pour détecter la majorité des troupeaux séropositifs, le test 3 présente le meilleur indice de Youden, quelle que soit l'espèce considérée.

*Tableau E-4 : Médiane et intervalle de crédibilité à 95 % des indices de Youden à l'échelle du troupeau pour chaque test et chaque espèce du volet sérologique utilisé pour le diagnostic différentiel des avortements (OSCAR) et pour rechercher l'origine de cas humains groupés (N=15). Les cases grisées correspondent au test ayant le meilleur indice de Youden.*

	Nombre d'individus échantillonnés	Test 1	Test 2	Test 3
Bovin	N=15	1,52 [1,28 ; 1,69]	1,68 [1,42 ; 1,81]	1,44 [1,25 ; 1,7]
	OSCAR	1,38 [1,01 ; 1,91]	1,27 [1 ; 1,81]	1,55 [1,01 ; 1,99]
Caprin	N=15	1,87 [1,6 ; 1,95]	1,86 [1,69 ; 1,95]	1,54 [1,35 ; 1,7]
	OSCAR	1,44 [1 ; 1,84]	1,73 [1 ; 1,98]	1,92 [1,01 ; 2]
Ovin	N=15	1,82 [1,26 ; 1,93]	1,77 [1,42 ; 1,89]	1,78 [1,42 ; 1,91]
	OSCAR	1,02 [1 ; 1,27]	1,06 [1 ; 1,6]	1,29 [1 ; 1,99]



### II.3.2 En minimisant le taux d'élevages mal classés

Le constat est similaire avec le taux d'élevages mal classés qu'avec l'indice de Youden pour le test 3 qui minimise le taux d'élevages mal classés, quelle que soit la séroprévalence inter-élevage considérée pour le plan de dépistage OSCAR (Figure E-5).

Lors de la recherche de l'origine de cas humains groupés, ce n'est qu'à partir de séroprévalence inter-élevage élevée chez les ovins, que le test 3 permet de détecter plus de troupeaux réellement positifs que les deux autres tests. Le choix du test 3 lors de séroprévalence inter-élevage élevée chez les ovins permet de minimiser de façon globale le taux d'élevage mal classé. Dans les autres situations, le choix des tests 1 (chez les ovins ou caprins) ou 2 (chez les bovins ou caprins) permet de minimiser le taux d'individus mal classés (Figure E-5).

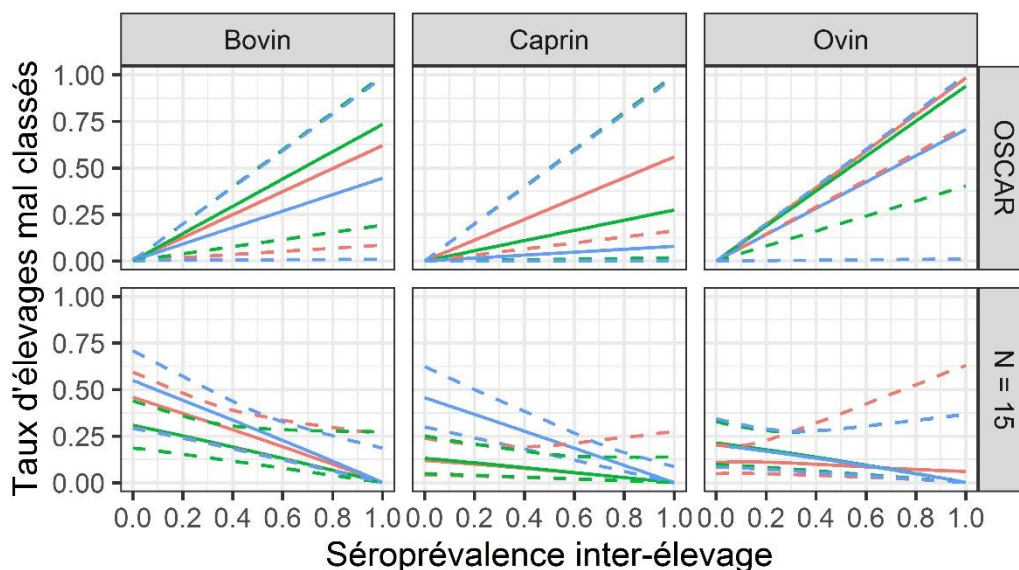


Figure E-5 : Proportions d'élevages mal classés pour chaque test dans chaque espèce en fonction de la séroprévalence inter-élevage du volet sérologique utilisé pour le diagnostic différentiel des avortements (OSCAR) et pour rechercher l'origine de cas humains groupés (N=15).

Médiane (en trait plein) et bande de crédibilité à 95 % (en traits pointillés). Les tests 1, 2 et 3 sont respectivement colorés en rouge, vert et bleu.

### II.3.3 Conclusion à l'échelle du troupeau

Les trois tests ayant une spécificité élevée à l'échelle du troupeau dans le cadre du dispositif OSCAR, le test qui présente le meilleur indice de Youden et qui maximise le taux d'élevages mal classés est le test 3.

À l'inverse, lorsque 15 individus sont prélevés et que le troupeau est considéré comme positif dès qu'un animal est testé positif, la sensibilité des trois tests à l'échelle du troupeau est élevée. Les tests qui maximisent l'indice de Youden et qui minimisent le taux d'élevages mal classés sont donc les deux tests les plus spécifiques, à savoir le test 1 chez les ovins, les tests 1 ou 2 caprins et le test 2 chez les bovins.

Ces préconisations ne sont valables que si on attribue le même poids au fait de considérer à tort un élevage comme séropositif ou comme séronégatif. Par exemple, du point de vue des conséquences potentielles sur la santé publique, l'utilisation du test 3 pourrait être recommandée, dans le cadre de la recherche de l'origine cas humains groupés même s'il est moins spécifique, car le statut des nombreux élevages faussement positifs sera infirmé par le volet PCR si *C. burnetii* ne circule pas dans le troupeau.

**Pour le schéma d'investigations lors de cas humains groupés, les tests 1 et 2 sont ceux qui minimisent le taux d'élevages mal classés, sauf chez les ovins lors de forte séroprévalence inter-élevage ou le test 3 permet de détecter plus d'élevages réellement séropositifs.**

**Dans le cadre du dispositif OSCAR, les trois tests sont très spécifiques et peu sensibles pour détecter les élevages séropositifs, mais le test 3 est celui qui permet de maximiser l'indice de Youden et de minimiser le taux d'élevages mal classés.**

**Ces recommandations peuvent varier en fonction de l'objectif d'utilisation des tests.**

## II.4. Interprétation des résultats des plans de dépistage

Jusqu'à maintenant, nous avons évalué les performances des deux plans de dépistage par rapport aux performances des tests et aux taux d'élevages mal classés par les plans. Dans la Partie 3, nous avons proposé une méthode pour estimer les probabilités de séropositivité associées aux résultats des plans, qui tient compte, des performances diagnostiques du test utilisé (estimées dans la Partie 1) et, des séroprévalences inter- et intra-élevages attendues pour les différentes espèces et des types de production (Partie 2). Nous allons dans un premier temps, présenter les valeurs prédictives des plans de dépistage associés à leur règle de décision préalable puis discuter des probabilités de séropositivité associées aux autres résultats possibles.

### II.4.1 Valeurs prédictives des plans de dépistage

À partir des courbes présentées sur la Figure E-6, on peut obtenir la probabilité de séropositivité d'un élevage en fonction du nombre d'individus testés positifs avec chaque test et dans chaque type de production. Les calculs ont été réalisés selon la méthodologie présentée dans la Partie 3. La taille de l'élevage a été fixée à la médiane observée dans chaque espèce, à savoir 50 femelles pares pour les bovins, 110 caprins et 180 ovins.

#### II.4.1.1 Probabilité de séropositivité associée à la règle de décision d'OSCAR

Lorsque la moitié des individus testés sont positifs dans le dispositif OSCAR, les probabilités de séropositivité médianes des élevages sont supérieures à 95 % quels que soient l'espèce, le type de production et le test considérés (excepté chez les bovins allaitants) (Tableau E-5).

Néanmoins, les bornes inférieures des intervalles de crédibilité des probabilités de séropositivités sont parfois inférieures à 95 %, comme chez les ovins laitiers ou allaitants avec les tests 1 et 2 et chez les bovins (Tableau E-5). Il est donc possible que certains élevages réellement séronégatifs soient testés positifs avec ce plan de dépistage. Chez les bovins allaitants, pour une même proportion d'individus testés positifs, les probabilités de séropositivité sont plus basses que chez les ovins et caprins, d'une part car moins d'individus sont testés et d'autre part, car la séroprévalence inter-élevage des élevages bovins allaitants est plus basse que dans les autres espèces et types de production (cf. Partie 2 de la thèse).

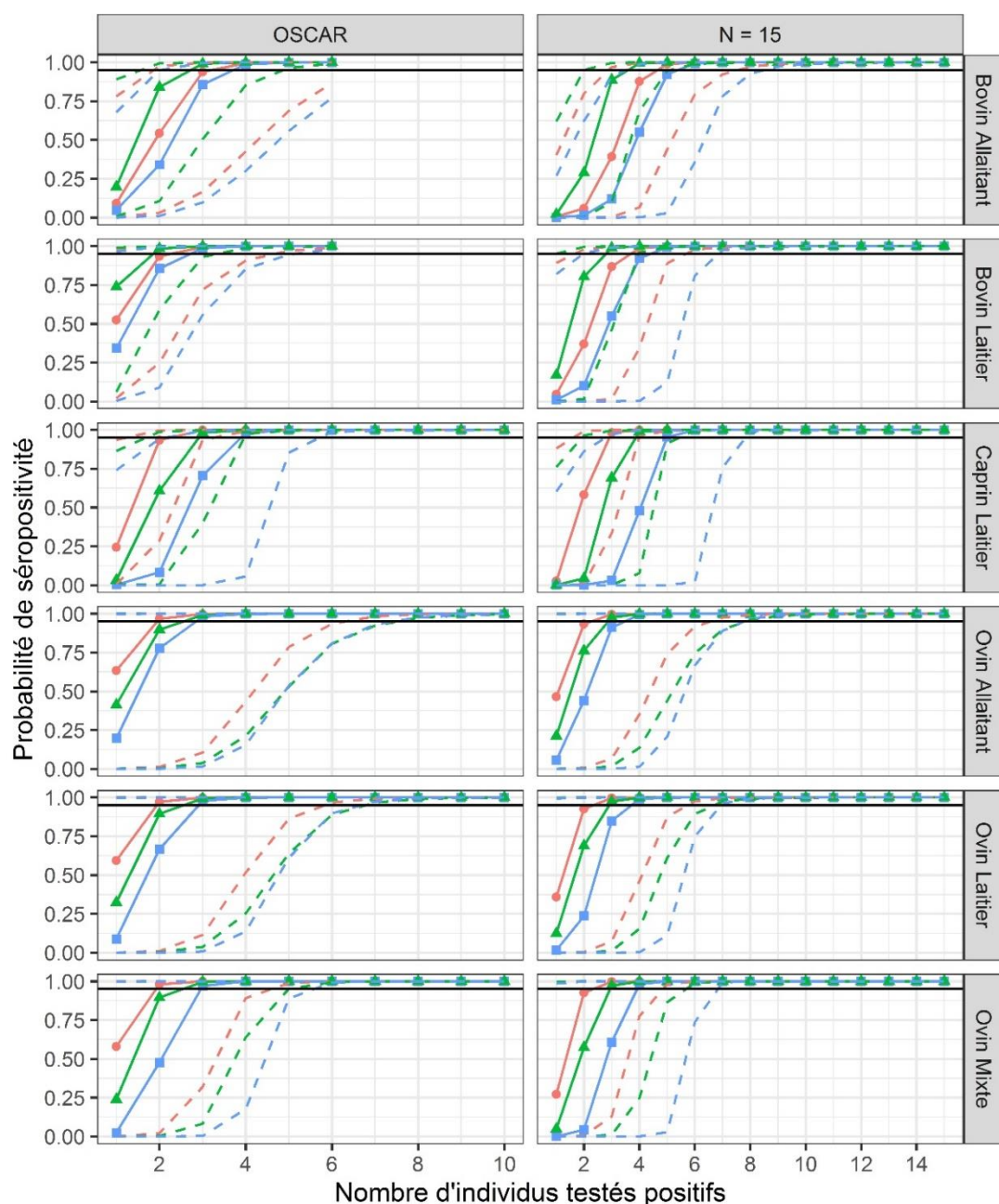


Figure E-6 : Probabilité de séropositivité de l'élevage en fonction du nombre d'individus testés positifs parmi ceux prélevés dans chaque espèce et type de production et pour chaque test. Estimation ponctuelle (médiane, en point et trait plein) et bande de crédibilité à 95 % (quantile 2,5 et 97,5 %, en traits pointillés). Les tests 1, 2 et 3 sont respectivement colorés en rouge, vert et bleu et identifiés par des points ronds, triangulaires et carrés. La ligne horizontale pleine noire correspond à une probabilité de 95 %.

Tableau E-5 : Médiane et intervalle de crédibilité à 95 % de la probabilité de séropositivité du troupeau selon l'espèce, le type de production et le test utilisé, lorsque la moitié des femelles prélevées lors du diagnostic différentiel des avortements sont séropositives. Le nombre d'individus prélevés est de 6 bovins et 10 ovins/caprins.

Test		Test 1	Test 2	Test 3
Bovin	Allaitant	0,93 [0,16 ; 0,99]	0,99 [0,50 ; 0,99]	0,85 [0,09 ; 0,99]
	Laitier	0,99 [0,72 ; 0,99]	0,99 [0,93 ; 1]	0,98 [0,55 ; 0,99]
Caprin	Laitier	1 [0,99 ; 1]	0,99 [0,97 ; 1]	0,99 [0,98 ; 1]
Ovin	Allaitant	0,99 [0,79 ; 1]	0,99 [0,53 ; 1]	0,99 [0,53 ; 1]
	Laitier	1 [0,86 ; 1]	1 [0,88 ; 1]	0,99 [0,61 ; 1]
	Mixte	1 [0,98 ; 1]	1 [0,95 ; 1]	0,99 [0,89 ; 1]

#### II.4.1.2 Probabilité de séropositivité associée à la règle de décision du plan de dépistage réalisé lors de la recherche de l'origine de cas humains groupés

Quels que soient l'espèce, le type de production et le test utilisé, lorsqu'un seul individu est testé positif parmi ceux prélevés, la médiane de la probabilité de séropositivité du troupeau est inférieure à 50 % (Figure E-6). Donc lorsqu'un unique animal est testé positif parmi au moins 15 ruminants domestiques, le troupeau a en réalité une probabilité plus élevée d'être réellement séronégatif que réellement séropositif.

#### II.4.2 Confirmation du statut séropositif du troupeau

À partir de la Figure E-6, on peut également calculer le nombre d'individus testés positifs à partir duquel on peut affirmer que le troupeau est effectivement séropositif avec une probabilité supérieure à 95 %. Cependant, même si les médianes deviennent supérieures à 95 % pour des proportions d'individus testés positifs relativement faibles (par exemple, 3/10 et 3/15 caprins testés positifs avec le test 1), la borne inférieure de l'intervalle de crédibilité à 95 % de la probabilité que l'élevage soit séropositif ne devient supérieure à 95 % qu'à partir d'une proportion plus élevée d'individus testés positifs dans l'élevage (par exemple, 6/6 et 6/15 bovins laitiers) (Tableau E-6).

D'ailleurs, on remarque que plus le nombre d'individus testés est grand (dispositif OSCAR vs N=15), plus la proportion d'individus testés positifs à partir de laquelle la probabilité de séropositivité est supérieure à 95 % diminue. Bien que ce résultat soit contre-intuitif, il s'explique par une probabilité d'être faussement testé positif pour chaque individu faible. Elle est égale à  $1 - Sp$  et de l'ordre de 1 à 5 % en fonction des tests et des espèces. L'augmentation du nombre d'individus faussement positifs attendus est donc moindre par rapport à l'augmentation du nombre d'individus testés.

*Tableau E-6 : Proportion d'individus testés positifs à partir duquel la borne inférieure de l'intervalle de crédibilité à 95 % de la probabilité de séropositivité du troupeau devient supérieure à 95 %.*

*Observer une proportion d'individus supérieure ou égale à la valeur rapportée permet de s'assurer que la probabilité de séropositivité du troupeau est supérieure à 95 %. Les NA correspondent au plan d'échantillonnage et aux types de production pour lesquels, même le fait de tester positif l'intégralité des individus prélevés ne permet pas de garantir que la probabilité de séropositivité du troupeau est supérieure à 95 %.*

Test		Test 1		Test 2		Test 3	
Plan de dépistage		OSCAR	N=15	OSCAR	N=15	OSCAR	N=15
Bovin	Allaitant	NA	8/15	5/6	6/15	NA	9/15
	Laitier	6/6	6/15	4/6	4/15	6/6	7/15
Caprin	Laitier	4/10	5/15	4/10	6/15	6/10	8/15
Ovin	Allaitant	7/10	7/15	8/10	8/15	8/10	8/15
	Laitier	6/10	6/15	7/10	7/15	7/10	7/15
	Mixte	5/10	5/15	5/10	6/15	6/10	7/15

**Les élevages identifiés comme positifs par le plan de dépistage sérologique du dispositif OSCAR ont une probabilité de séropositivité élevée, même s'il ne peut être exclu que certains troupeaux bovins soient faussement séropositifs.**

**Les élevages identifiés positifs au seuil de positivité du plan de dépistage utilisé pour rechercher l'origine de cas humains groupés ont une probabilité plus grande d'être réellement séronégatifs que séropositifs.**

**Plus le nombre d'individus prélevés augmente, moins la proportion d'individus testés positifs nécessaire pour confirmer un statut positif avec une probabilité supérieur à 95 % est grande.**

### III. Plans de dépistage optimaux à l'échelle de l'élevage

Jusqu'à présent, nous avons évalué les plans de dépistage définis et utilisés en France pour le dépistage sérologique des infections par *C. burnetii* dans les élevages de ruminants domestiques (DGAL, 2010; Dufour et al., 2007; OSCAR, 2020a, 2020b; Sidi-Boumedine et al., 2010). Ces plans de dépistage ont été mis en place sur la base de recommandations d'experts, en l'absence d'estimations fiables des performances des tests ELISA commercialisés, et sans prendre en compte la diversité des situations épidémiologiques dans les élevages en France.

#### III.1. Méthodes de construction d'un plan de dépistage

##### III.1.1 Limite des plans de dépistage basés « sur les données »

Les plans de dépistage utilisés en France à ce jour précisent un nombre d'individus à prélever, identique quel que soit l'espèce de ruminant, le type d'élevage et la région en France. On parle de surveillance basée sur les données (« input-based surveillance » (Cameron, 2012)). Une exception toutefois est le plan établi dans le cadre du diagnostic différentiel des avortements chez les bovins, où la préconisation du prélèvement de six individus à la place de dix s'appuie sur des arguments économiques. En effet, l'inclusion de tests PCR dans la procédure diagnostique était associée à un surcoût important. Le choix a donc été de réduire le surcoût en diminuant le nombre d'individus à prélever.

Les limites des plans basés sur les données sont d'une part qu'ils n'auront pas nécessairement les performances souhaitées dans chaque espèce et qu'ils appliquent les mêmes moyens dans chaque situation épidémiologique. Les mesures de lutte peuvent être sous-dimensionnées ou disproportionnées en fonction du contexte. Par exemple, le plan de dépistage N=15 aboutit à classer une grande proportion d'élevages comme séropositifs alors qu'il s'agit plus probablement d'élevages réellement séronégatifs. L'utilisation de ce plan pour décider de mettre en place ou non des mesures de gestion du risque zoonotique (e.g. aux Pays-Bas : interdiction de mise à la reproduction, réforme des animaux gestants...) aboutirait à la mise en place de mesures contraignantes dans des élevages qui sont majoritairement séronégatifs.

##### III.1.2 Plans de surveillances basés sur leur performance ou sur le risque

Ce phénomène est encore plus marqué dans certains contextes comme chez les élevages bovins allaitants où la séroprévalence inter-élevage est faible. Ainsi, il peut être intéressant de proposer des plans qui tiennent compte de l'incertitude diagnostique des tests ELISA et des particularités épidémiologiques liées à chaque espèce de ruminants domestiques. Il s'agit ici de proposer des plans de dépistage basés sur leurs performances (« output-based » surveillance) ou sur les risques (« risk-based » surveillance) (Cameron, 2012; Stärk et al., 2006) plutôt que sur un nombre de tests identiques à réaliser dans tout élevage de ruminants en France.

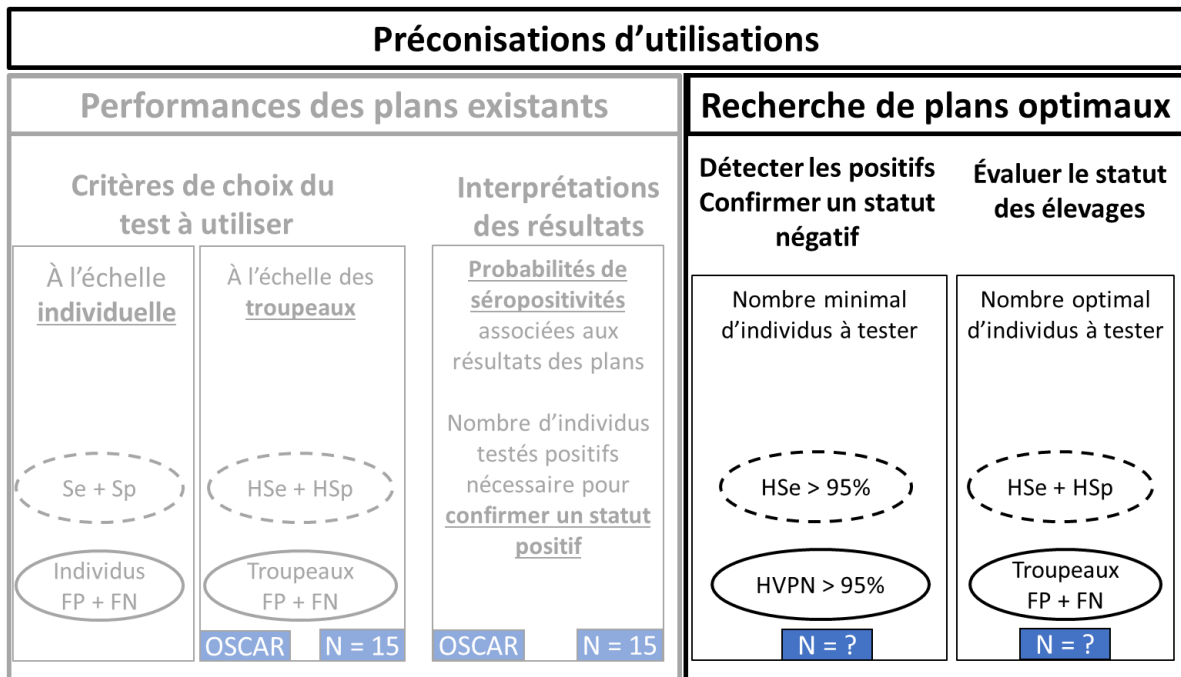


Figure E-7 : Indicateurs utilisés pour rechercher des plans de dépistage optimaux en fonction des objectifs de leur mise en place.

Les indicateurs entourés en pointillés ou en trait plein sont respectivement basés sur les performances du plan de dépistage et sur les performances et les risques. HSe : Sensibilité à l'échelle du troupeau, HSp : Spécificité à l'échelle du troupeau, HVPN : Valeurs prédictive négative à l'échelle du troupeau, FN : Faux négatifs, FP : Faux positifs

Dans la suite du document, on se placera dans deux situations différentes Figure E-7 :

- 1- L'objectif du plan de dépistage est de **détecter un maximum d'élevages réellement séropositifs**. Cela revient également à un objectif de **confirmation du statut des élevages négatifs**, car si tous les élevages réellement séropositifs sont testés positifs par le plan de dépistage, alors les élevages testés négatifs seront réellement séronégatifs.
- 2- L'objectif sera **d'évaluer le statut de l'élevage** en cherchant à ce que les résultats du plan de dépistage soient les plus fiables possibles donc en minimisant à la fois le risque de faux positifs et de faux négatifs.

Pour chacune des deux situations, nous proposerons un plan de dépistage uniquement basé sur les performances estimées dans chaque espèce (à partir des estimations réalisées dans la Partie 1) et une surveillance basée sur les performances et les risques de séropositivité dans chaque type d'élevage (sur à partir des estimations réalisées dans la Partie 2). Cette dernière approche tient compte du fait que la probabilité de séropositivité des troupeaux n'est pas la même dans chaque type de production et donc que les efforts nécessaires (c.-à-d. le nombre de tests à réaliser) pour démontrer le statut séronégatif de l'élevage ne sont pas identiques.

Note : Comme pour évaluer les tests et les plans de dépistage, nous ne chercherons pas à déterminer des plans de surveillance basés sur les conséquences, qui préconiseraient, par exemple, de maximiser les efforts de surveillance dans les élevages où les infections par *C. burnetii* ont potentiellement le plus de conséquences d'un point de vue économique et de santé publique. Cela nécessiterait l'évaluation des coûts et des conséquences de chaque situation diagnostique potentielle, ce qui dépasse le cadre de ce travail.

### III.1.3 Méthode de calcul des indicateurs

Dans les deux situations envisagées, nous considérerons des plans de dépistage où les élevages sont considérés comme séropositifs à partir du moment où un animal est testé positif par le test utilisé. Inversement, les élevages sont considérés comme négatifs lorsque tous les individus testés sont négatifs. Nous discuterons les avantages et inconvénients de ce type de plan de dépistage par rapport à d'autres utilisant des règles de décision différentes.

Les indicateurs HSe, HSp et indice de Youden sont uniquement basés sur les performances des plans de dépistage et ont été calculés à partir des résultats de la Partie 1 tandis que les indicateurs basés sur les valeurs prédictives négatives (HVPN) ou les proportions d'élevages mal classés (faux positifs et faux négatifs) tiennent compte à la fois des performances du plan et des risques de séropositivité des élevages. Ils ont été calculés à partir des résultats des Parties 1 et 2.

L'ensemble des calculs est réalisé selon la méthode présentée en Partie 3, pour une taille de troupeau médiane dans chaque espèce (soit 50 femelles paires chez les bovins, 110 individus chez les caprins et 180 individus chez les ovins) et pour des nombres d'individus échantillonnés variant de 1 à 50 (taille du troupeau) pour les bovins et de 1 à 100 pour les ovins et caprins.

Comme dans les parties précédentes, les intervalles de crédibilité de tous les indicateurs tiennent compte à la fois de l'incertitude des paramètres du modèle et de la variabilité des séroprévalences intra- et inter-élevage. La prise en compte de la variabilité des séroprévalences permet d'obtenir une estimation de la distribution des performances du plan de dépistage à l'échelle de l'ensemble des élevages en tenant compte de la variabilité des situations épidémiologiques dans les dix départements inclus dans la Partie 2 de la thèse (par exemple dans des zones géographiques à séroprévalence inter-élevage à basse ou élevée selon la distribution estimée dans chaque espèce et types de production dans la partie 2). Les estimations permettent donc d'avoir une estimation globale des indicateurs tout en présentant leur variabilité potentielle. Néanmoins, la variation des valeurs de chaque indicateur étant principalement due aux variations des valeurs des séroprévalences l'examen du recouplement des intervalles obtenus entre les différents tests utilisés, ne permet pas de dire qu'ils sont "équivalents" ou « significativement » différents du point de vue de leurs performances. Les plans de dépistages réalisés avec chaque test seront donc uniquement comparés de façon qualitative.

## III.2. Détection des troupeaux réellement séropositifs et confirmation d'un statut séronégatif ou « indemne » d'un élevage

### III.2.1 Contexte, objectifs et indicateurs

Lors d'investigation de la source de cas humains groupés parmi les élevages de ruminants, un objectif prioritaire du plan de dépistage sérologique est de ne pas omettre un élevage réellement séropositif. Considérant l'imperfection des tests de dépistage, la stratégie est, dans un premier temps, de favoriser la sensibilité au détriment de la spécificité des tests malgré la possibilité de considérer à tort comme séropositifs des élevages réellement séronégatifs. Dans un second temps, les élevages identifiés comme séropositifs sont ensuite testés par PCR, plus spécifique, ce qui permettra de confirmer ou d'infirmer le statut identifié par le volet sérologique. À noter que le plan d'analyses par PCR nécessite aussi d'être bien cadré pour maximiser sa sensibilité et éviter de reclasser à tort certains élevages comme négatifs (en incluant à la fois des recherches sur les animaux et dans l'environnement).

La démonstration que l'élevage ciblé est réellement séronégatif peut être souhaitée dans de nombreuses situations. Par exemple, au moment du regroupement de plusieurs troupeaux de statuts sérologiques inconnus (transhumances, foires et salons) ou lors de l'achat d'animaux pour éviter d'introduire des animaux issus d'un troupeau infecté par *C. burnetii*.

La recherche du plan de dépistage optimal dans ces deux objectifs (détecter un élevage séropositif et confirmer qu'un élevage est séronégatif) revient à l'optimisation des indicateurs HSe et HVPN (valeur prédictive négative du plan), car cela revient à rechercher un plan qui permettent de tester positif un

maximum d'élevages réellement positifs (HSe > 95 %) ou de chercher un plan qui s'assure que les élevages non testés positifs (et donc testés négatifs) ont une probabilité élevée d'être réellement séronégatifs (HVPN supérieure à 95 %).

Dans la recherche du nombre optimal d'individus à tester, on distinguera deux nombres différents, celui à partir duquel la médiane *a posteriori* de l'indicateur (HSe ou HVPN) devient supérieure à 95 % et celui à partir duquel la borne inférieure de l'intervalle de crédibilité de l'indicateur devient supérieure 95 %. Le nombre correspondant à la médiane de l'indicateur permet de garantir des performances élevées du plan de dépistage dans la majorité des élevages (50 %) et celui à la borne inférieure de l'intervalle de crédibilité garantit des performances élevées dans la quasi-totalité des élevages (97,5 %).

### III.2.2 Plan d'échantillonnage uniquement basé sur les performances

Même si la majorité des troupeaux réellement séropositifs sont correctement identifiés par le plan de dépistage à partir d'un nombre d'individus testés relativement faible (3 caprins avec le test 3 à 17 ovins avec le test 1), la borne inférieure de l'intervalle de crédibilité de la sensibilité du plan de dépistage ne devient supérieure à 95 % qu'à partir d'un plus grand nombre d'animaux testés (18 caprins avec le test 3 à plus de 100 ovins avec le test 1) (Figure E-8, Tableau E-7).

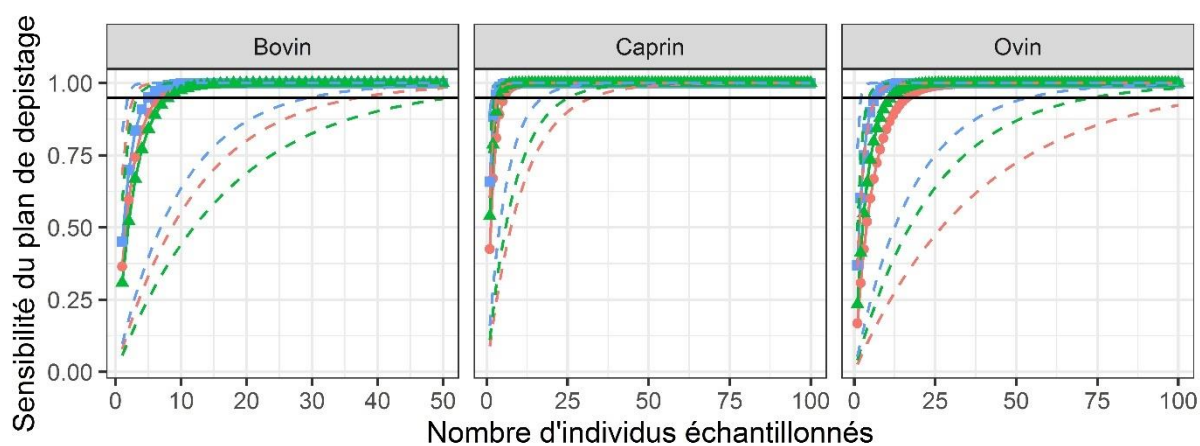


Figure E-8 : Estimation ponctuelle (médiane, en trait plein) et bande de crédibilité à 95 % (quantiles 2,5 et 97,5 %, en traits pointillés) de la sensibilité du plan de dépistage à l'échelle de l'élevage en fonction du nombre d'individus testés dans chaque espèce et pour chaque test.

La ligne horizontale pleine, noire correspond à une sensibilité de 95 %. Le troupeau est considéré comme séronégatif si aucun animal n'est testé positif. Les tests 1, 2 et 3 sont respectivement colorés en rouge, vert et bleu et identifiés avec des points ronds, triangulaires et carrés.

Lorsque l'on cherche à garantir que la sensibilité du plan de dépistage à l'échelle du troupeau est supérieure à 95 %, il faut donc tester un grand nombre d'individus dans l'élevage, ce qui reviendrait théoriquement dans certaines espèces, à tester plus d'animaux qu'il n'y en a dans l'élevage. Outre le coût économique important de tels plans de dépistage, leur spécificité sera basse si on teste beaucoup d'animaux (par exemple, égale à 44 % [20 ; 70] lorsque 54 ovins sont testés avec le test 1 et 20 % [8 ; 39] lorsque 30 bovins sont testés avec le test 3). Ainsi, seule une faible proportion de troupeaux réellement séronégatifs seront effectivement testés négatifs par le plan de dépistage et pourront prétendre à un statut séronégatif.

Le test 3 est celui qui permet de limiter le nombre d'individus nécessaire pour garantir une sensibilité du plan de dépistage supérieure à 95 %. Dans les élevages caprins, un nombre moins élevé d'individus doit être testé que dans les deux autres espèces, car les tests sont plus sensibles et la séroprévalence intra-élevage plus élevée dans cette espèce.



Tableau E-7 : Nombre d'individus à prélever pour garantir une sensibilité supérieure à 95 % ou une valeur prédictive négative >95 % du plan de dépistage.

Pour chaque test et chaque espèce, les nombres indiqués correspondent aux nombres d'individus testés négatifs à partir desquels la borne inférieure de l'intervalle de crédibilité de la HSe ou de la VPN est supérieure à 95 %.

Test		Test 1		Test 2		Test 3	
Critères de choix		HSe > 95 %	VPN > 95 %	HSe > 95 %	VPN > 95 %	HSe > 95 %	VPN > 95 %
Bovin	Allaitant	38	26	>50	31	30	21
	Laitier		>50		>50		>50
Caprin	Laitier	33	68	26	51	18	43
Ovin	Allaitant	>100	>100	74	>100	54	>100
	Laitier		>100		>100		91
	Mixte		>100		80		52

**Pour garantir une Se supérieure à 95 % du plan de dépistage, il faut tester un grand nombre d'individus dans les élevages de ruminants domestiques (18 à plus de 100 en fonction des espèces et des tests).**

**Toutefois, la spécificité de tels plans de dépistage est basse et seule une faible proportion de troupeaux réellement séronégatifs seront effectivement testés négatifs.**

**À partir de 18 caprins, 30 bovins ou 54 ovins avec le test 3, la quasi-totalité des élevages réellement séropositifs aura une probabilité supérieure à 95 % d'être testée positive par le plan de dépistage.**

### III.2.3 Plan d'échantillonnage basé sur les performances et les risques de séropositivité

Le calcul de la sensibilité du plan de dépistage envisagé permet de vérifier que les élevages séropositifs sont bien testés positifs. Néanmoins, le choix d'un plan de dépistage basé uniquement sur l'optimisation de la sensibilité ne garantit pas que la majorité des élevages testés négatifs sont réellement séronégatifs.

La proportion d'élevages réellement séronégatifs parmi ceux testés négatifs correspond à la valeur prédictive négative (HVPN) du plan de dépistage, qui est également calculée à partir de la séoprévalence inter-élevage. Par exemple, un plan de dépistage réalisé dans une zone géographique où la quasi-totalité des élevages est réellement séropositifs comprendra probablement une forte proportion d'élevages réellement séropositifs parmi ceux testés négatifs, y compris avec un plan de dépistage ayant une sensibilité élevée. Étant donné que dans la Partie 2, nous avons estimé les séoprévalences inter-élevages pour chaque espèce et chaque type de production, les VPP sont également estimées pour chaque espèce et chaque type de production.

À l'instar de la sensibilité du plan de dépistage, les HVPN augmentent avec le nombre d'individus testés et les médianes des valeurs prédictives négatives deviennent supérieures à 95 % pour des nombres relativement faibles d'individus testés (Figure E-9). Néanmoins, la borne inférieure de l'intervalle de crédibilité à 95 % de la valeur prédictive négative ne devient supérieure à 95 % que pour des nombres élevés d'individus testés allant de 21 individus testés avec le test 3 chez les bovins allaitants à plus de 100 avec le test 1 chez les ovins de tout type de production (Tableau E-7).

Par rapport aux indicateurs uniquement basés sur la performance du plan, lorsque l'on tient compte des séoprévalences inter-élevages pour définir le nombre d'individus à tester de façon à limiter la proportion d'élevages séropositifs parmi ceux testés négatifs, alors le nombre d'individus à tester est plus grand dans les types de production (ou espèces) où la séoprévalence inter-élevage peut être élevée (caprin, ovin et bovin laitier) et, il est plus petit dans les types de production (ou espèces) où la

séroprévalence inter-élevage est plus faible (bovin allaitant). Ainsi, dans les départements ou espèces où la séroprévalence inter-élevage est plus faible, on pourra tester moins d'individus pour garantir que les élevages testés négatifs ont une probabilité d'être réellement séronégatifs supérieur à 95 %.

Chez les bovins laitiers et les ovins allaitants, aucun des nombres d'individus à tester considérés ne permet de garantir une valeur prédictive négative du plan de dépistage supérieure à 95 %. Dans ces espèces et types de production, quels que soient le test utilisé et le nombre d'individus testés, il n'est pas possible de démontrer que les troupeaux testés négatifs ont une probabilité supérieure à 95 % d'être réellement séronégatifs.

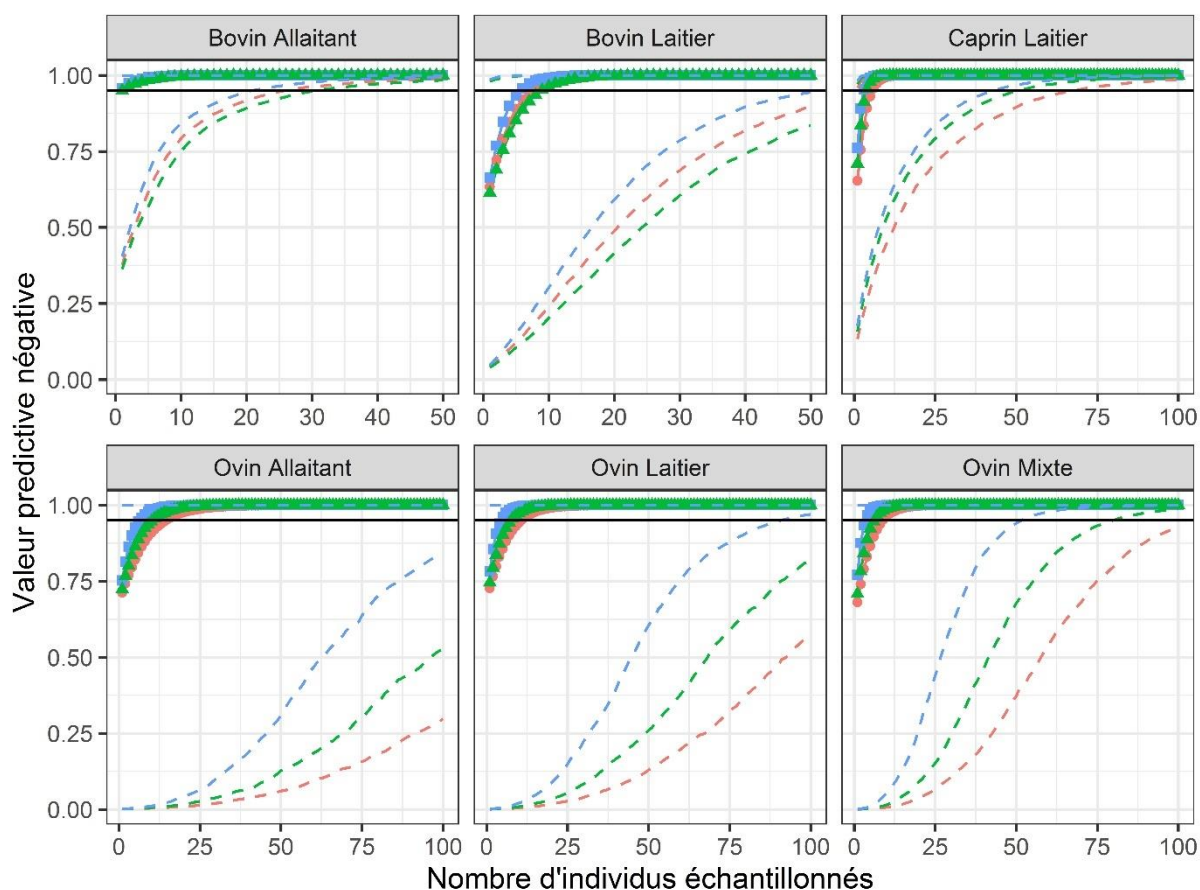


Figure E-9 : Estimation ponctuelle (médiane, en point et trait plein) et bande de crédibilité à 95 % (quantile 2,5 et 97,5 %, en traits pointillés) de la valeur prédictive négative du plan (HVPN) de dépistage à l'échelle de l'élevage en fonction du nombre d'individus testés de l'espèce et du type de production. La ligne horizontale pleine, noire correspond à une HVPN de 95 %. Le troupeau est considéré comme séronégatif si aucun animal n'est testé positif. Les tests 1, 2 et 3 sont respectivement colorés en rouge, vert et bleu et identifiés avec des points ronds, triangulaires et carrés

**Lorsque le risque de séropositivité des élevages ciblés est élevé (comme les élevages caprins), pour confirmer un statut négatif avec une HVPN >95%, les plans de dépistage basés sur les performances et le risque nécessitent le prélèvement d'un plus grand nombre d'individus que les plans basés uniquement sur les performances.**

**À l'inverse, en cas de risque de séropositivité faible (comme dans les élevages bovins allaitants), moins d'individus sont nécessaires pour garantir que le troupeau est séronégatif.**

**Dans la situation épidémiologique en France métropolitaine, même si l'intégralité des 50 bovins laitiers ou 100 ovins allaitants prélevés sont testés négatifs, il n'est pas possible d'affirmer, avec une probabilité supérieure à 95 %, que le troupeau est réellement séronégatif.**

**Pour un même nombre d'individus prélevés, les plans de dépistage utilisant le test 3 ont les HSe et HVPN les plus hautes. Le test 3 est donc celui qui nécessite de prélever le moins d'individus pour maintenir une HSe >95 % et une HVPN supérieures à 95 %.**

**En prélevant un nombre important d'individus, la HSp du plan de dépistage diminue et seule une faible proportion de troupeaux réellement séronégatifs seront effectivement testés négatifs par le plan de dépistage.**

#### III.2.4 Autres plans de dépistage envisageables pour certifier un statut indemne d'un élevage

##### III.2.4.1 Limite des plans de dépistage sérologique pour certifier un statut négatif

La principale limite des plans de dépistage que nous avons évalués pour démontrer que l'élevage testé est réellement séronégatif (avec une probabilité supérieure à 95 %) ou pour détecter plus de 95 % des troupeaux réellement séropositifs, est qu'ils nécessitent de tester un grand nombre d'individus (parfois plus que d'individus présents dans l'élevage). Ce type de plan de dépistage a une spécificité faible, car la probabilité d'obtenir un résultat négatif sur l'intégralité des individus testés lorsqu'un grand nombre d'individus sont testés est faible, quel que soit le test, y compris dans un élevage entièrement séronégatif.

Pour améliorer la spécificité à l'échelle de l'élevage, il faudrait tester moins d'individus ou considérer les élevages comme positifs dès que deux ou trois individus sont testés positifs. Néanmoins, cela entraînera une baisse de la sensibilité du plan de dépistage et donc une baisse de sa valeur prédictive négative, ce qui ne permettrait ni de détecter tous les élevages réellement séropositifs ni de conclure sur le statut réellement séronégatif des élevages testés négatifs.

##### III.2.4.2 Prise en compte de l'historique sérologique de l'élevage

Il apparaît donc complexe, voire impossible (dans certaines espèces), de déterminer un plan de dépistage permettant de certifier le statut séronégatif d'un élevage en se basant uniquement sur des sérologies individuelles réalisées à un instant donné avec un seul test. Parmi les pistes de réflexion possibles, il pourrait être envisagé de réaliser des plans de dépistage de façon répétée dans le temps, par exemple annuellement comme pour la prophylaxie de dépistage de l'IBR chez les bovins en France. Il serait alors possible de tenir compte de l'intégralité des séries de résultats obtenus dans l'élevage au cours du temps pour aboutir à une probabilité de séropositivité de l'élevage à l'issue du dernier plan de dépistage réalisé. Le modèle *STOC free* est d'ailleurs en cours de développement pour réaliser ce type d'analyse (Madouasse et al., 2021).

À ce jour, le modèle *STOC free* prend en compte la dépendance des résultats entre les différents temps de prélèvements en modélisant les statuts des élevages à chaque temps. Cependant, ce modèle ne

prend pas en compte la dépendance conditionnelle vis-à-vis du statut de l'élevage entre les résultats répétés dans le temps sur les mêmes individus ou élevages. Pour le dépistage des infections à *C. burnetii*, cette non-prise en compte de la dépendance conditionnelle risque d'être problématique, en particulier dans les élevages de bovins séronégatifs. En effet, dans cette espèce, les trois tests ELISA sont dépendants conditionnellement au statut vis-à-vis de la maladie (Cf. Partie 1 de la thèse), cela devrait logiquement entraîner également une dépendance conditionnelle des mesures répétées avec un même test. Par exemple, si un bovin est faussement positif avec un des tests en raison de réactions sérologiques croisées du fait de la présence d'anticorps dirigés, par exemple, contre des bactéries *Coxiella*-like, il est probable que ces anticorps persistent dans le temps et qu'ils soient également faussement positifs lors des tests successifs. La prise en compte de la dépendance conditionnelle de mesures répétées dans le temps a, à notre connaissance, été implémentée dans peu d'études et constitue un risque de biais potentiel de ce type de plan de dépistage (Engel et al., 2010; Wang and Hanson, 2019).

#### III.2.4.3 Autres plans de dépistage à l'échelle du troupeau

Une autre piste pour construire des plans de dépistage ayant pour objectif de certifier le statut séronégatif d'un élevage serait l'usage simultané de plusieurs méthodes diagnostiques, en combinant les résultats de plusieurs tests sérologiques, ou en utilisant des tests de mise en évidence directe de l'ADN de la bactérie sur les animaux ou dans l'élevage comme les PCR sur lait de tank (Boarbi et al., 2014; Muskens et al., 2011; van den Brom et al., 2015a) ou sur poussière (Carrié et al., 2019; Joulié et al., 2015; Nusinovič et al., 2015; Rousset et al., 2020).

Néanmoins, l'information supplémentaire apportée par l'usage simultané de plusieurs tests sérologiques dans l'élevage risque d'être limitée en raison de la dépendance conditionnelle élevée entre les trois tests chez les individus séropositifs. Quant aux méthodes de mise en évidence directe à l'échelle de l'élevage, leurs performances diagnostiques n'ont été évaluées, à notre connaissance, que dans une étude pour une méthode PCR sur lait de tank ou sur poussière chez les bovins laitiers (Nusinovič et al., 2015). Leurs dépendances conditionnelles entre elles ou avec les tests sérologiques n'ont pas été évaluées à notre connaissance dans un contexte de surveillance épidémiologique des infections par *C. burnetii* à l'échelle de l'élevage, ce qui limite leur préconisation dans ce contexte.

En l'état actuel, pour vérifier si un élevage est réellement séronégatif, l'idéal serait de tester l'intégralité du troupeau avec l'un des tests sérologiques et d'interpréter les résultats du plan de dépistage à l'aide de l'application Shinycox développée dans la Partie 3 de la thèse pour obtenir la probabilité de séropositivité du troupeau. Par exemple, pour le cas du troupeau bovin allaitant présenté dans la Partie 3, à l'issue de l'analyse des 149 échantillons de sérum issus des bovins de l'élevage, la probabilité de séropositivité du troupeau a été estimée à 0 avec un intervalle de confiance à 95 % de [0 ; 0,15], malgré le fait que 5 individus ont été testés positifs parmi les 149. Le coût économique de ce type de plan de dépistage est élevé et ne pourra être réalisé que dans des situations particulières où la certification du statut négatif de l'élevage est un enjeu important.

### III.3. Évaluation du statut d'un élevage

Si l'objectif du plan de dépistage est d'évaluer le statut d'un élevage (et non de démontrer qu'il est séronégatif ou de détecter un maximum d'élevages réellement séropositifs), il est préférable d'effectuer un compromis entre un plan de dépistage à HSe élevée et HSp faible (qui a une valeur prédictive négative élevée) et un plan de dépistage à HSe faible et HSp élevée (qui a une valeur prédictive positive élevée).

Dans un premier temps, nous estimerons le nombre d'individus optimal à tester pour maximiser l'indice de Youden. Puis nous estimerons le nombre d'individus optimal à tester pour minimiser la proportion d'élevages mal classés en prenant en compte la séroprévalence inter-élevage dans chaque espèce et type de production.

### III.3.1 Plan d'échantillonnage uniquement basé sur les performances

Lorsque peu d'animaux sont testés dans l'élevage, la spécificité du plan de dépistage est élevée, mais sa sensibilité est faible. Plus on augmente le nombre d'individus testés, plus la sensibilité augmente, mais plus la spécificité diminue. Lorsque la HSe augmente plus fortement que la HSp ne diminue, leur somme augmente, mais dès que la HSe augmente moins fortement que la HSp ne diminue alors leur somme diminue (Figure E-10). L'indice de Youden atteint donc généralement un maximum que l'on considéra comme le plan de dépistage optimal (sans prendre en compte la séroprévalence inter-élevage).

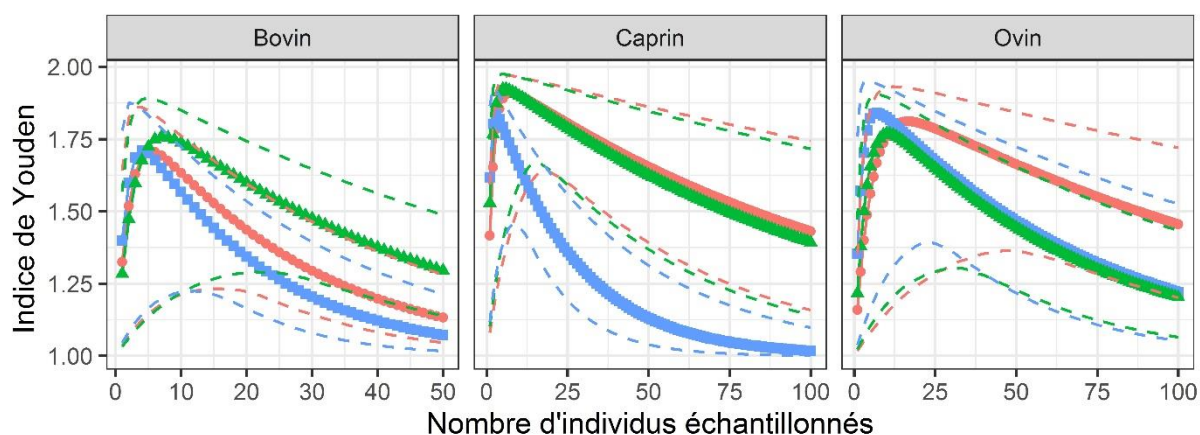


Figure E-10 : Indice de Youden (somme des Se et Sp) du plan de dépistage à l'échelle de l'élevage en fonction du nombre d'individus testés dans chaque espèce et pour chaque test.

Estimations ponctuelles (médiane, en point et trait plein) et bandes de crédibilité à 95 % (quantile 2,5 et 97,5 %, en traits pointillés). Le troupeau est considéré comme séropositif si au moins un animal est testé positif. Les tests 1, 2 et 3 sont respectivement colorés en rouge, vert et bleu.

La médiane *a posteriori* du nombre d'individus prélevés maximisant l'indice de Youden varie de 3 caprins testés avec le test 3 à 18 ovins testés avec le test 1. Quelle que soit l'espèce, le test 3 est celui dont l'indice de Youden maximal est atteint pour le moindre effectif d'individus testés. Néanmoins, l'indice de Youden maximal avec le test 3 est inférieur à l'indice de Youden maximal du plan de dépistage optimal avec le test 2 chez les bovins et avec le test 2 ou le test 1 chez les caprins.

Ces résultats sont cohérents avec les Se et Sp des tests à l'échelle individuelle :

- Les tests 1 et 2 sont moins sensibles, mais plus spécifiques. On peut donc tester plus d'animaux pour maximiser la probabilité de détecter les positifs sans trop augmenter le risque d'obtenir des résultats faux positifs et donc de considérer à tort le troupeau comme séropositif.
- Le test 3 est le plus sensible, mais le moins spécifique. Il n'est donc pas nécessaire d'échantillonner beaucoup d'animaux pour identifier des individus séropositifs dans un élevage réellement séropositif alors que le risque d'identifier à tort un animal comme positif dans un élevage réellement séronégatif augmente fortement avec le nombre d'individus testés.

Tout comme pour les sensibilités du plan de dépistage (Figure E-8), l'intervalle de crédibilité de l'indice de Youden est large (Figure E-10) de même que l'intervalle de crédibilité du nombre d'individus maximisant l'indice de Youden (Tableau E-8). Les médianes ne permettent pas d'illustrer la diversité des contextes épidémiologiques. Ainsi, dans les élevages à faible séroprévalence intra-élevage, dans lesquels la Se du plan de dépistage est plus faible, il pourrait être intéressant de tester plus d'individus pour augmenter la Se et les performances globales du plan de dépistage.

Tableau E-8 : Médiane et intervalle de crédibilité à 95 % du nombre d'individus optimal à prélever pour évaluer le statut de l'élevage.

Soit en maximisant l'indice de Youden, soit pour minimisant le taux d'élevages mal classés, avec chaque test et dans chaque espèce. L'élevage est considéré comme positif si au moins un individu est testé positif parmi ceux prélevés.

Test ELISA		Test 1		Test 2		Test 3	
Critère de choix		Indice de Youden	Taux d'élevages mal classés	Indice de Youden	Taux d'élevages mal classés	Indice de Youden	Taux d'élevages mal classés
Bovin	Allaitant	6	1 [1 ; 12]	8	1 [1 ; 18]	4	1 [1 ; 9]
	Laitier	[3 ; 17]	6 [1 ; 35]	[4 ; 26]	9 [1 ; 48]	[2 ; 14]	4 [1 ; 27]
Caprin	Laitier	8 [5 ; 29]	7 [1 ; 39]	6 [3 ; 24]	5 [1 ; 27]	3 [2 ; 11]	3 [1 ; 18]
Ovin	Allaitant	18 [9 ; 69]	13 [1 ; 100]	11 [6 ; 39]	8 [1 ; 100]	8 [3 ; 33]	5 [1 ; 87]
	Laitier		11 [1 ; 100]		7 [1 ; 95]		4 [1 ; 63]
	Mixte		11 [1 ; 91]		7 [1 ; 63]		4 [1 ; 41]

**Si on cherche uniquement à évaluer le statut du troupeau et que l'on considère l'élevage comme séropositif à partir du moment où un individu est testé positif, le plan de dépistage optimal pour maximiser l'indice de Youden revient à prélever :**

**6 bovins, 8 caprins ou 18 ovins avec le test 1;**

**4 bovins, 3 caprins ou 8 ovins avec le test 3;**

**8 bovins, 6 caprins ou 11 ovins avec le test 2.**

**Le test 3 est celui qui permet de tester l'effectif le plus faible, mais l'indice de Youden correspondant est moins élevé que celui estimé pour le test 2 chez les bovins et les tests 1 et 2 chez les caprins.**

**Dans certaines situations, notamment dans les élevages à séroprévalence intra-élevage faible, il pourrait être intéressant de tester plus d'individus pour obtenir un meilleur compromis entre les Se et Sp du plan de dépistage.**

### III.3.2 Plan d'échantillonnage basé sur les performances et les risques de séropositivité

L'indice de Youden permet de déterminer le plan de dépistage qui présente les meilleures Se et Sp. Cependant, il ne tient pas compte de la séroprévalence attendue et ne permet généralement pas de s'assurer que le nombre d'élevages mal classés sera le plus bas possible. Par exemple, dans un contexte où peu d'élevages sont séropositifs, il sera plus intéressant de favoriser un plan de dépistage ayant une bonne spécificité pour limiter le nombre d'élevages réellement séronégatifs mal classés.

Pour évaluer les plans de dépistage qui minimisent la proportion d'élevages mal classés, nous avons pris en compte les distributions des séroprévalences inter-élevages estimées, pour chaque espèce et chaque type de production, dans la Partie 2.

Le nombre d'individus médian minimisant le taux d'élevages mal classés varie d'un individu avec le test 3 chez les bovins allaitants à 13 individus chez les ovins allaitants (Tableau E-8). Même en testant un nombre optimal d'individus, le taux d'élevages mal classés reste relativement élevé, quels que soient le test, l'espèce et le type de production, variant de 6,2 % en testant 1 animal chez les bovins allaitants avec le test 2 à 16,8 % en testant 4 animaux chez les bovins laitiers avec le test 3 (Figure E-11).

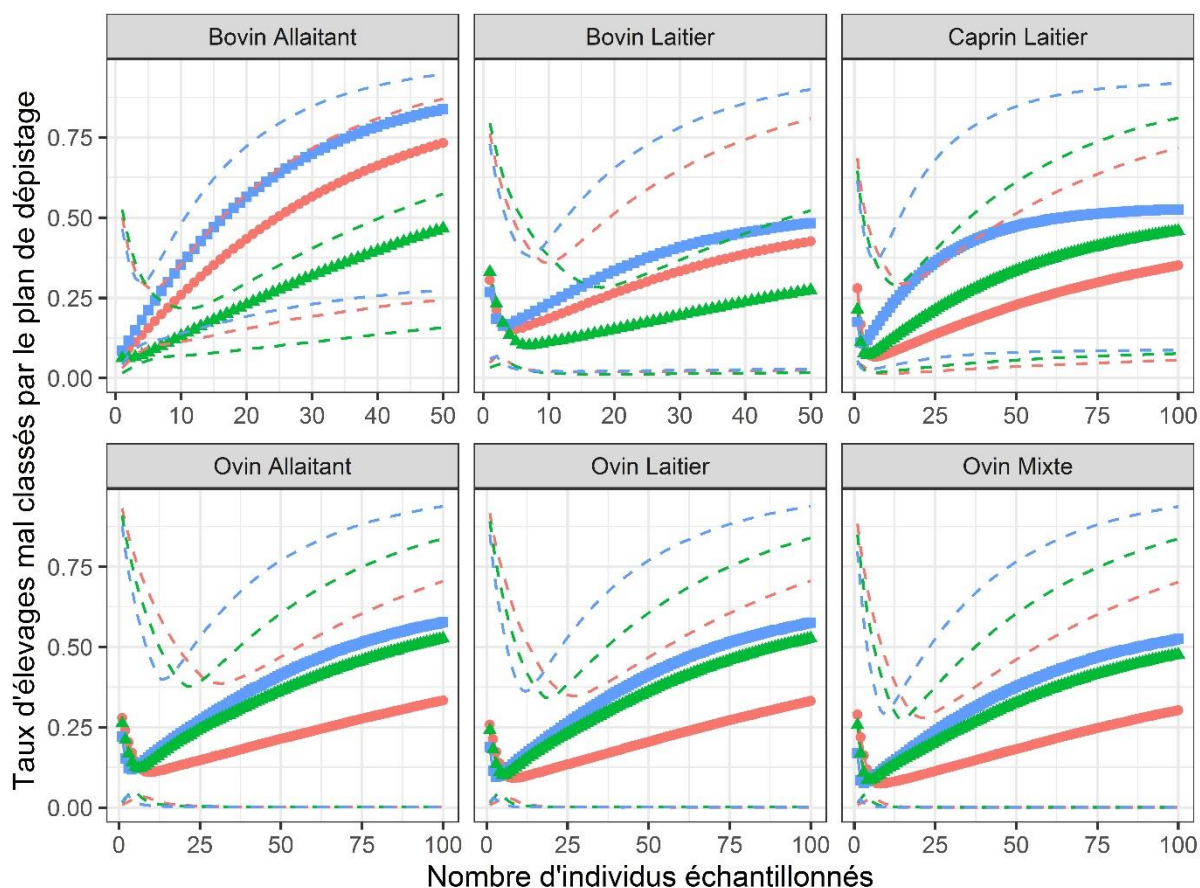


Figure E-11 : Taux d'élevages mal classés par plan de dépistage à l'échelle de l'élevage en fonction du nombre d'individus testés dans chaque espèce et pour chaque test.  
 Estimations ponctuelles (médiane, en point et trait plein) et bandes de crédibilité à 95 % (quantile 2,5 et 97,5 %, en traits pointillés). Le troupeau est considéré comme séropositif si au moins un animal est testé positif. Les tests 1, 2 et 3 sont respectivement colorés en rouge, vert et bleu.

Le nombre optimal d'individus à tester, estimé en minimisant les proportions d'élevages mal classés avec chaque test est inférieur à celui estimé en maximisant l'indice de Youden. Ce résultat est lié au fait que la médiane des séroprévalences inter-élevages de l'ensemble des types d'élevages de ruminants français est inférieure à 50 %. Cela favorise donc des plans d'échantillonnage plus spécifiques que ceux choisis en minimisant l'indice de Youden.

Dans tous les espèces et types de production, le test 3 est celui qui permet de maximiser le taux d'élevages mal classés avec le moindre effectif. Néanmoins, le fait d'utiliser le test 3 entraîne également un taux d'élevages mal classés plus élevé qu'avec les deux autres tests. Les plans de dépistage qui présentent les proportions d'élevages mal classés les plus bas sont ceux utilisant le test 1 chez les caprins et ovins et le test 2 chez les bovins. Ces deux tests sont les plus spécifiques et ils permettent de tester un nombre optimal d'individus à prélever plus élevés.

Quel que soit le nombre d'individus prélevés, l'intervalle de crédibilité à 95 % du taux d'élevages mal classés est large, car il est calculé en prenant en compte la variabilité des séroprévalences inter- et intra-élevages. En conséquence, l'intervalle de crédibilité du nombre d'individus testés minimisant le taux d'élevages mal classés est également large allant jusqu'à l'intervalle [1 ; 100] chez les ovins allaitants (Tableau E-8). Dans des territoires où la séroprévalence inter-élevage attendue est élevée, il est plus intéressant de tester plus d'individus pour augmenter la sensibilité du plan de dépistage et limiter le taux d'élevages faussement négatifs. Inversement, dans les territoires où la séroprévalence inter-élevage est basse, il vaut mieux tester moins d'individus pour augmenter la spécificité du plan de dépistage et limiter le taux d'élevages faussement positifs.

Pour limiter à la fois la valeur du taux d'élevages mal classés et l'incertitude autour de son estimation

médiane, il faudrait envisager d'autres règles de décision comme le fait de considérer l'élevage comme séropositif à partir de plus d'un individu testé positif. Cela permettra d'augmenter le nombre d'individus testés sans diminuer la spécificité du plan de dépistage, car la présence d'un unique individu faussement positif n'entraîne pas la qualification de l'élevage comme positif à tort s'il est réellement séronégatif. Le fait de tester plus d'individus en changeant la règle de décision utilisée pour classer les élevages en positif ou négatif permettrait de mieux discriminer les élevages réellement séropositifs et séronégatifs.

**Lorsque l'on tient compte de la séroprévalence inter-élevage pour déterminer le nombre d'individus à tester optimal en minimisant le taux d'élevages mal classés, le nombre d'individus optimal est plus faible que celui déterminé en maximisant l'indice de Youden.**

**Le test 3 permet de maximiser le taux d'élevages mal classés avec le moindre effectif, mais c'est également celui qui présente les taux d'élevages mal classés les plus élevés.**

**Les plans de dépistage qui présentent les taux d'élevages mal classés les plus bas chez les caprins et ovins sont ceux utilisant le test 1 et ceux utilisant le test 2 chez les bovins.**

**Avec ces plans de dépistage, les taux d'erreurs restent relativement élevés et compris entre 6,6 et 16,8 % d'élevages mal classés en fonction des tests et des espèces.**

**Dans certains contextes épidémiologiques, le nombre d'individus optimal à tester pourrait être abaissé ou augmenté pour minimiser prioritairement soit le taux d'élevages faussement positifs dans les zones à faibles séroprévalences inter-élevages, soit le taux d'élevages faussement négatifs dans les zones à fortes séroprévalences.**

**L'utilisation de règles de décision différentes (par exemple, élevage séropositif à la suite du plan de dépistage si plus de deux individus sont testés positifs) permettrait de tester plus d'individus sans diminuer la spécificité du plan de dépistage ce qui limiterait le taux d'élevages mal classés et son incertitude.**

### III.3.3 Limites des plans de dépistage optimaux préconisés pour évaluer le statut d'un élevage

#### III.3.3.1 Autres informations évaluées lors de la réalisation de plan de dépistage

Les plans de dépistage préconisés dans cette partie permettent d'évaluer le statut sérologique du troupeau de façon optimale en minimisant le nombre d'individus testés. Ils sont optimaux pour détecter la présence ou l'absence d'individus séropositifs dans l'élevage cependant, ils ne sont pas suffisants ni pour évaluer la séroprévalence intra-élevage ni pour dater l'ancienneté de l'exposition à *C. burnetii* dans l'élevage.

Pour évaluer ces deux informations, il est préconisé de tester plus d'animaux dans l'élevage et de les répartir sur plusieurs classes d'âge. En effet, la présence d'individus séropositifs parmi les jeunes (primipare) indique une circulation récente de la bactérie. À l'inverse, si uniquement les individus âgés sont séropositifs, alors la circulation est plus ancienne. Cette approche revient à évaluer le statut sérologique de sous-groupes correspondant aux individus de chaque classe d'âge de l'élevage (primipares, femelles de 2-4 ans et de plus de 4 ans). Cette problématique peut être traitée de façon similaire à l'évaluation du statut de l'élevage, mis à part que la séroprévalence inter-élevage n'a plus de sens à l'échelle des sous-groupes de l'élevage. Ainsi, pour optimiser l'évaluation du statut sérologique de chaque classe d'âge, il faut se baser sur les performances des tests uniquement et se rapporter aux nombres d'individus maximisant l'indice de Youden (Tableau E-8). Cela reviendrait, par exemple à prélever 4 bovins, 3 caprins ou 8 ovins par classe d'âge avec le test 3.



### III.3.3.2 Perte d'information liée à la règle de décision

Enfin, quel que soit le plan de dépistage prévu, le fait de fixer à l'avance la règle de décision utilisée pour classer les élevages en positif ou négatif entraîne la plupart du temps une perte d'information. Par exemple, avec une règle de décision selon laquelle l'élevage est défini séropositif à partir d'un animal testé positif, la valeur prédictive positive sera en réalité plus élevée si plusieurs animaux (et non un seul) ont été testés positifs. Pour un même plan de dépistage, deux élevages testés positifs auront potentiellement des probabilités de séropositivité différentes en fonction du nombre d'individus effectivement testés positifs dans chaque élevage. Les préconisations réalisées permettent donc de choisir le nombre d'individus optimal à tester en fonction des objectifs, du test et de l'espèce, mais elles ne permettent pas d'interpréter finement les résultats obtenus. Pour ce faire, il faut calculer les probabilités de séropositivité correspondant exactement aux résultats obtenus.

## IV. Perspectives

Ces travaux soulèvent de nombreuses perspectives d'utilisation pratique des tests ELISA ou de recherche sur le diagnostic des infections par *C. burnetii*. Nous détaillerons dans un premier temps les perspectives liées à l'utilisation des résultats obtenus :

- Pour interpréter les résultats des tests grâce à l'application « Shinycox » ;
- Pour harmoniser l'information apportée par les différents tests ELISA ;
- Pour étudier l'intérêt de différents plans de dépistage pouvant être mis en œuvre dans le cadre de programme de surveillance des infections par *C. burnetii*.

Nous aborderons ensuite les perspectives d'utilisation de la sérothèque KitEval 4500, soit pour améliorer l'évaluation des tests sérologiques actuellement commercialisés, soit pour évaluer de nouveaux tests sérologiques. Enfin, nous aborderons des perspectives plus larges d'utilisation des modèles à classes latentes pour évaluer d'autres tests des infections par *C. burnetii* chez les ruminants domestiques ou dans d'autres espèces (Figure E-12).

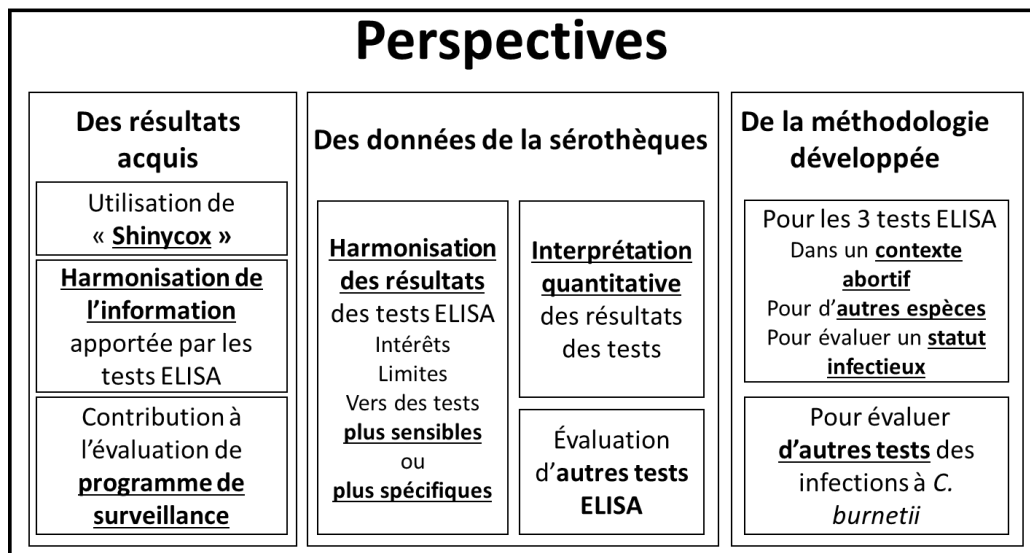


Figure E-12 : Perspectives réalisables à partir des résultats déjà obtenus, des sérums et données collectées par le LNR et de la méthodologie développée dans le cadre de cette thèse.

## IV.1. Perspective d'utilisation de la méthodologie de prise en compte de l'incertitude diagnostique des tests ELISA

Que ce soit pour estimer les probabilités de séropositivités ou les séroprévalences des infections par *C. burnetii*, la prise en compte de l'incertitude diagnostique nous semble essentielle pour obtenir une information plus juste du statut sérologique des individus ou des troupeaux vis-à-vis de *C. burnetii* ou du niveau de présence de *C. burnetii* dans une zone donnée.

### IV.1.1 Interprétation des résultats d'un plan de dépistage

#### IV.1.1.1 Mise à disposition de la méthodologie : Shinycox

Les méthodes pour prendre en compte cette incertitude diagnostique sont relativement complexes à implémenter, en particulier si l'on veut à la fois tenir compte de l'incertitude des paramètres estimés (Se et Sp) et de la variabilité des séroprévalences inter- et intra-élevages. La mise à disposition de cette méthodologie au plus près des utilisateurs des tests ELISA sous la forme d'une application web Shiny nous paraît être une bonne façon de la rendre accessible et utilisable par le plus grand nombre. À ce jour, l'application Shinycox est encore en cours de développement et des réunions de présentations de l'application avec les acteurs de terrains (vétérinaires, gestionnaires et laboratoire vétérinaires) doivent être réalisées pour préciser les attentes des utilisateurs. L'objectif de ces réunions est de recenser les contextes dans lesquels l'application pourrait être utilisée afin de répondre au mieux aux questions posées par les acteurs. Nous visons également l'amélioration de l'interface utilisateur pour faciliter la prise en main de l'outil.

#### IV.1.1.2 Problématique du choix du seuil de probabilité pour classer les individus

Une des questions attendues de la part des utilisateurs de l'application concerne la façon d'interpréter les probabilités de séropositivités et leurs intervalles de crédibilités.

- À partir de quelle probabilité doit-on considérer l'individu ou l'élevage testé comme réellement séropositif ?
- Que dire d'une estimation ponctuelle correspondant à une forte probabilité de séropositivité, mais associée à un intervalle de crédibilité à 95 % large ?

Le choix du seuil à partir duquel on peut considérer l'individu ou l'élevage comme séropositif devrait idéalement être réfléchi au cas par cas en fonction des conséquences du classement de l'animal. Les décisions prises selon le résultat d'un test et son interprétation (*i.e.*, vrai positif, faux positif, vrai négatif, faux négatif) impliquent des conséquences financières variables dont l'estimation est rarement accessible. Toutefois, il est relativement simple de calculer le bénéfice-risque de la situation diagnostique à partir des probabilités de séropositivité et de prendre la décision médicale qui minimise les coûts ou maximise les bénéfices attendus (Grenier, 1993). Ce type d'approche a été utilisé dans de nombreux contextes comme par exemple l'évaluation ou l'optimisation des programmes de surveillance la tuberculose bovine (Guétin-Poirier et al., 2020; Poirier et al., 2019), de la fièvre catarrhale ovine (Rüegg et al., 2018) ou de la paratuberculose (More et al., 2015). L'identification des contextes d'utilisation de l'application permettra dans tous les cas de mieux aiguiller l'interprétation des probabilités de séropositivité.

Si l'obtention d'intervalle de crédibilité large ou d'une probabilité de séropositivité médiane proche de 50 % complique la prise de décision médicale, elle ne remet pas en cause l'intérêt de l'application qui fournira, à l'utilisateur une estimation de l'information réellement apportée par son plan de dépistage. De plus, cette problématique de l'interprétation des probabilités ou de la prise de décision suite à un intervalle de crédibilité large est surtout présente pour les élevages séronégatifs, qui sont difficilement distinguables des élevages à faible séroprévalence intra-élevage. Dans les élevages séropositifs dont la séroprévalence est modérée ou élevée, la proportion d'individus testés positifs sera élevée. Leurs probabilités de séropositivité seront également élevées avec un intervalle de crédibilité étroit et leur classement en tant que vrai positif sera aisé pour l'utilisateur.

**La prise en compte de l'incertitude diagnostique est essentielle pour obtenir une information plus fiable à partir des résultats d'un plan de dépistage sérologique des infections par *C. burnetii*.**

**La mise à disposition de la méthodologie sous la forme d'une application Shiny permettra un transfert des connaissances vers les utilisateurs des tests sérologiques.**

**La sollicitation des futurs utilisateurs de l'application permettra de faire évoluer l'outil selon leurs attentes, en particulier l'interprétation des probabilités de séropositivité calculées.**

#### IV.1.2 Utilisation de la méthodologie dans le cadre de la surveillance

##### IV.1.2.1 Harmonisation de l'information apportée par les différents tests

À plus large échelle, la méthodologie développée pourrait également permettre d'harmoniser l'information apportée par les différents plans de dépistage sérologique réalisés pour des espèces et avec des tests différents. Quel que soit le test utilisé, la prise en compte des Se et Sp dans l'espèce testée permettrait de transformer les résultats bruts en probabilité de séropositivité et les séoprévalences apparentes en séoprévalences réelles.

Cette harmonisation de l'information mesurée par les tests favoriserait la comparabilité des résultats issus d'études épidémiologiques différentes, ou de plans de surveillance sérologique réalisés dans des zones géographiques différentes avec des tests différents. Cependant, pour l'instant, cela nécessite de supposer que les Se et Sp des différents tests sont similaires dans les différentes zones géographiques considérées, ce qui ne semble pas être le cas dans les différents départements français chez les bovins pour le test 1. Pour le calcul des probabilités de séropositivité, cela nécessite également de disposer d'estimation préalable des séoprévalences inter et intra-élevages dans les différentes zones géographiques et les différents types de production considérés.

##### IV.1.2.2 Évaluation de plans de dépistage dans le cadre de programmes de surveillance

Les estimations des Se et Sp des tests ELISA et des plans de dépistage utilisant ces tests ainsi que des valeurs prédictives associées pourraient être utilisées pour évaluer les performances des plans dans le cadre de programmes de surveillance existant ou à venir. Cette évaluation des plans de dépistage pourrait être ajoutée ou intégrée au sein d'outils d'évaluation globaux comme RISKSUR (Peyre et al., 2019) ou OASIS (Hendriks et al., 2011).

Néanmoins, les tests sérologiques ELISA sur sérums ne sont pas les seuls à être utilisés pour dépister les infections par *C. burnetii*. Par exemple, depuis 2009, les Pays-Bas et la Belgique ont mis en place un programme de surveillance des infections par *C. burnetii* basé sur la recherche d'ADN par PCR sur lait de tank dans les élevages caprins et ovins laitiers (Boarbi et al., 2014; van den Brom et al., 2015). Pour évaluer les performances de plans de dépistage combinant (ou non) les différentes méthodes utilisables (ELISA sur sérum et lait de tank, PCR individuelle, sur lait de tank ou sur poussières), il faudrait disposer d'estimation des sensibilité et spécificité de chaque méthode pour diagnostiquer un même statut à l'échelle de l'élevage (par exemple présence d'individus infectés par *C. burnetii* dans l'élevage).

L'obtention des telles Se et Sp est complexe, car chaque méthode mesure un statut vis-à-vis des infections par *C. burnetii* qui lui est propre. Dans notre étude, les Se et Sp estimées pour les trois tests ELISA correspondent à la détection des individus séropositifs ou séronégatifs et pas des individus infectés ou non. De même, les Se et Sp estimées pour la PCR lait de tank chez les bovins laitiers correspondent à la présence (ou non) d'individus excréteurs dans le lait parmi les femelles en lactation (Nusinovici et al., 2015).

L'évaluation simultanée des performances diagnostiques des différentes méthodes utilisables pour réaliser un diagnostic ou un dépistage des infections par *C. burnetii* à l'échelle du troupeau dans un modèle à classes latentes prenant en compte les dépendances conditionnelles entre les différents tests

est un préalable indispensable à l'évaluation des performances des différents plans de surveillance des infections par *C. burnetii*. Avec la récente entrée en application de la loi de santé animal, ce type d'études nous paraît prioritaire.

**L'harmonisation des résultats des plans de dépistage en probabilité de séropositivité et séroprévalence réelle rend les résultats issus de différentes études comparables. Sa mise en œuvre nécessite néanmoins des études complémentaires pour vérifier l'homogénéité des Se et Sp des tests ELISA dans les différentes zones géographiques et pour évaluer les performances des autres méthodes diagnostiques utilisées.**

**La méthodologie développée ici pourrait être utilisée dans des démarches d'évaluation globale des performances d'un programme de surveillances des infections par *C. burnetii* basé sur les tests ELISA.**

**Des études visant à évaluer de façon simultanée les Se et Sp des différentes méthodes diagnostiques à l'échelle du troupeau sont indispensables et prioritaires pour évaluer les performances des différents programmes de surveillances des infections par *C. burnetii***

## IV.2. Perspectives d'harmonisation des trois tests ELISA

Dans les parties précédentes, nous avons tenté de mettre en exergue les avantages et inconvénients de chaque test pour chaque espèce. Nous allons discuter ici de perspectives possibles en vue d'harmoniser les trois tests.

### IV.2.1 Intérêt d'une harmonisation des tests ELISA commercialisés

Nous avons montré dans la partie 1 que les Se et Sp sont différentes entre les trois tests et que les Se et Sp ne sont pas identiques pour un même test dans chaque espèce de ruminants domestiques. Théoriquement, cela pourrait aboutir à l'utilisation de plusieurs tests différents dans chaque laboratoire, pour choisir le test ELISA qui correspond le mieux à l'espèce ciblée ou aux objectifs du plan de dépistage mis en place. Pourtant, actuellement, les trois tests ELISA sont utilisés indifféremment par les laboratoires vétérinaires, quels que soient l'espèce et l'objectif de réalisation du dépistage, et chaque laboratoire n'utilise en général qu'un seul test, qui n'est pas forcément le même que celui utilisé par le laboratoire vétérinaire voisin.

#### IV.2.1.1 Pour limiter les discordances entre les résultats fournis par un réseau de laboratoires

L'analyse d'un même échantillon par plusieurs laboratoires utilisant chacun un test ELISA différent peut entraîner des résultats différents. Il en résulte, de fait, un risque d'incohérences dans les résultats avec des effets à diverses échelles possibles. Par exemple, un élevage réalisant des tests dans deux laboratoires différents pourra obtenir des résultats différents. Cela peut également entraîner l'observation d'un effet département ou région artificiel, car les séroprévalences apparentes mesurées par les proportions d'individus ou d'élevages testés positifs dans deux laboratoires différents ne sont pas comparables s'ils utilisent des tests différents.

#### IV.2.1.2 Pour le suivi et maintien des performances analytiques des kits ELISA

De plus, si les trois tests ont des performances différentes, la mise en place d'une procédure commune aux trois tests pour l'utilisation normalisée (SOP) et le contrôle des réactifs (calibrations des lots, vérifications du maintien des performances au cours du temps...) est complexe, voire impossible. Par exemple, actuellement, le LNR prépare des étalons à des dilutions différentes pour chacun des trois kits ELISA (par exemple, le niveau au-dessus du seuil de positivité est un MR pur pour le test 1, dilué au 1/2 pour le test 2 et dilué au 1/4 pour le test 3). Il prépare aussi des EILAs avec des résultats attendus propres à chaque test pour un même panel de sérums. Avec des tests harmonisés, ces étalons

pourraient être similaires pour les trois kits. Les résultats attendus des EILAs seraient identiques, quel que soit le test choisi par le laboratoire participant. Le LNR pourrait également créer un matériel de référence de détectabilité commun pour les trois kits qui pourrait être utilisé pour évaluer la sensibilité analytique de chaque test dans chaque laboratoire et celle de nouveaux tests sérologiques non commercialisés à ce jour.

Il est donc souhaitable d'harmoniser les performances diagnostiques des différents tests ELISA commercialisés, pour qu'ils puissent être utilisés de façon interchangeable et contrôlés de la même façon par les utilisateurs des kits. L'harmonisation des tests sérologiques apporterait une meilleure compréhension des données produites en limitant les résultats discordants et en offrant une comparabilité au sein d'un réseau de laboratoires, une organisation clef pour tout programme national de surveillance.

#### IV.2.2 Leviers d'action pour une harmonisation

Les différences de sensibilités et de spécificités des trois tests peuvent être dues à plusieurs éléments liés notamment à la nature des réactifs entrants dans la composition des tests et au seuil de positivité fixé par le constructeur. Ainsi, les antigènes, sur lesquels se fixent les immunoglobulines (Ig) éventuellement présentes dans le sérum, sont produits à partir de souches de bactéries différentes. Le conjugué, utilisé pour révéler la présence d'IgG fixé sur les antigènes, est également différent pour un des trois tests. Ces différences de composition des tests peuvent avoir un impact sur l'affinité entre le conjugué, les IgG à détecter et les antigènes (en fonction de la proximité génétique de la souche ayant infecté le ruminant et celle utilisée pour produire les antigènes du test), avec des conséquences possibles sur les sensibilités et spécificités analytiques et diagnostiques de chaque test ELISA.

##### IV.2.2.1 Modification de la composition des kits

La modification de la composition du kit est couramment réalisée pour la mise en place de protocole de recherche spécifique, comme en modifiant l'antigène du kit pour détecter différentiellement les anticorps dirigés contre le LPS de phase 1 ou de phase 2 (Böttcher et al., 2011; Lucchese et al., 2015) ou en modifiant le conjugué du kit lors d'étude sur la séroprévalence chez d'autres espèces animales que les ruminants domestiques (Davoust et al., 2019; Desjardins et al., 2018).

Néanmoins, pour une utilisation courante, la modification de la composition du kit est une modification majeure qui n'est pas réalisable par chaque utilisateur, mais uniquement en amont de la commercialisation des tests ou pour des équipes de recherches qui visent des améliorations.

##### IV.2.2.2 Modification des seuils de positivité

Le choix du seuil de positivité a également un impact direct sur les sensibilités et spécificités diagnostiques. Si le seuil de positivité est élevé, le test est moins sensible et plus spécifique que si le seuil de positivité est bas. Notre étude a été réalisée en utilisant les seuils de positivité choisis par les fabricants. Ces seuils ont été choisis sans être harmonisés entre les différents kits. Deux des trois kits incluent également un seuil douteux et les individus dont les résultats sont entre les seuils de positivité et le seuil douteux ont un résultat non conclusif (Figure E-13).

Dans notre étude, les individus non conclusifs testés avec les tests 1 et 3 ont été considérés comme positifs. Si nous les avons considérés comme négatifs (ce qui revient à augmenter le seuil de positivité des tests 1 et 3), ces deux tests auraient probablement été moins sensibles et plus spécifiques. Or le test 1 est déjà le test le moins sensible et le plus spécifique chez les ovins et caprins. Le test 3 est lui le plus sensible et globalement le moins spécifique. L'augmentation du seuil de positivité du test 3 pourrait donc être une façon d'harmoniser les Se et Sp des trois tests ELISA. En revanche, cela entraînerait une harmonisation vers des sensibilités relativement basses par rapport à la Se actuelle du test 3. Une autre possibilité serait d'abaisser le seuil des deux autres tests. Cela permettrait d'harmoniser les tests vers des Se plus élevées, mais probablement moins spécifiques.

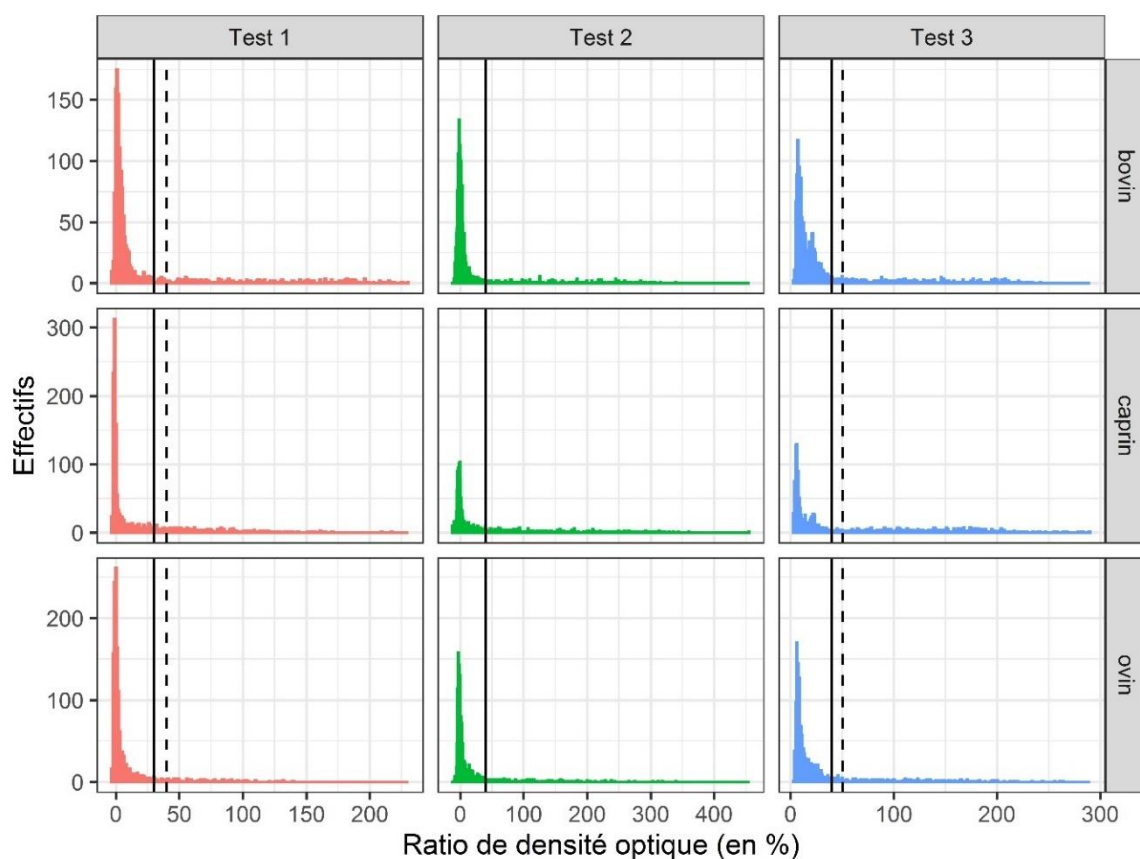


Figure E-13 : Histogrammes des résultats quantitatifs (en % de ratio de densité optique) obtenus avec chaque test dans chaque espèce sur les données de la sérothèque KitEval 4500.

La ligne verticale pleine correspond au seuil de positivité choisi par le fabricant. La ligne verticale pointillée au seuil douteux lorsqu'il est inclus par le fabricant. Les individus ayant un ratio de densité optique inférieure ou supérieure au seuil de positivité sont considérés respectivement comme négatifs et positifs. Ceux compris entre le seuil de positivité et le seuil douteux sont considérés comme douteux et comme positifs dans notre étude.

#### IV.2.3 Méthodologie pour choisir les seuils de positivité

##### IV.2.3.1 Évaluations des Se et Sp à d'autres seuils de positivité

L'harmonisation des tests par modification de leurs seuils de positivité est une piste intéressante. Cependant, elle nécessite de réaliser un choix entre des tests plus sensibles et moins spécifiques, et des tests moins sensibles et plus spécifiques.

Idéalement, ce choix devrait être fait après avoir évalué les sensibilités et spécificités de chaque test pour chacun des seuils de positivité possibles, ce qui revient à estimer les deux sous-distributions des valeurs des tests, respectivement chez les individus réellement séropositifs et réellement séronégatifs, et la courbe ROC de chaque test, exprimant la Se en fonction de  $1-Sp$  pour chaque seuil possible (Zweig and Campbell, 1993). La modélisation de la courbe ROC peut être réalisée à l'aide de méthodes paramétriques, semi-paramétriques et non paramétriques (Gonçalves et al., 2014), mais ces trois approches présentent chacune des limites pour être appliquées au diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii*. La distribution des données sérologiques de chacun des tests ELISA (Figure E-13) ne permet pas d'ajuster de loi de distribution connue pour les méthodes paramétriques et à ce jour les méthodes non paramétriques ou semi-paramétriques ne prennent pas en compte la dépendance conditionnelle entre les différents tests. Ainsi, aucune des méthodes, disponibles à notre connaissance, pour estimer les Se et Sp des trois tests ELISA pour l'ensemble des seuils de positivité possibles, ne semble applicable au contexte de notre étude sans la mise en place de développements méthodologiques conséquents.

Une possibilité à court terme pourrait être de réanalyser les données des trois tests ELISA avec un modèle à classes latentes comme réalisé dans la Partie 1, en modifiant les seuils de positivité des tests ELISA.

#### IV.2.3.2 Vers des tests à forte Se

Si l'objectif est de créer un matériel de référence de détectabilité et d'améliorer la sensibilité des tests alors il faudrait abaisser les seuils de positivité des tests 1 et 2. Cette voie possible d'harmonisation des tests, vers une meilleure Se, en ajustant les seuils des tests 1 et 2 pour que leurs résultats se rapprochent de ceux du test 3, est étayée par :

- l'écart plus important entre les Se du test 3 et celles des deux autres tests par rapport aux Sp (par exemple, il y a un écart de 47 % entre les Se des tests 1 et 3 chez les ovins alors que l'écart entre leur Sp n'est que de 1 %) ;
- le fait que le matériel de référence (MR) actuellement utilisé pour préparer le calibrant correspondant au niveau en dessous du seuil de positivité est plus concentré pour le test 1 (pur) et le test 2 (1/2) que pour le test 3 (1/4), ce qui montre que le test 3 devient positif pour des concentrations en anticorps plus faibles ;
- la position des seuils de positivité des tests 1 et 2, qui semble être plus haute que celle du test 3, par rapport au pic important du nombre d'individus à faible RDO sur les histogrammes de répartition des résultats quantitatifs des tests ELISA (Figure E-13), ce qui laisse supposer une possible baisse du seuil de positivité des tests 1 et 2 sans fortement diminuer leurs spécificités.

#### IV.2.3.3 Vers des tests à forte Sp

En revanche, si l'objectif est d'obtenir des tests plus spécifiques, ou ne détectant qu'une concentration plus élevée en anticorps, alors il vaudrait mieux augmenter le seuil de positivité du test 3, au risque de ne pas détecter une partie des individus faiblement séropositifs.

Cependant, en augmentant le seuil de positivité du test 3, ce test deviendra conditionnellement dépendant avec les tests 1 et 2 chez les individus séropositifs (car les trois tests ne détecteront pas les individus faiblement séropositifs). Le modèle à classes latentes risque alors de converger vers un statut latent correspondant à « la présence d'une forte concentration d'anticorps spécifiques de *C. burnetii* dans l'échantillon de sérum (ou séropositif fort) » et non pas au statut latent considéré dans la Partie 1, que nous supposons être « la présence d'anticorps spécifiques de *C. burnetii* dans l'échantillon de sérum (ou séropositif) ». Dans ce cas, les Se et Sp estimées par ce modèle ne correspondront pas au même statut latent que celui considéré dans notre étude et ne seront donc pas comparables avec celles estimées dans la Partie 1. Ce statut latent, correspondant à des individus présentant un résultat « séropositif fort » peut cependant être pertinent d'un point de vue clinique et épidémiologique.

**Les tests 1, 2 et 3 ne sont actuellement pas harmonisés et leurs résultats correspondent à des statuts mesurés différents (potentiellement « séropositif fort » pour les tests 1 et 2 et « séropositif » pour le test 3).**

**L'harmonisation des trois tests ELISA pourrait permettre de standardiser les procédures d'utilisation et de contrôle des tests et d'améliorer la cohérence entre les résultats fournis par les différents tests.**

**L'harmonisation des tests pourrait être réalisée en abaissant les seuils de positivité des tests 1 et 2 dans un objectif d'amélioration de la sensibilité des tests et de création d'un matériel de référence de détectabilité commun aux trois tests par le LNR.**

**Si l'objectif de la réalisation des tests est de détecter les individus « fort positifs » alors l'harmonisation des tests pourrait être réalisée en augmentant le seuil de séropositivité du test 3.**

### IV.3. Autres perspectives d'utilisation de la sérothèque KitEval 4500

Nos travaux n'auraient pas été possibles sans la collecte de près de 4 500 sérums de bovins, caprins et ovins dans environ 300 élevages, issus de dix départements français et sélectionnés pour correspondre à la diversité des types de production des élevages de ruminants domestiques en France. Cette sérothèque, analysée avec les trois tests ELISA et conservée au LNR, constitue un jeu de données unique et représentatif de la diversité des situations de dépistage sérologique des infections par *C. burnetii* chez les trois espèces de ruminants domestiques.

#### IV.3.1 Interprétation des valeurs quantitatives des tests ELISA

Les résultats déjà obtenus ont permis d'estimer les Se et Sp des trois tests ELISA commercialisés (au seuil de positivité préconisés par leur fabricant) dans un contexte de dépistage sérologique des infections par *C. burnetii* chez les trois espèces de ruminants. Comme décrit précédemment, l'analyse de ces données pourrait permettre d'évaluer les Se et Sp de ces trois tests à des seuils de positivité différents, voire sur l'ensemble des seuils de positivité possibles. En plus de permettre une harmonisation des tests en modifiant leur seuil de positivité, cela pourrait également permettre d'envisager une interprétation plus fine des résultats fournis par chaque test à partir de leurs résultats quantitatifs. En effet, étant donné que, généralement, la Sp augmente lorsque le seuil de positivité augmente, la probabilité de séropositivité d'un individu fortement positif est généralement plus forte que celle d'un individu faiblement séropositif. L'analyse des Se et Sp permettrait de vérifier l'importance de la valeur quantitative mesurée par le test et de quantifier, par exemple, l'excédent de probabilité de séropositivité associé aux individus fort positifs. Cependant, ce type d'analyse demande des développements méthodologiques conséquents.

#### IV.3.2 Création de matériels de références qualifiés de façon probabiliste

Cette sérothèque conservée au LNR pourrait également être utilisée pour créer des matériels de référence « qualifiés de façon probabiliste ». En effet, même si aucun des échantillons de sérum de la sérothèque n'est réellement qualifié, c'est-à-dire que le statut sérologique d'aucun des animaux prélevés n'est connu avec certitude, il est possible d'estimer, pour chaque sérum une probabilité de séropositivité en fonction des résultats obtenus avec l'ensemble des trois tests et des résultats des autres échantillons prélevés dans l'élevage. En fonction des objectifs, ces probabilités de séropositivité peuvent être utilisées pour créer des matériels de référence probablement positifs ou négatifs (avec un certain degré de probabilité) issus du terrain et dont les caractéristiques sont estimées à partir des résultats de trois tests et du contexte épidémiologique de l'élevage dans lequel il est prélevé. Ces échantillons seront moins caricaturaux que ceux habituellement utilisés qui sont, par exemple, négatifs ou positifs avec l'ensemble des trois tests ELISA ou issu de zones géographiques ou d'élevages indemnes d'infection par *C. burnetii*.

#### IV.3.3 Évaluation d'autres tests ELISA

Les échantillons de sérum conservés au LNR et les résultats déjà obtenus avec les trois tests actuellement commercialisés pourraient également être utilisés pour évaluer d'autres tests sérologiques des infections par *C. burnetii* qui sont en cours de développement. L'analyse d'un sous-panel d'échantillons de la sérothèque avec le nouveau test et l'implémentation d'un modèle à classes latentes modélisant les résultats croisés des trois tests sur l'ensemble de la sérothèques, et des 4 tests sur le sous-panel d'échantillons testés, permettrait d'estimer les Se et Sp du nouveau test ainsi que sa dépendance conditionnelle avec les trois autres. Des versions du modèle à classes latentes original, dont est inspiré celui de la Partie 1, modélisant les résultats croisés de quatre ou cinq tests en prenant en compte la dépendance conditionnelle entre l'ensemble des tests, sont d'ailleurs déjà décrites dans la publication de Wang et al. (Wang et al., 2017b). La stratégie d'utilisation optimale des échantillons de la sérothèque, notamment le nombre et le mode d'échantillonnage à partir de la sérothèque, devrait être évaluée par simulation en fonction de la précision souhaitée sur les estimations des Se et Sp du nouveau test.



**La sérothèque constituée dans le cadre du projet KitEval 4500 a permis d'estimer les Se et Sp des trois tests ELISA chez les trois espèces de ruminants dans un contexte de dépistage sérologique des infections par *C. burnetii*.**

**Les résultats obtenus permettent également d'envisager une évaluation des Se et Sp des tests ELISA pour tous les seuils de positivité possibles afin d'interpréter les résultats quantitatifs des tests.**

**La sérothèque pourra également être utilisée pour réaliser des matériels de référence qualifiée de façon probabiliste et pour évaluer les performances diagnostiques de nouveaux tests sérologiques des infections par *C. burnetii*.**

#### IV.4. Autres utilisations des modèles à classes latentes pour le diagnostic des infections par *C. burnetii*

La principale limite de notre étude et de la sérothèque est l'absence d'information sur le statut infectieux ou excréteur des individus prélevés et sur la présence éventuelle de signes cliniques (avortement, infertilité, etc.) imputables ou imputés à *C. burnetii* chez les individus ou dans les élevages prélevés. Les estimations réalisées dans le cadre de ces études ne sont donc pas extrapolables ni à un contexte abortif, ni pour détecter des individus infectés par *C. burnetii* ou excréteur de la bactérie.

##### IV.4.1 Dans un contexte abortif

Dans des élevages suspectés cliniquement de fièvre Q, la sensibilité pourrait être plus haute si la plupart des animaux souffrant d'infections aiguës présentent des titres élevés d'anticorps, ou, inversement, plus basse s'ils n'ont pas encore séroconverti. De même, les séroprévalences intra- et inter-élevages des élevages dans lesquels des avortements ont été imputés à *C. burnetii* sont potentiellement différentes de celles des élevages ne présentant pas ou peu de signes cliniques imputables à *C. burnetii*. Les sensibilités à l'échelle du troupeau, les valeurs prédictives et les probabilités de séropositivité, calculées à partir des Se et Sp et des séroprévalences, sont donc potentiellement différentes dans un contexte abortif.

Pour vérifier ces hypothèses, il serait intéressant de réaliser le même type d'étude comparative des trois tests sur des prélèvements réalisés dans le cadre du diagnostic différentiel des avortements. L'objectif serait de comparer les estimations des Se, Sp et des séroprévalences obtenues dans des élevages chez lesquels les avortements ont été imputés ou non à *C. burnetii*. Cependant, cela pose la question des performances diagnostiques de la méthode d'imputation des avortements à *C. burnetii* et la question de la représentativité des animaux prélevés et des élevages dans lesquels les avortements sont imputés ou non à *C. burnetii*.

À ce jour, les Se et Sp du dispositif OSCAR (Plateforme ESA, 2021) pour imputer ou non un avortement à *C. burnetii* ne sont pas connues. Ce protocole comporte également une catégorie de résultats non conclusifs (lorsqu'uniquement un des deux écouvillons vaginaux réalisés est positif en qPCR et que la séroprévalence apparente des infections par *C. burnetii* est inférieure à 50 %). Si les élevages ayant obtenu un résultat non conclusif sont exclus alors, les deux populations des élevages dans lesquels les avortements ont été imputés ou non à *C. burnetii* seront non représentatives de l'ensemble des élevages présentant des troubles abortifs. Enfin, les femelles sélectionnées dans le cadre du dépistage sérologique associé au dispositif OSCAR ne sont pas sélectionnées de façon aléatoire, mais préférentiellement parmi celles présentant des troubles de la reproduction depuis plus de 15 jours, elles sont donc probablement plus à risque d'être séropositives. Ces biais potentiels ne sont pas problématiques si l'objectif est d'évaluer les performances diagnostiques de la fièvre Q dans le cadre du dispositif Oscar, car dans ce cas, il vaut mieux que les individus prélevés soient sélectionnés selon le protocole appliqué sur le terrain. Une façon d'analyser les résultats du dispositif OSCAR en incluant le résultat non conclusif serait de considérer le volet sérologique et PCR du dispositif comme deux méthodes d'imputation des avortements à *C. burnetii*. Si ces deux méthodes sont appliquées

simultanément à un sous-ensemble représentatif des élevages à troubles abortifs, alors il sera possible d'évaluer les Se et Sp du volet sérologique ou PCR pour imputer un avortement à *C. burnetii* chez les ruminants domestiques. En revanche, pour estimer les séroprévalences intra-élevages des infections par *C. burnetii* dans les élevages présentant des troubles abortifs liés à *C. burnetii*, l'échantillonnage des animaux non représentatifs du troupeau peut impliquer des résultats biaisés.

#### IV.4.2 Pour diagnostiquer ou « dater » une infection

Parmi les autres perspectives d'utilisation des tests sérologiques se posent également les questions de l'évaluation du statut infectieux et de la datation de l'ancienneté de l'infection, notamment en fonction du profil d'anticorps présents (IgG/IgM, dirigés contre des antigènes de phase 1 ou de phase 2). Des études prometteuses, mais limitées, ont été publiées sur la sérologie spécifique des phases 1 et 2 (Böttcher et al., 2011; Lucchese et al., 2015; Sting et al., 2013). Leur reproduction à plus grande échelle permettrait de les renforcer. Néanmoins, à notre connaissance, aucune de ces études n'a évalué les performances diagnostiques des méthodes développées. Bien que chronophage et plus coûteux, l'analyse de paires de sérums prélevés à trois ou quatre semaines d'intervalles pour évaluer la cinétique des anticorps chez des individus séropositifs (augmentation ou diminution des titres), ou la présence de séroconversion chez les individus séronégatifs pourrait également permettre de mieux évaluer l'ancienneté de l'infection (Böttcher et al., 2011; Muleme et al., 2017). Là encore, à notre connaissance, les performances diagnostiques de cette approche pour détecter des infections récentes ou pour différencier des infections anciennes ou actives n'ont pas été évaluées. La mise en place de protocoles de recherche visant à estimer les Se et Sp de ce type d'approche pourrait également permettre d'estimer la dépendance conditionnelle entre des analyses sérologiques répétées sur même individu.

#### IV.4.3 Dans d'autres contextes en l'absence de test de références parfait

Plus généralement, l'utilisation des modèles à classes latentes est une solution adaptée pour évaluer les performances de plusieurs méthodes diagnostiques en l'absence de test de références parfait. Cette méthodologie peut également permettre d'évaluer des prévalences dans des espèces pour lesquels les tests diagnostiques n'ont pas été initialement développés, en particulier dans la faune sauvage où les méthodes diagnostiques utilisées ont en général été développées pour d'autres espèces et sont donc inconnues. Plutôt que de considérer uniquement les résultats des tests (Ruiz-Fons et al., 2008) ou de supposer que les Se et Sp du test utilisé sont similaires à celles pour lesquels ils sont initialement commercialisés (Fernández-Aguilar et al., 2016), la réalisation simultanée de plusieurs tests et leur analyse par un modèle à classes latentes permettraient d'obtenir des estimations des prévalences réelles tout en évaluant les Se et Sp des tests utilisés. Une étude, actuellement en cours, vise l'application du test 3 et d'une version modifiée du test 2 sur des sérums de chevreuils et sangliers prélevés en France afin de préciser les performances de ces tests chez ces espèces et d'en déduire la séroprévalence réelle.

Bien que les modèles à classes latentes soient parfois la seule solution pour estimer les performances diagnostiques, ils ne sont pas utilisables pour rechercher des seuils de positivité d'une méthode dont le seuil n'a pas été fixé préalablement. Leur utilisation présente également de nombreux risques de biais, car les Se et Sp qu'ils estiment correspondent à un statut latent estimé par le modèle dont il est difficile de vérifier la pertinence biologique. Un soin particulier doit être apporté à la vérification des hypothèses du modèle et particulièrement de l'hypothèse d'indépendance conditionnelle.

Cette hypothèse pourtant fondamentale des modèles à classes latentes est souvent reléguée au second plan, car elle est complexe à vérifier et que, souvent, les estimations obtenues à partir de modèles permettant de prendre en compte la dépendance conditionnelle entre les différents tests sont différentes de celle obtenue en son absence (Albert and Dodd, 2004; Menten et al., 2008). Dans notre étude, l'utilisation de distributions *a priori* spécifiques pour les paramètres de dépendance conditionnelle (distribution de Cauchy) et la vérification des performances du modèle par simulation nous ont permis d'obtenir des estimations robustes des paramètres du modèle. L'utilisation de ce type

de distribution devrait être évaluée dans d'autres contextes pour vérifier si elle permet d'obtenir des estimations fiables des dépendances conditionnelles, y compris lorsque les tests sont indépendants conditionnellement au statut visé par les tests. Enfin, étant donné l'absence de contrôle de l'utilisateur sur le statut latent modélisé par le modèle, la vérification des performances du modèle utilisé sur des jeux de données simulées de structure et de taille similaires à celui analysé devrait être généralisée pour limiter le risque de biais de ces méthodes.

## F. CONCLUSION GÉNÉRALE

---

À partir d'une base de données conséquente et représentative de la diversité des types de production des élevages de ruminants domestiques en France, notre première étude a permis d'évaluer les performances diagnostiques des trois tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par *C. burnetii* chez les bovins, caprins et ovins. Dans une seconde étude, nous avons estimé les séroprévalences intra- et inter-élevages, respectivement à l'échelle des départements et des élevages, en prenant en compte l'incertitude diagnostique du test ELISA utilisé. En combinant les estimations de ces deux études, nous avons pu proposer une méthode et un outil pour estimer les probabilités de séropositivité associées aux résultats d'un plan de dépistage réalisé dans un élevage de ruminants. L'outil est une application libre d'accès à disposition des laboratoires et vétérinaires, mais aussi des gestionnaires, pour interpréter les résultats obtenus en prenant en compte l'incertitude diagnostique des tests et le contexte épidémiologique.

Les résultats de nos travaux ont également permis de comparer les différents tests diagnostiques, d'évaluer les plans de dépistage sérologiques utilisés en France et d'en proposer de nouveaux, en fonction de leurs objectifs, des performances des tests et du risque de séropositivité estimé dans chaque type de production chez les ruminants domestiques.

Ces travaux ont été permis grâce à l'utilisation raisonnée des modèles à classes latentes en vérifiant leurs hypothèses d'application. Plusieurs développements méthodologiques de ces modèles ont été proposés, en particulier, l'utilisation de distribution *a priori* peu informative adaptée aux objectifs de la modélisation et la prise en compte de la structure hiérarchique de la population étudiée constituée de nombreux élevages. La robustesse des modèles utilisés sur les données analysées a été évaluée par simulation.

De nombreuses perspectives à ce travail visant à mieux évaluer les tests utilisables pour les infections par *C. burnetii* ont été évoquées. Ces travaux permettent de mieux connaître l'épidémiologie de cette infection en France, dans l'objectif d'appuyer le choix de mesures de lutte proportionnées au risque et la mise en place ou l'évaluation de programmes de surveillance de l'infection chez les ruminants domestiques.

## G. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Abeykoon, A.M.H., Clark, N.J., Magalhaes, R.J.S., Vincent, G.A., Stevenson, M.A., Firestone, S.M., Wiethoelter, A.K., 2021. *Coxiella burnetii* in the environment: A systematic review and critical appraisal of sampling methods. *Zoonoses and Public Health* 68, 165–181. <https://doi.org/10.1111/zph.12791>
- AFNOR, 2015. NF U47-600 Méthodes d'analyse en santé animale - PCR (réaction de polymérisation en chaîne) [WWW Document]. URL <https://www.boutique.afnor.org/norme/nf-u47-600-1/methodes-d-analyse-en-sante-animale-pcr-reaction-de-polymerisation-en-chaîne-partie-1-exigences-et-recommandations-pour-/article/814081/fa182884> (accessed 6.21.21).
- AFNOR, 2014. NF U47-311 - Protocole de contrôle des réactifs PCR (Réaction de polymérisation en chaîne) utilisés dans le domaine de la santé animale [WWW Document]. URL <https://www.boutique.afnor.org/norme/nf-u47-311/methodes-d-analyse-en-sante-animale-protocole-de-contrôle-des-reactifs-pcr-reaction-de-polymerisation-en-chaîne-utilises-dan/article/814449/fa182530> (accessed 6.21.21).
- AFNOR, 2013. XP U47-310 - Méthodes d'analyse en santé animale - Contrôle de réactifs biologiques pour les techniques immunologiques utilisées dans le domaine de la santé animale [WWW Document]. URL <https://www.boutique.afnor.org/norme/xp-u47-310/methodes-d-analyse-en-sante-animale-contrôle-de-reactifs-biologiques-pour-les-techniques-immunologiques-utilisees-dans-le-doma/article/797458/fa175893> (accessed 6.21.21).
- AFSSA, 2004. Fièvre Q : Rapport sur l'évaluation des risques pour la santé publique et des outils de gestion des risques en élevage de ruminants.
- Agerholm, J.S., 2013. *Coxiella burnetii* associated reproductive disorders in domestic animals-a critical review. *Acta Veterinaria Scandinavica* 55, 13. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-13>
- Albert, P.S., Dodd, L.E., 2004. A Cautionary Note on the Robustness of Latent Class Models for Estimating Diagnostic Error without a Gold Standard. *Biometrics* 60, 427–435. <https://doi.org/10.1111/j.0006-341X.2004.00187.x>
- Albert, P.S., McShane, L.M., Shih, J.H., 2001. Latent Class Modeling Approaches for Assessing Diagnostic Error without a Gold Standard: With Applications to p53 Immunohistochemical Assays in Bladder Tumors. *Biometrics* 57, 610–619. <https://doi.org/10.1111/j.0006-341X.2001.00610.x>
- Alonzo, T.A., Pepe, M.S., 1999. Using a combination of reference tests to assess the accuracy of a new diagnostic test. *Statistics in Medicine* 18, 2987–3003. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0258\(19991130\)18:22<2987::AID-SIM205>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0258(19991130)18:22<2987::AID-SIM205>3.0.CO;2-B)
- Álvarez-Alonso, R., Basterretxea, M., Barandika, J.F., Hurtado, A., Idiazabal, J., Jado, I., Beraza, X., Montes, M., Liendo, P., García-Pérez, A.L., 2018. A Q Fever Outbreak with a High Rate of Abortions at a Dairy Goat Farm: *Coxiella burnetii* Shedding, Environmental Contamination, and Viability. *Appl. Environ. Microbiol.* 84, e01650-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.01650-18>
- Amano, K., Williams, J.C., 1984. Chemical and immunological characterization of lipopolysaccharides from phase I and phase II *Coxiella burnetii*. *J Bacteriol* 160, 994–1002.
- Ammerdorffer, A., Roest, H.-I.J., Dinkla, A., Post, J., Schoffelen, T., Deuren, M. van, Sprong, T., Rebel, J.M., 2014. The Effect of *C. burnetii* Infection on the Cytokine Response of PBMCs from Pregnant Goats. *PLOS ONE* 9, e109283. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109283>
- Anastácio, S., Tavares, N., Carolino, N., Sidi-Boumedine, K., da Silva, G.J., 2013. Serological evidence of exposure to *Coxiella burnetii* in sheep and goats in central Portugal. *Veterinary Microbiology* 167, 500–505. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.08.004>

- Anderson, A., Bijlmer, H., Fournier, P.-E., Graves, S., Hartzell, J., Kersh, G.J., Limonard, G., Marrie, T.J., Massung, R.F., McQuiston, J.H., Nicholson, W.L., Paddock, C.D., Sexton, D.J., 2013. Diagnosis and Management of Q Fever — United States, 2013: Recommendations from CDC and the Q Fever Working Group. *Morbidity and Mortality Weekly Report: Recommendations and Reports* 62, 1–29.
- Andoh, M., Zhang, G., Russell-Lodrigue, K.E., Shive, H.R., Weeks, B.R., Samuel, J.E., 2007. T Cells Are Essential for Bacterial Clearance, and Gamma Interferon, Tumor Necrosis Factor Alpha, and B Cells Are Crucial for Disease Development in *Coxiella burnetii* Infection in Mice. *Infect Immun* 75, 3245–3255. <https://doi.org/10.1128/IAI.01767-06>
- Angelidou, E., Kostoulas, P., Leontides, L., 2014. Flock-level factors associated with the risk of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) infection in Greek dairy goat flocks. *Preventive Veterinary Medicine* 117, 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.09.002>
- Anses, 2021. Index des RCP [WWW Document]. URL <http://www.ircp.anmv.anses.fr/index.aspx?letter=C> (accessed 6.20.21).
- Anses, 2018. Guide de validation des méthodes d'analyses des laboratoires de référence | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [WWW Document]. URL <https://www.anses.fr/fr/content/guide-de-validation-des-m%C3%A9thodes-danalyses-des-laboratoires-de-r%C3%A9f%C3%A9rence> (accessed 6.23.21).
- Arricau-Bouvery, N., Rodolakis, A., 2005. Is Q Fever an emerging or re-emerging zoonosis? *Vet. Res.* 36, 327–349. <https://doi.org/10.1051/vetres:2005010>
- Arricau-Bouvery, N., Souriau, A., Bodier, C., Dufour, P., Rousset, E., Rodolakis, A., 2005. Effect of vaccination with phase I and phase II *Coxiella burnetii* vaccines in pregnant goats. *Vaccine* 23, 4392–4402. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.04.010>
- Arricau-Bouvery, N., Souriau, A., Lechopier, P., Rodolakis, A., 2003. Experimental *Coxiella burnetii* infection in pregnant goats: excretion routes. *Vet. Res.* 34, 423–433. <https://doi.org/10.1051/vetres:2003017>
- Asselineau, J., Paye, A., Bessède, E., Perez, P., Proust-Lima, C., 2018. Different latent class models were used and evaluated for assessing the accuracy of campylobacter diagnostic tests: overcoming imperfect reference standards? *Epidemiology & Infection* 146, 1556–1564. <https://doi.org/10.1017/S0950268818001723>
- Astobiza, I., Barandika, J.F., Hurtado, A., Juste, R.A., García-Pérez, A.L., 2010. Kinetics of *Coxiella burnetii* excretion in a commercial dairy sheep flock after treatment with oxytetracycline. *The Veterinary Journal* 184, 172–175. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.01.017>
- Astobiza, I., Barandika, J.F., Juste, R.A., Hurtado, A., García-Pérez, A.L., 2013. Evaluation of the efficacy of oxytetracycline treatment followed by vaccination against Q fever in a highly infected sheep flock. *The Veterinary Journal* 196, 81–85. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.07.028>
- Astobiza, I., Barandika, J.F., Ruiz-Fons, F., Hurtado, A., Povedano, I., Juste, R.A., García-Pérez, A.L., 2011. *Coxiella burnetii* shedding and environmental contamination at lambing in two highly naturally-infected dairy sheep flocks after vaccination. *Research in Veterinary Science* 91, e58–e63. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.11.014>
- Astobiza, I., Barandika, J.F., Ruiz-Fons, F., Hurtado, A., Povedano, I., Juste, R.A., García-Pérez, A.L., 2011. Four-Year Evaluation of the Effect of Vaccination against *Coxiella burnetii* on Reduction of Animal Infection and Environmental Contamination in a Naturally Infected Dairy Sheep Flock. *Applied and Environmental Microbiology* 77, 7405–7407. <https://doi.org/10.1128/AEM.05530-11>
- Audigé, L., Beckett, S., 1999. A quantitative assessment of the validity of animal-health surveys using

- stochastic modelling. *Preventive Veterinary Medicine* 38, 259–276. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(98\)00135-4](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(98)00135-4)
- Audigé, L., Doherr, M.G., Hauser, R., Salman, M.D., 2001. Stochastic modelling as a tool for planning animal-health surveys and interpreting screening-test results. *Preventive Veterinary Medicine* 49, 1–17. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(01\)00182-9](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(01)00182-9)
- Barlow, J., Rauch, B., Welcome, F., Kim, S.G., Dubovi, E., Schukken, Y., 2008. Association between *Coxiella burnetii* shedding in milk and subclinical mastitis in dairy cattle. *Vet. Res.* 39, 1. <https://doi.org/10.1051/vetres:2007060>
- Barlozzari, G., Sala, M., Iacoponi, F., Volpi, C., Polinori, N., Rombolà, P., Vairo, F., Macrì, G., Scarpulla, M., 2020. Cross-sectional serosurvey of *Coxiella burnetii* in healthy cattle and sheep from extensive grazing system in central Italy. *Epidemiology & Infection* 148. <https://doi.org/10.1017/S0950268819002115>
- Bauer, B.U., Knittler, M.R., Prüfer, T.L., Wolf, A., Matthiesen, S., Runge, M., Ganter, M., 2021. Humoral immune response to Q fever vaccination of three sheep flocks naturally pre-infected with *Coxiella burnetii*. *Vaccine* 39, 1499–1507. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.01.062>
- Baumgärtner, W., Dettinger, H., Schmeer, N., 1993. Spread and distribution of *Coxiella burnetii* in C57BL/6J (H-2b) and Balb/cJ (H-2d) mice after intraperitoneal infection. *Journal of Comparative Pathology* 108, 165–184. [https://doi.org/10.1016/S0021-9975\(08\)80219-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9975(08)80219-8)
- Bernadou, A., Lambert, Y., Gache, K., 2019. Cas groupés de fièvre Q, CH Niort, avril-mai 2017. Santé publique France, Saint-Maurice:
- Berri, M., Crochet, D., Santiago, S., Rodolakis, A., 2005. Spread of *Coxiella burnetii* infection in a flock of sheep after an episode of Q fever. *Veterinary Record* 157, 737–740. <https://doi.org/10.1136/vr.157.23.737>
- Berri, M., Rousset, E., Champion, J.L., Russo, P., Rodolakis, A., 2007. Goats may experience reproductive failures and shed *Coxiella burnetii* at two successive parturitions after a Q fever infection. *Research in Veterinary Science* 83, 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2006.11.001>
- Berri, M., Souriau, A., Crosby, M., Crochet, D., Lechopier, P., Rodolakis, A., 2001. Relationships between the shedding of *Coxiella burnetii*, clinical signs and serological responses of 34 sheep. *Vet Rec* 148, 502–505. <https://doi.org/10.1136/vr.148.16.502>
- Boarbi, S., Mori, M., Rousset, E., Sidi-Boumedine, K., Van Esbroeck, M., Fretin, D., 2014. Prevalence and molecular typing of *Coxiella burnetii* in bulk tank milk in Belgian dairy goats, 2009–2013. *Veterinary Microbiology* 170, 117–124. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.01.025>
- Boden, K., Wolf, K., Hermann, B., Frangoulidis, D., 2015. First isolation of *Coxiella burnetii* from clinical material by cell-free medium (ACCM2). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 34, 1017–1022. <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2321-1>
- Bontje, D.M., Backer, J.A., Hogerwerf, L., Roest, H.I.J., van Roermund, H.J.W., 2016. Analysis of Q fever in Dutch dairy goat herds and assessment of control measures by means of a transmission model. *Preventive Veterinary Medicine* 123, 71–89. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.11.004>
- Böttcher, J., Vossen, A., Janowitz, B., Alex, M., Gangl, A., Randt, A., Meier, N., 2011. Insights into the dynamics of endemic *Coxiella burnetii* infection in cattle by application of phase-specific ELISAs in an infected dairy herd. *Veterinary Microbiology* 151, 291–300. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.03.007>
- Boulogne, O., Der Sahakian, G., Pascal, L., Armengaud, A., Fournier, P.-E., Leperff, H., Lafont, E., Ragozin, N., Van Cauteren, D., Malfait, P., 2016. Épidémie de fièvre Q liée à une ferme d'élevage, Vaucluse – Drôme, mai–juin 2014. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, Ville

- Congrès International d'Épidémiologie "Épidémiologie et santé publique" Rennes, 7–9 septembre 2016 64, S207. <https://doi.org/10.1016/j.respe.2016.06.099>
- Branscum, A.J., Gardner, I.A., Johnson, W.O., 2005. Estimation of diagnostic-test sensitivity and specificity through Bayesian modeling. *Preventive Veterinary Medicine* 68, 145–163. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.12.005>
- Branscum, A.J., Gardner, I.A., Johnson, W.O., 2004. Bayesian modeling of animal- and herd-level prevalences. *Preventive Veterinary Medicine* 66, 101–112. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.09.009>
- Bronner, A., Hénaux, V., Vergne, T., Vinard, J.-L., Morignat, E., Hendrikx, P., Calavas, D., Gay, E., 2013. Assessing the Mandatory Bovine Abortion Notification System in France Using Unilist Capture-Recapture Approach. *PLOS ONE* 8, e63246. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063246>
- Brooke, R.J., Mutters, N.T., Péter, O., Kretzschmar, M.E.E., Teunis, P.F.M., 2015. Exposure to low doses of *Coxiella burnetii* caused high illness attack rates: Insights from combining human challenge and outbreak data. *Epidemics* 11, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2014.12.004>
- Brooks, S.P., Gelman, A., 1998. General methods for monitoring convergence of iterative simulations. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 7, 434–455. <https://doi.org/10.1080/10618600.1998.10474787>
- Brooks-Pollock, E., Keeling, M., 2009. Herd size and bovine tuberculosis persistence in cattle farms in Great Britain. *Preventive Veterinary Medicine, Special section: Schwabe Symposium 2008* 92, 360–365. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.08.022>
- Buijs, S.B., Bleeker-Rovers, C.P., van Roeden, S.E., Kampschreur, L.M., Hoepelman, A.I.M., Wever, P.C., Oosterheert, J.J., 2021. Still new chronic Q fever cases diagnosed eight years after a large Q fever outbreak. *Clinical Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab476>
- Cameron, A.R., 2012. The consequences of risk-based surveillance: Developing output-based standards for surveillance to demonstrate freedom from disease. *Preventive Veterinary Medicine, Special Section: Calvin W. Schwabe Symposium 2010* 105, 280–286. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.01.009>
- Canevari, J.T., Firestone, S.M., Vincent, G., Campbell, A., Tan, T., Muleme, M., Cameron, A.W.N., Stevenson, M.A., 2018. The prevalence of *Coxiella burnetii* shedding in dairy goats at the time of parturition in an endemically infected enterprise and associated milk yield losses. *BMC Vet Res* 14, 353. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1667-x>
- Cannon, R.M., 2001. Sense and sensitivity — designing surveys based on an imperfect test. *Preventive Veterinary Medicine* 49, 141–163. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(01\)00184-2](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(01)00184-2)
- Carrié, P., Barry, S., Rousset, E., de Crémoux, R., Sala, C., Calavas, D., Perrin, J.-B., Bronner, A., Gasqui, P., Gilot-Fromont, E., Becker, C.A.M., Gache, K., Jourdain, E., 2019. Swab cloths as a tool for revealing environmental contamination by Q fever in ruminant farms. *Transboundary and Emerging Diseases* 66, 1202–1209. <https://doi.org/10.1111/tbed.13137>
- CDC, 2019. *Epidemiology and Statistics | Q Fever | CDC [WWW Document]*. URL <https://www.cdc.gov/qfever/stats/index.html> (accessed 5.8.20).
- Chang, W., Cheng, J., Allaire, J., Xie, Y., McPherson, J., 2017. Shiny: web application framework for R. R package version 1, 2017.
- Chmielewski, T., Tylewska-Wierzbanowska, S., 2013. Q fever outbreaks in Poland during 2005–2011. *Med Sci Monit* 19, 1073–1079. <https://doi.org/10.12659/MSM.889947>
- Christensen, J., Gardner, I.A., 2000. Herd-level interpretation of test results for epidemiologic studies of animal diseases. *Preventive Veterinary Medicine* 45, 83–106. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(00\)00118-5](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(00)00118-5)



- Clark, M.F., Lister, R.M., Bar-Joseph, M., 1986. ELISA techniques, in: *Methods in Enzymology, Plant Molecular Biology*. Academic Press, pp. 742–766. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(86\)18114-6](https://doi.org/10.1016/0076-6879(86)18114-6)
- CNR Coxiella, 2019. Rapport annuel d'activité du centre de national de référence des Rickettsies, Coxiella et Bartonella - Année d'exercice 2018. Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection.
- Coleman, S.A., Fischer, E.R., Cockrell, D.C., Voth, D.E., Howe, D., Mead, D.J., Samuel, J.E., Heinzen, R.A., 2007. Proteome and Antigen Profiling of *Coxiella burnetii* Developmental Forms. *Infection and Immunity* 75, 290–298. <https://doi.org/10.1128/IAI.00883-06>
- Coleman, S.A., Fischer, E.R., Howe, D., Mead, D.J., Heinzen, R.A., 2004. Temporal Analysis of *Coxiella burnetii* Morphological Differentiation. *J Bacteriol* 186, 7344–7352. <https://doi.org/10.1128/JB.186.21.7344-7352.2004>
- Collins, J., Albert, P.S., 2016. Estimating diagnostic accuracy without a gold standard: A continued controversy. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* 26, 1078–1082. <https://doi.org/10.1080/10543406.2016.1226334>
- Collins, J., Huynh, M., 2014. Estimation of diagnostic test accuracy without full verification: a review of latent class methods. *Statistics in Medicine* 33, 4141–4169. <https://doi.org/10.1002/sim.6218>
- Courcoul, A., Hogerwerf, L., Klinkenberg, D., Nielen, M., Vergu, E., Beaudeau, F., 2011. Modelling effectiveness of herd level vaccination against Q fever in dairy cattle. *Veterinary Research* 42, 68. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-68>
- Davoust, B., Marié, J.-L., Tahir, D., Dahmani, M., Dufour, P., Thiéry, R., Rousset, E., 2019. Seroprevalence of *Coxiella burnetii* infection in dogs from Southeastern France. *International Journal of Infectious Diseases* 79, 122. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.11.300>
- De Biase, D., Costagliola, A., Del Piero, F., Di Palo, R., Coronati, D., Galiero, G., Uberti, B.D., Lucibelli, M.G., Fabbiano, A., Davoust, B., Raoult, D., Paciello, O., 2018. *Coxiella burnetii* in Infertile Dairy Cattle With Chronic Endometritis. *Vet Pathol* 55, 539–542. <https://doi.org/10.1177/0300985818760376>
- de Bruin, A., van Alphen, P.T.W., van der Plaats, R.Q.J., de Heer, L.N.D., Reusken, C.B.E.M., van Rotterdam, B.J., Janse, I., 2012. Molecular typing of *Coxiella burnetii* from animal and environmental matrices during Q fever epidemics in the Netherlands. *BMC Vet Res* 8, 165. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-165>
- de Cremoux, R., Gache, K., Rousset, E., Sala, C., Hosteing, S., Nicollet, P., Lars, F., Guatteo, R., Dion, F., Calavas, D., Bronner, A., Perrin, J.-B., Touratier, A., 2018. A pilot program for clinical Q fever surveillance as a first step for a standardized differential diagnosis of abortions: Organizational lessons applied to goats farms. *Small Ruminant Research, Contributions of caprine agrosylvopastoral production systems to society and environment* 163, 60–64. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.09.008>
- de Cremoux, R., Rousset, E., Touratier, A., Audusseau, G., Nicollet, P., Ribaud, D., David, V., Le Pape, M., 2012. *Coxiella burnetii* vaginal shedding and antibody responses in dairy goat herds in a context of clinical Q fever outbreaks. *FEMS immunology and medical microbiology* 64, 120–122. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00893.x>
- De Cremoux, R., Rousset, E., Touratier, A., Audusseau, G., Nicollet, P., Ribaud, D., David, V., Le Pape, M., 2012. Assessment of vaccination by a phase I *Coxiella burnetii* -inactivated vaccine in goat herds in clinical Q fever situation: 1. *FEMS Immunol Med Microbiol* 64, 104–106. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00892.x>
- Delignette-Muller, M.L., Dutang, C., 2015. fitdistrplus: An R package for fitting distributions. *Journal of statistical software* 64, 1–34.

- Dendukuri, N., Hadgu, A., Wang, L., 2009. Modeling conditional dependence between diagnostic tests: A multiple latent variable model. *Statistics in Medicine* 28, 441–461. <https://doi.org/10.1002/sim.3470>
- Dendukuri, N., Joseph, L., 2001. Bayesian approaches to modeling the conditional dependence between multiple diagnostic tests. *Biometrics* 57, 158–167.
- Desjardins, I., Joulié, A., Pradier, S., Lecollinet, S., Beck, C., Vial, L., Dufour, P., Gasqui, P., Legrand, L., Edouard, S., Sidi-Boumedine, K., Rousset, E., Jourdain, E., Leblond, A., 2018. Seroprevalence of horses to *Coxiella burnetii* in an Q fever endemic area. *Veterinary Microbiology* 215, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.11.012>
- DGAL, 2010. NOTE DE SERVICE - DGAL/SDSPA/SDSSA/N2010-8262.
- Discontools, 2018. Q fever [WWW Document]. URL <https://www.discontools.eu/database/57-q-fever.html> (accessed 7.17.21).
- Djebib, A., Czaplicki, G., Grégoire, F., Kirschvink, N., Saegerman, C., Dal Pozzo, F., 2018. Exploratory investigation of Q fever in apparently healthy meat sheep flocks in Belgium. *Transbound Emerg Dis* 65, 1117–1121. <https://doi.org/10.1111/tbed.12850>
- Druckmann, R., Druckmann, M.-A., 2005. Progesterone and the immunology of pregnancy. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, European Progestin Club Scientific Meeting: Progesterone and Progestins in Human Pregnancy and Breast Cancer* 97, 389–396. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2005.08.010>
- Dubuc-Forfait, C., Rousset, E., Champion, J.L., Marois, M., Dufour, P., Zerhaoui, E., Thiéry, R., Sabatier, P., 2009. Démarche d'appréciation du risque d'excrétion de *Coxiella burnetii* dans les troupeaux caprins laitiers dans le sud-est de la France. *Epidémiologie et santé animale* 55, 117–136.
- Dufour, B., Beaudeau, F., Rodolakis, A., Thiéry, R., Bendali, F., Buret, Y., De Cremoux, R., Dion, F., Joly, A., Touratier, A., Simon, J., Baurier, F., Nicolet, P., Languille, J., Dufour, A., Angor, M., 2007. Proposition de plan de maîtrise de la fièvre Q dans les élevages cliniquement atteints. Rapport final du groupe de travail ACERSA. ACERSA.
- Duncan, C., Savage, K., Williams, M., Dickerson, B., Kondas, A.V., Fitzpatrick, K.A., Guerrero, J.L., Spraker, T., Kersh, G.J., 2013. Multiple strains of *Coxiella burnetii* are present in the environment of St. Paul Island, Alaska. *Transbound Emerg Dis* 60, 345–350. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2012.01353.x>
- Dupont, H.T., Thirion, X., Raoult, D., 1994. Q fever serology: cutoff determination for microimmunofluorescence. *Clin Diagn Lab Immunol* 1, 189–196.
- Dupuis, G., Petite, J., Péter, O., Vouilloz, M., 1987. An Important Outbreak of Human Q Fever in a Swiss Alpine Valley. *International Journal of Epidemiology* 16, 282–287. <https://doi.org/10.1093/ije/16.2.282>
- Duron, O., Sidi-Boumedine, K., Rousset, E., Moutailler, S., Jourdain, E., 2015. The Importance of Ticks in Q Fever Transmission: What Has (and Has Not) Been Demonstrated? *Trends in Parasitology* 31, 536–552. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.06.014>
- ECDC, 2021. Q fever - Annual Epidemiological Report for 2019 [WWW Document]. European Centre for Disease Prevention and Control. URL <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/q-fever-annual-epidemiological-report-2019> (accessed 6.12.21).
- ECDC, 2019. Q fever - Annual Epidemiological Report for 2018 [WWW Document]. European Centre for Disease Prevention and Control. URL <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/q-fever-annual-epidemiological-report-2018> (accessed 2.5.20).
- Edouard, S., Million, M., Casalta, J.-P., Collart, F., Amphoux, B., Raoult, D., 2017. Low antibodies titer

- and serological cross-reaction between *Coxiella burnetii* and *Legionella pneumophila* challenge the diagnosis of mediastinitis, an emerging Q fever clinical entity. *Infection* 45, 911–915. <https://doi.org/10.1007/s15010-017-1048-6>
- EFSA, 2021. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFSA Journal* 19, e06406. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6406>
- EFSA, 2019. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal* 17, e05926. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5926>
- EFSA, 2010. Scientific Opinion on Q fever. *EFSA Journal* 8, 1595. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1595>
- EFSA, ECDC, 2021. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFS2* 19. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6406>
- Egan, R.J., 2019. Re: “*Coxiella burnetii* in Infertile Dairy Cattle With Chronic Endometritis.” *Vet Pathol* 56, 494–494. <https://doi.org/10.1177/0300985818819231>
- Eldin, C., Mélenotte, C., Mediannikov, O., Ghigo, E., Million, M., Edouard, S., Mege, J.-L., Maurin, M., Raoult, D., 2017. From Q Fever to *Coxiella burnetii* Infection: a Paradigm Change. *Clin Microbiol Rev* 30, 115–190. <https://doi.org/10.1128/CMR.00045-16>
- Emery, M.P., Ostlund, E.N., Ait Ichou, M., Ballin, J.D., McFarling, D., McGonigle, L., 2014. *Coxiella burnetii* serology assays in goat abortion storm. *J VET Diagn Invest* 26, 141–145. <https://doi.org/10.1177/1040638713517233>
- Emery, M.P., Ostlund, E.N., Schmitt, B.J., 2012. Comparison of Q fever serology methods in cattle, goats, and sheep. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 24, 379–382. <https://doi.org/10.1177/1040638711434943>
- Engel, B., Backer, J., Buist, W., 2010. Evaluation of the Accuracy of Diagnostic Tests From Repeated Measurements Without a Gold Standard. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 15, 83–100.
- Engel, B., Swildens, B., Stegeman, A., Buist, W., De Jong, M., 2006. Estimation of sensitivity and specificity of three conditionally dependent diagnostic tests in the absence of a gold standard. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 11, 360. <https://doi.org/10.1198/108571106X153534>
- Epelboin, L., Nacher, M., Mahamat, A., Pommier de Santi, V., Berlioz-Arthaud, A., Eldin, C., Abboud, P., Briolant, S., Mosnier, E., Mendonça Gomes, M. do S., Vreden, S.G., Pierre-Demar, M., Lacerda, M., Raoult, D., Sampaio de Lemos, E.R., Djossou, F., 2016. Q Fever in French Guiana: Tip of the Iceberg or Epidemiological Exception? *PLoS Negl Trop Dis* 10, e0004598. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004598>
- Evans, C.M., Medley, G.F., Creasey, S.J., Green, L.E., 2010. A stochastic mathematical model of the within-herd transmission dynamics of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): Fade-out and persistence. *Preventive Veterinary Medicine, SVEPM* 2009 93, 248–257. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.11.001>
- Fernandes, L.G., Denwood, M.J., de Sousa Américo Batista Santos, C., Alves, C.J., Pituco, E.M., de Campos Nogueira Romaldini, A.H., De Stefano, E., Nielsen, S.S., de Azevedo, S.S., 2019. Bayesian estimation of herd-level prevalence and risk factors associated with BoHV-1 infection in cattle herds in the State of Paraíba, Brazil. *Preventive Veterinary Medicine* 169, 104705. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104705>
- Fernández-Aguilar, X., Cabezón, Ó., Colom-Cadena, A., Lavín, S., López-Olvera, J.R., 2016. Serological survey of *Coxiella burnetii* at the wildlife–livestock interface in the Eastern Pyrenees, Spain. *Acta Veterinaria Scandinavica* 58, 26. <https://doi.org/10.1186/s13028-016-0209-4>

- Flor, M., Weiß, M., Selhorst, T., Müller-Graf, C., Greiner, M., 2020. Comparison of Bayesian and frequentist methods for prevalence estimation under misclassification. *BMC Public Health* 20, 1135. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-09177-4>
- Frankel, D., Richet, H., Renvoisé, A., Raoult, D., 2011. Q Fever in France, 1985–2009. *Emerg Infect Dis* 17, 350–356. <https://doi.org/10.3201/eid1703.100882>
- Gache, K., Rousset, E., Perrin, J.B., DE Cremoux, R., Hosteing, S., Jourdain, E., Guatteo, R., Nicollet, P., Touratier, A., Calavas, D., Sala, C., 2017. Estimation of the frequency of Q fever in sheep, goat and cattle herds in France: results of a 3-year study of the seroprevalence of Q fever and excretion level of *Coxiella burnetii* in abortive episodes. *Epidemiology and Infection* 145, 3131–3142. <https://doi.org/10.1017/S0950268817002308>
- Galluzzo, P., Villari, S., Geraci, F., Sciacca, C., Grippi, F., Currò, V., Chiarenza, G., 2019. Seroprevalence of *Coxiella burnetii* in dairy cattle from Sicily. *Vet. Res.* 55, 247–252. <https://doi.org/10.12834/VetIt.1391.7602.2>
- García-Ispuerto, I., López-Helguera, I., Tutusaus, J., Serrano, B., Monleón, E., Badiola, J.J., López-Gatius, F., 2013. *Coxiella burnetii* Shedding During the Peripartum Period and Subsequent Fertility in Dairy Cattle. *Reproduction in Domestic Animals* 48, 441–446. <https://doi.org/10.1111/rda.12095>
- Gautam, R., Wagener, A., Nerette, P., Bruneau, N., 2019. The inappropriate use of formulae and references and the possible domino effect of spurious results. *Preventive Veterinary Medicine* 170, 104728. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104728>
- Gelman, A., 2006. Prior distributions for variance parameters in hierarchical models (comment on article by Browne and Draper). *Bayesian Anal.* 1, 515–534. <https://doi.org/10.1214/06-BA117A>
- Gelman, A., Jakulin, A., Pittau, M.G., Su, Y.-S., 2008. A weakly informative default prior distribution for logistic and other regression models. *Ann. Appl. Stat.* 2, 1360–1383. <https://doi.org/10.1214/08-AOAS191>
- Gonçalves, L., Subtil, A., Oliveira, M.R., Bermudez, P. d., 2014. ROC curve estimation: An overview. *REVSTAT—Statistical Journal* 12, 1–20.
- Greiner, M., Gardner, I.A., 2000a. Epidemiologic issues in the validation of veterinary diagnostic tests. *Preventive Veterinary Medicine* 45, 3–22. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(00\)00114-8](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(00)00114-8)
- Greiner, M., Gardner, I.A., 2000b. Application of diagnostic tests in veterinary epidemiologic studies. *Preventive Veterinary Medicine* 45, 43–59. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(00\)00116-1](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(00)00116-1)
- Grenier, B., 1993. *Décision médicale: analyse et stratégie de la décision dans la pratique médicale*. Masson, Paris.
- Guatteo, R., Beaudeau, F., Berri, M., Rodolakis, A., Joly, A., Seegers, H., 2006. Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. *Vet. Res.* 37, 827–833. <https://doi.org/10.1051/vetres:2006038>
- Guatteo, R., Beaudeau, F., Joly, A., Seegers, H., 2007. Assessing the Within-herd Prevalence of *Coxiella burnetii* Milk-shedder Cows using a Real-time PCR Applied to Bulk Tank Milk. *Zoonoses and Public Health* 54, 191–194. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.01043.x>
- Guatteo, R., Beaudeau, F., Joly, A., Seegers, H., 2007. *Coxiella burnetii* shedding by dairy cows. *Vet. Res.* 38, 849–860. <https://doi.org/10.1051/vetres:2007038>
- Guatteo, R., Seegers, H., Joly, A., Beaudeau, F., 2008. Prevention of *Coxiella burnetii* shedding in infected dairy herds using a phase I *C. burnetii* inactivated vaccine. *Vaccine* 26, 4320–4328. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.06.023>
- Guatteo, R., Seegers, H., Taurel, A.-F., Joly, A., Beaudeau, F., 2011. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants: A critical review. *Veterinary Microbiology* 149, 1–16.

<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.10.007>

- Guétin-Poirier, V., Rivière, J., Dufour, B., 2020. Cost-effectiveness of two different protocols for animal tracing investigations of bovine tuberculosis outbreaks in France. *Preventive Veterinary Medicine* 175, 104868. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104868>
- Gustafson, P., 2005. On Model Expansion, Model Contraction, Identifiability and Prior Information: Two Illustrative Scenarios Involving Mismeasured Variables. *Statist. Sci.* 20, 111–140. <https://doi.org/10.1214/088342305000000098>
- Hanson, T., Johnson, W.O., Gardner, I.A., 2003. Hierarchical models for estimating herd prevalence and test accuracy in the absence of a gold standard. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 8, 223. <https://doi.org/10.1198/1085711031526>
- Heinzen, R.A., Hackstadt, T., Samuel, J.E., 1999. Developmental biology of *Coxiella burnetii*. *Trends in Microbiology* 7, 149–154. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(99\)01475-4](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(99)01475-4)
- Heisey, D.M., Jennelle, C.S., Russell, R.E., Walsh, D.P., 2014. Using Auxiliary Information to Improve Wildlife Disease Surveillance When Infected Animals Are Not Detected: A Bayesian Approach. *PLOS ONE* 9, e89843. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089843>
- Hendriks, P., Gay, E., Chazel, M., Moutou, F., Danan, C., Richomme, C., Boue, F., Souillard, R., Gauchard, F., Dufour, B., 2011. OASIS: an assessment tool of epidemiological surveillance systems in animal health and food safety. *Epidemiology & Infection* 139, 1486–1496. <https://doi.org/10.1017/S0950268811000161>
- Hermans, M.H.A., Huijsmans, C. (Ronald) J.J., Schellekens, J.J.A., Savelkoul, P.H.M., Wever, P.C., 2011. *Coxiella burnetii* DNA in goat milk after vaccination with Coxevac®. *Vaccine* 29, 2653–2656. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.01.111>
- Hogerwerf, L., Koop, G., Klinkenberg, D., Roest, H.I.J., Vellema, P., Nielen, M., 2014. Test and cull of high risk *Coxiella burnetii* infected pregnant dairy goats is not feasible due to poor test performance. *The Veterinary Journal* 200, 343–345. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.02.015>
- Horigan, M.W., Bell, M.M., Pollard, T.R., Sayers, A.R., Pritchard, G.C., 2011. Q fever diagnosis in domestic ruminants: comparison between complement fixation and commercial enzyme-linked immunosorbent assays. *J VET Diagn Invest* 23, 924–931. <https://doi.org/10.1177/1040638711416971>
- Hui, S.L., Walter, S.D., 1980. Estimating the error rates of diagnostic tests. *Biometrics* 36, 167–171.
- Humphry, R.W., Cameron, A., Gunn, G.J., 2004. A practical approach to calculate sample size for herd prevalence surveys. *Preventive Veterinary Medicine* 65, 173–188. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.07.003>
- IDELE, CNE, 2020. Les chiffres clés du geb - ovins 2020 - Productions lait et viande.
- Jensen, T.K., Montgomery, D.L., Jaeger, P.T., Lindhardt, T., Agerholm, J.S., Bille-Hansen, V., Boye, M., 2007. Application of fluorescent in situ hybridisation for demonstration of *Coxiella burnetii* in placentas from ruminant abortions. *APMIS* 115, 347–353. [https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm\\_591.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_591.x)
- Jones, G., Johnson, W.O., 2016. A Bayesian Superpopulation Approach to Inference for Finite Populations Based on Imperfect Diagnostic Outcomes. *JABES* 21, 314–327. <https://doi.org/10.1007/s13253-015-0239-9>
- Jordan, D., McEwen, S.A., 1998. Herd-level test performance based on uncertain estimates of individual test performance, individual true prevalence and herd true prevalence. *Preventive Veterinary Medicine* 36, 187–209. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(98\)00087-7](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(98)00087-7)
- Joulié, A., Laroucau, K., Bailly, X., Prigent, M., Gasqui, P., Lepetitcolin, E., Blanchard, B., Rousset, E., Sidi-

- Boumedine, K., Jourdain, E., 2015. Circulation of *Coxiella burnetii* in a Naturally Infected Flock of Dairy Sheep: Shedding Dynamics, Environmental Contamination, and Genotype Diversity. *Appl Environ Microbiol* 81, 7253–7260. <https://doi.org/10.1128/AEM.02180-15>
- Joulié, A., Sidi-Boumedine, K., Bailly, X., Gasqui, P., Barry, S., Jaffrelo, L., Poncet, C., Abrial, D., Yang, E., Leblond, A., Rousset, E., Jourdain, E., 2017. Molecular epidemiology of *Coxiella burnetii* in French livestock reveals the existence of three main genotype clusters and suggests species-specific associations as well as regional stability. *Infection, Genetics and Evolution* 48, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.12.015>
- Jourdain, E., Duron, O., Barry, S., González-Acuña, D., Sidi-Boumedine, K., 2015. Molecular methods routinely used to detect *Coxiella burnetii* in ticks cross-react with *Coxiella*-like bacteria. *Infection Ecology & Epidemiology* 5, 29230. <https://doi.org/10.3402/iee.v5.29230>
- Kersh, G.J., 2013. Antimicrobial therapies for Q fever. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 11, 1207–1214. <https://doi.org/10.1586/14787210.2013.840534>
- Kittelberger, R., Mars, J., Wibberley, G., Sting, R., Henning, K., Horner, G.W., Garnett, K.M., Hannah, M.J., Jenner, J.A., Pigott, C.J., O’Keefe, J.S., 2009. Comparison of the Q-fever complement fixation test and two commercial enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of serum antibodies against *Coxiella burnetii* (Q-fever) in ruminants: Recommendations for use of serological tests on imported animals in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 57, 262–268. <https://doi.org/10.1080/00480169.2009.58619>
- Koop, G., Collar, C.A., Toft, N., Nielsen, M., van Werven, T., Bacon, D., Gardner, I.A., 2013. Risk factors for subclinical intramammary infection in dairy goats in two longitudinal field studies evaluated by Bayesian logistic regression. *Preventive Veterinary Medicine, Special Issue: SVEPM 2012 - The cutting-edge of animal disease control in a global environment* 108, 304–312. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.11.007>
- Kostoulas, P., Nielsen, S.S., Branscum, A.J., Johnson, W.O., Dendukuri, N., Dhand, N.K., Toft, N., Gardner, I.A., 2017. STARD-BLCM: Standards for the Reporting of Diagnostic accuracy studies that use Bayesian Latent Class Models. *Preventive Veterinary Medicine* 138, 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.01.006>
- Krt, B., 2003. The influence of *Coxiella burnetii* phase I and phase II antigens on the serological diagnosis of Q fever in cattle. *Slovenian Veterinary Research (Slovenia)*.
- Kruszewska, D., Tylewska-Wierzbanowska, S., 1997. Isolation of *Coxiella burnetii* from bull semen. *Research in Veterinary Science* 62, 299–300. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(97\)90210-1](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(97)90210-1)
- Kumar, M., Malik, S.S., Vergis, J., Ramanjeneya, S., Sahu, R., Pathak, R., Yadav, J.P., Dhaka, P., Barbuddhe, S.B., Rawool, D.B., 2019. Development of the Com1 synthetic peptide-based Latex Agglutination Test (LAT) and its comparative evaluation with commercial indirect-ELISA for sero-screening of coxiellosis in cattle. *Journal of Microbiological Methods* 162, 83–85. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.05.012>
- La Scola, B., Raoult, D., 1996. Serological cross-reactions between *Bartonella quintana*, *Bartonella henselae*, and *Coxiella burnetii*. *Journal of Clinical Microbiology* 34, 2270–2274.
- Lang, Z., Reiczigel, J., 2014. Confidence limits for prevalence of disease adjusted for estimated sensitivity and specificity. *Preventive Veterinary Medicine* 113, 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.09.015>
- Larras, F., Billoir, E., Baillard, V., Siberchicot, A., Scholz, S., Wubet, T., Tarkka, M., Schmitt-Jansen, M., Delignette-Muller, M.-L., 2018. DRomics: A Turnkey Tool to Support the Use of the Dose–Response Framework for Omics Data in Ecological Risk Assessment. *Environ. Sci. Technol.* 52, 14461–14468. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04752>
- Lee, J., Lio, Y.L., 1999. A note on bayesian estimation and prediction for the beta-binomial model.

- Lee, J.C., Sabavala, D.J., 1987. Bayesian Estimation and Prediction for the Beta-Binomial Model. *Journal of Business & Economic Statistics* 5, 357–367. <https://doi.org/10.2307/1391611>
- Liapi, M., Leontides, L., Kostoulas, P., Botsaris, G., Iacovou, Y., Rees, C., Georgiou, K., Smith, G.C., Naseby, D.C., 2011. Bayesian estimation of the true prevalence of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection in Cypriot dairy sheep and goat flocks. *Small Ruminant Research* 95, 174–178. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.09.010>
- Limonard, G.J.M., Thijsen, S.F., Bossink, A.W., Asscheman, A., Bouwman, J.J.M., 2012. Developing a new clinical tool for diagnosing chronic Q fever: the Coxiella ELISPOT. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 64, 57–60. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00890.x>
- Long, C.M., Beare, P.A., Cockrell, D.C., Larson, C.L., Heinzen, R.A., 2019. Comparative virulence of diverse Coxiella burnetii strains. *Virulence* 10, 133–150. <https://doi.org/10.1080/21505594.2019.1575715>
- López-Gatius, F., Almeria, S., Garcia-Ispuerto, I., 2012. Serological screening for Coxiella burnetii infection and related reproductive performance in high producing dairy cows. *Research in Veterinary Science* 93, 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.07.017>
- Lucchese, L., Capello, K., Barberio, A., Ceglie, L., Eulalia, G., Federica, Z., Monica, M., Arjan, S., Erika, R., Stefano, M., Natale, A., 2016. Evaluation of Serological Tests for Q Fever in Ruminants Using the Latent Class Analysis. *Clinical Research in Infectious Diseases* 3, 1030.
- Lucchese, L., Capello, K., Barberio, A., Zuliani, F., Stegeman, A., Ceglie, L., Guerrini, E., Marangon, S., Natale, A., 2015. IFAT and ELISA phase I/phase II as tools for the identification of Q fever chronic milk shedders in cattle. *Veterinary Microbiology, Special Issue: VETPATH 2014 - Pathogenesis of Bacterial Infections of Animals* 179, 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.02.010>
- Lukáčová, M., Melnicáková, J., Kazár, J., 1999. Cross-reactivity between *Coxiella burnetii* and chlamydiae. *Folia Microbiol. (Praha)* 44, 579–584. <https://doi.org/10.1007/BF02816263>
- Lunn, D.J., Thomas, A., Best, N., Spiegelhalter, D., 2000. WinBUGS - A Bayesian modelling framework: Concepts, structure, and extensibility. *Statistics and Computing* 10, 325–337. <https://doi.org/10.1023/A:1008929526011>
- Lurier, T., Rousset, E., Gasqui, P., Sala, C., Claustre, C., Abrial, D., Dufour, P., de Crémoux, R., Gache, K., Delignette-Muller, M.L., Ayrat, F., Jourdain, E., 2021. Evaluation using latent class models of the diagnostic performances of three ELISA tests commercialized for the serological diagnosis of Coxiella burnetii infection in domestic ruminants. *Veterinary Research* 52, 56. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00926-w>
- Madouasse, A., Mercat, M., Roon, A. van, Graham, D., Guelbenzu, M., Berends, I.S., Schaik, G. van, Nielen, M., Frössling, J., Ågren, E., Humphry, R.W., Eze, J., Gunn, G.J., Henry, M.K., Gethmann, J., More, S.J., Toft, N., Fourichon, C., 2021. A modelling framework for the prediction of the herd-level probability of infection from longitudinal data. *bioRxiv* 2020.07.10.197426. <https://doi.org/10.1101/2020.07.10.197426>
- Mańczewska, J., Kaczorek-Łukowska, E., Szymańska-Czerwińska, M., Rękawek, W., Wójcik, R., Niemczuk, K., Siwicki, A.K., 2018. Early Cytokine Response After Vaccination with Coxiella Burnetii Phase I in an Infected Herd of Dairy Cattle. *J Vet Res* 62, 469–476. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2018-0076>
- Martinov, Neikov, Popov, 1989. Experimental Q fever in sheep. *Eur J Epidemiol* 5, 428–431. <https://doi.org/10.1007/bf00140134>
- McAloon, C.G., Doherty, M.L., Whyte, P., O’Grady, L., More, S.J., Messam, L.L.McV., Good, M.,

- Mullowney, P., Strain, S., Green, M.J., 2016. Bayesian estimation of prevalence of paratuberculosis in dairy herds enrolled in a voluntary Johne's Disease Control Programme in Ireland. *Preventive Veterinary Medicine* 128, 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.04.014>
- McAloon, C.G., Doherty, M.L., Whyte, P., Verdugo, C., Toft, N., More, S.J., O'Grady, L., Green, M.J., 2019. Low accuracy of Bayesian latent class analysis for estimation of herd-level true prevalence under certain disease characteristics—An analysis using simulated data. *Preventive Veterinary Medicine* 162, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.11.014>
- Meadows, S., Jones-Bitton, A., McEwen, S., Jansen, J., Menzies, P., 2015. *Coxiella burnetii* seropositivity and associated risk factors in sheep in Ontario, Canada. *Preventive Veterinary Medicine* 122, 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.07.007>
- Melenotte, C., Protopopescu, C., Million, M., Edouard, S., Carrieri, M.P., Eldin, C., Angelakis, E., Djossou, F., Bardin, N., Fournier, P.-E., Mège, J.-L., Raoult, D., 2018. Clinical Features and Complications of *Coxiella burnetii* Infections From the French National Reference Center for Q Fever. *JAMA Network Open* 1, e181580–e181580. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.1580>
- Menten, J., Boelaert, M., Lesaffre, E., 2008. Bayesian latent class models with conditionally dependent diagnostic tests: A case study. *Statistics in Medicine* 27, 4469–4488. <https://doi.org/10.1002/sim.3317>
- Moos, A., Hackstadt, T., 1987. Comparative virulence of intra- and interstrain lipopolysaccharide variants of *Coxiella burnetii* in the guinea pig model. *Infect Immun* 55, 1144–1150. <https://doi.org/10.1128/iai.55.5.1144-1150.1987>
- More, S.J., Cameron, A.R., Strain, S., Cashman, W., Ezanno, P., Kenny, K., Fourichon, C., Graham, D., 2015. Evaluation of testing strategies to identify infected animals at a single round of testing within dairy herds known to be infected with *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis. *Journal of Dairy Science* 98, 5194–5210. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8211>
- Muleme, M., Campbell, A., Stenos, J., Devlin, J.M., Vincent, G., Cameron, A., Graves, S., Wilks, C.R., Firestone, S., 2017. A longitudinal study of serological responses to *Coxiella burnetii* and shedding at kidding among intensively-managed goats supports early use of vaccines. *Veterinary Research* 48, 50. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0452-3>
- Muleme, M., Stenos, J., Vincent, G., Campbell, A., Graves, S., Warner, S., Devlin, J.M., Nguyen, C., Stevenson, M.A., Wilks, C.R., Firestone, S.M., 2016. Bayesian validation of the indirect immuno-fluorescence assay and its superiority to the enzyme-linked immunosorbent assay and complement fixation test for detecting antibodies against *Coxiella burnetii* in goat serum. *Clin. Vaccine Immunol.* CVI.00724-15. <https://doi.org/10.1128/CVI.00724-15>
- Muskens, J., Engelen, E. van, Maanen, C. van, Bartels, C., Lam, T.J.G.M., 2011. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in Dutch dairy herds based on testing bulk tank milk and individual samples by PCR and ELISA. *Veterinary Record* 168, 79–79. <https://doi.org/10.1136/vr.c6106>
- Natale, A., Bucci, G., Capello, K., Barberio, A., Tavella, A., Nardelli, S., Marangon, S., Ceglie, L., 2012. Old and new diagnostic approaches for Q fever diagnosis: Correlation among serological (CFT, ELISA) and molecular analyses. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 35, 375–379. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.03.002>
- Niemczuk, K., Szymańska-Czerwińska, M., Śmietanka, K., Bocian, Ł., 2014. Comparison of diagnostic potential of serological, molecular and cell culture methods for detection of Q fever in ruminants. *Veterinary Microbiology* 171, 147–152. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.03.015>
- Nodelijk, G., Jong, M.C.M.D., Nes, A.V., Vernooy, J.C.M., Leengoed, L. a. M.G.V., Pol, J.M.A., Verheijden, J.H.M., 2000. Introduction, persistence and fade-out of porcine reproductive and respiratory



- syndrome virus in a Dutch breeding herd: a mathematical analysis. *Epidemiology & Infection* 124, 173–182. <https://doi.org/10.1017/S0950268899003246>
- Norby, B., Bartlett, P.C., Grooms, D.L., Kaneene, J.B., Bruning-Fann, C.S., 2005. Use of simulation modeling to estimate herd-level sensitivity, specificity, and predictive values of diagnostic tests for detection of tuberculosis in cattle. *American Journal of Veterinary Research* 66, 1285–1291. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.1285>
- Nusinovici, S., Madouasse, A., Hoch, T., Guatteo, R., Beaudreau, F., 2015. Evaluation of Two PCR Tests for *Coxiella burnetii* Detection in Dairy Cattle Farms Using Latent Class Analysis. *PLoS One* 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144608>
- Oakley, J.E., O'Hagan, A., 2010. SHELF: the Sheffield elicitation framework (version 2.0). School of Mathematics and Statistics, University of Sheffield, UK (<http://tonyohagan.co.uk/shelf>).
- OIE, 2018. Q fever - Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). *Contributeurs : Rousset, E., Niemczuk K.*, in: *OIE Terrestrial Manual 2018*. pp. 560–577.
- OIE, 2013. Principes de la validation des épreuves de diagnostic des maladies infectieuses, in: *OIE Terrestrial Manual 2018*. pp. 560–577.
- Okura, H., Nielsen, S.S., Toft, N., 2010. Prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in adult Danish non-dairy cattle sampled at slaughter. *Preventive Veterinary Medicine* 94, 185–190. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.01.014>
- O'Neill, T.J., Sargeant, J.M., Poljak, Z., 2013. A Systematic Review and Meta-Analysis of Phase I Inactivated Vaccines to Reduce Shedding of *Coxiella burnetii* From Sheep and Goats From Routes of Public Health Importance. *Zoonoses Public Health* n/a-n/a. <https://doi.org/10.1111/zph.12086>
- OSCAR, 2020a. Diagnostic différentiel des avortements - Protocole petits Ruminants. Plateforme ESA.
- OSCAR, 2020b. Diagnostic différentiel des avortements - Protocole Bovins. Plateforme ESA.
- Paterson, J.T., Butler, C., Garrott, R., Proffitt, K., 2020. How sure are you? A web-based application to confront imperfect detection of respiratory pathogens in bighorn sheep. *PLOS ONE* 15, e0237309. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237309>
- Paul, S., Agger, J.F., Agerholm, J.S., Markussen, B., 2014. Prevalence and risk factors of *Coxiella burnetii* seropositivity in Danish beef and dairy cattle at slaughter adjusted for test uncertainty. *Preventive Veterinary Medicine* 113, 504–511. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.01.018>
- Paul, S., Toft, N., Agerholm, J.S., Christoffersen, A.-B., Agger, J.F., 2013. Bayesian estimation of sensitivity and specificity of *Coxiella burnetii* antibody ELISA tests in bovine blood and milk. *Preventive Veterinary Medicine* 109, 258–263. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.10.007>
- Pepe, M.S., Janes, H., 2007. Insights into latent class analysis of diagnostic test performance. *Biostatistics* 8, 474–484. <https://doi.org/10.1093/biostatistics/kxl038>
- Peyre, M., Hoinville, L., Njoroge, J., Cameron, A., Traon, D., Goutard, F., Calba, C., Grosbois, V., Delabougli, A., Varant, V., Drewe, J., Pfeiffer, D., Häsler, B., 2019. The RISKSUR EVA tool (Survtool): A tool for the integrated evaluation of animal health surveillance systems. *Preventive Veterinary Medicine* 173, 104777. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104777>
- Plateforme ESA, 2021. Observatoire et suivi des causes d'avortements chez les ruminants - Bilan 2020 [WWW Document]. URL <https://www.plateforme-esa.fr/diagnostic-differentiel-des-avortements-bilans-et-resultats> (accessed 2.24.19).
- Plommet, M., Capponi, M., Gestin, J., Renoux, G., Marly, J., Sahuc, D., Petit, A., 1973. Fièvre Q

- expérimentale des bovins. *Annales de Recherches Vétérinaires*, INRA Editions 4, 325–346.
- Plummer, M., 2003. JAGS: A program for analysis of Bayesian graphical models using Gibbs sampling. *Proceedings of the 3rd international workshop on distributed statistical computing* 124, 1–10.
- Plummer, M., Stukalov, A., Denwood, M., 2016. rjags: Bayesian graphical models using MCMC.
- Poirier, V., Rivière, J., Bouveret, A., Gardon, S., Dufour, B., 2019. Cost-effectiveness assessment of three components of the bovine tuberculosis surveillance system by intradermal tuberculin testing in French cattle farms by a scenario tree approach. *Preventive Veterinary Medicine* 166, 93–109. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.03.004>
- Polson, N.G., Scott, J.G., 2012. On the Half-Cauchy Prior for a Global Scale Parameter. *Bayesian Analysis* 7, 887–902. <https://doi.org/10.1214/12-BA730>
- Pozzato, N., Capello, K., Comin, A., Toft, N., Nielsen, S.S., Vicenzoni, G., Arrigoni, N., 2011. Prevalence of paratuberculosis infection in dairy cattle in Northern Italy. *Preventive Veterinary Medicine* 102, 83–86. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.07.001>
- Ransohoff, D.F., Feinstein, A.R., 1978. Problems of Spectrum and Bias in Evaluating the Efficacy of Diagnostic Tests. *N Engl J Med* 299, 926–930. <https://doi.org/10.1056/NEJM197810262991705>
- Raoult, D., 2017. Q Fever: Confusion Between Chronic Infection and Chronic Fatigue. *Clinical Infectious Diseases* 65, 1054–1055. <https://doi.org/10.1093/cid/cix469>
- Raoult, D., Marrie, T., Mege, J., 2005. Natural history and pathophysiology of Q fever. *The Lancet Infectious Diseases* 5, 219–226. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(05\)70052-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(05)70052-9)
- Raoult, D., Tissot-Dupont, H., Foucault, C., Gouvernet, J., Fournier, P.E., Bernit, E., Stein, A., Nesri, M., Harle, J.R., Weiller, P.J., 2000. Q Fever 1985-1998: Clinical and Epidemiologic Features of 1,383 Infections. *Medicine* 79, 109–123.
- Reid, M.C., Lachs, M.S., Feinstein, A.R., 1995. Use of Methodological Standards in Diagnostic Test Research: Getting Better but Still Not Good. *JAMA* 274, 645–651. <https://doi.org/10.1001/jama.1995.03530080061042>
- Reukers, D.F.M., Aaronson, J., van Loenhout, J.A.F., Meyering, B., van der Velden, K., Hautvast, J.L.A., van Jaarsveld, C.H.M., Kessels, R.P.C., 2020. Objective cognitive performance and subjective complaints in patients with chronic Q fever or Q fever fatigue syndrome. *BMC Infect Dis* 20, 397. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05118-z>
- Rizzo, F., Vitale, N., Ballardini, M., Borromeo, V., Luzzago, C., Chiavacci, L., Mandola, M.L., 2016. Q fever seroprevalence and risk factors in sheep and goats in northwest Italy. *Preventive Veterinary Medicine* 130, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.05.014>
- Rodolakis, A., Clement, P., Cochonneau, D., Beaudeau, F., Sarradin, P., Guatteo, R., 2009. Investigation of humoral and cellular immunity of dairy cattle after one or two year of vaccination with a phase I Coxiella vaccine. *Procedia in Vaccinology*, 2nd Global Congress on Vaccines, December 7-9, 2008, Boston, MA, USA 1, 85–88. <https://doi.org/10.1016/j.provac.2009.07.015>
- Roest, H.I., Post, J., van Gelderen, B., van Zijderveld, F.G., Rebel, J.M., 2013. Q fever in pregnant goats: humoral and cellular immune responses. *Vet Res* 44, 67. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-67>
- Roest, H.I.J., Dinkla, A., Koets, A.P., Post, J., van Keulen, L., 2020. Experimental Coxiella burnetii infection in non-pregnant goats and the effect of breeding. *Veterinary Research* 51, 74. <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00797-7>
- Roest, H.I.J., Tilburg, J.J.H.C., Hoek, W.V.D., Vellema, P., Zijderveld, F.G.V., Klaassen, C.H.W., Raoult, D., 2011. The Q fever epidemic in The Netherlands: history, onset, response and reflection. *Epidemiology & Infection* 139, 1–12. <https://doi.org/10.1017/S0950268810002268>

- Roest, H.-J., Gelderen, B. van, Dinkla, A., Frangoulidis, D., Zijdeveld, F. van, Rebel, J., Keulen, L. van, 2012. Q Fever in Pregnant Goats: Pathogenesis and Excretion of *Coxiella burnetii*. PLOS ONE 7, e48949. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048949>
- Rogan, W.J., Gladen, B., 1978. Estimating prevalence from the results of a screening test. American Journal of Epidemiology 107, 71–76. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112510>
- Rousset, Elodie, Berri, M., Durand, B., Dufour, P., Prigent, M., Delcroix, T., Touratier, A., Rodolakis, A., 2009. *Coxiella burnetii* shedding routes and antibody response after outbreaks of Q fever-induced abortion in dairy goat herds. Applied and Environmental Microbiology 75, 428–433. <https://doi.org/10.1128/AEM.00690-08>
- Rousset, É., Brugidou, R., Chassin, A., Valogne, A., Colocci, F., Nicollet, P., Sidi-Boumedine, K., 2012. Adoption by a network's laboratories of a validated quantitative real-time PCR method for monitoring Q fever abortions in ruminant livestock. EuroReference 8.
- Rousset, E., Durand, B., Berri, M., Dufour, P., Prigent, M., Russo, P., Delcroix, T., Touratier, A., Rodolakis, A., Aubert, M., 2007. Comparative diagnostic potential of three serological tests for abortive Q fever in goat herds. Veterinary Microbiology 124, 286–297. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.04.033>
- Rousset, E., Durand, B., Champion, J.L., Prigent, M., Dufour, P., Forfait, C., Marois, M., Gasnier, T., Duquesne, V., Thiéry, R., Aubert, M.F., 2009. Efficiency of a phase 1 vaccine for the reduction of vaginal *Coxiella burnetii* shedding in a clinically affected goat herd. Clinical Microbiology and Infection 15, 188–189. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02220.x>
- Rousset, E., Lurier, T., Jourdain, E., Thiéry, R., 2021. Diagnostic methods for Q fever in ruminants: contribution to the validation of performances and to their harmonization, in: Gemeinsamen Arbeitstagung Der Nationalen Referenzlabore Chlamydiose, Q-Fieber, Paratuberkulose Und Tuberkulose Der Rinder - Online-Tagung Veranstaltet. Friedrich Loeffler Institut, Naumburger, Germany, p. 13.
- Rousset, E., Poivre, M., Lafon, J., Gache, K., Richard, T., Jourdain, E., 2020. Investigation épidémiologique sur une exploitation ovine laitière d'un lycée professionnel agricole suite à des signalements de cas humains de fièvre Q. Presented at the journées scientifiques et doctorales de l'Anses, Maisons-Alfort, France.
- Rousset, E., Yang, E., Dufour, P., Prigent, M., Sidi-Boumedine, K., Thiéry, R., 2017. A National Reference Laboratory's Interactions With Veterinary Diagnostic Laboratories: Example Of Q Fever, An Abortive Disease In Ruminants And A Zoonosis. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.1171994>
- Rüegg, S.R., Welby, S., Yassin, H., Van der Stede, Y., Nafzger, R., Saatkamp, H., Schüpbach-Regula, G., Stärk, K.D.C., 2018. Optimising cost-effectiveness of freedom from disease surveillance—Bluetongue Virus Serotype 8 as an example. Preventive Veterinary Medicine 160, 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.02.009>
- Ruiz-Fons, F., Astobiza, I., Barandika, J.F., Hurtado, A., Atxaerandio, R., Juste, R.A., García-Pérez, A.L., 2010. Seroepidemiological study of Q fever in domestic ruminants in semi-extensive grazing systems. BMC Veterinary Research 6, 3. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-6-3>
- Ruiz-Fons, F., Rodríguez, Ó., Torina, A., Naranjo, V., Gortázar, C., de la Fuente, J., 2008. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in wild and farmed ungulates. Veterinary Microbiology 126, 282–286. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.06.020>
- Russell-Lodrigue, K.E., Zhang, G.Q., McMurray, D.N., Samuel, J.E., 2006. Clinical and Pathologic Changes in a Guinea Pig Aerosol Challenge Model of Acute Q Fever. Infect Immun 74, 6085–6091. <https://doi.org/10.1128/IAI.00763-06>
- Saini, N., Gupta, R.S., 2021. A robust phylogenetic framework for members of the order Legionellales and its main genera (*Legionella*, *Aquicella*, *Coxiella* and *Rickettsiella*) based on phylogenomic

- analyses and identification of molecular markers demarcating different clades. *Antonie van Leeuwenhoek* 114, 957–982. <https://doi.org/10.1007/s10482-021-01569-9>
- Sánchez, J., Souriau, A., Buendía, A.J., Arricau-Bouvery, N., Martínez, C.M., Salinas, J., Rodolakis, A., Navarro, J.A., 2006. Experimental *Coxiella burnetii* Infection in Pregnant Goats: a Histopathological and Immunohistochemical Study. *Journal of Comparative Pathology* 135, 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2006.06.003>
- Sanford, S.E., Josephson, G.K., MacDonald, A., 1994. *Coxiella burnetii* (Q fever) abortion storms in goat herds after attendance at an annual fair. *Can Vet J* 35, 376–378.
- Schimmer, B., Lange, M.M.A. de, Hautvast, J.L.A., Vellema, P., Duynhoven, Y.T.H.P. van, 2014. *Coxiella burnetii* seroprevalence and risk factors on commercial sheep farms in The Netherlands. *Veterinary Record* 175, 17–17. <https://doi.org/10.1136/vr.102155>
- Schimmer, B., Luttikholt, S., Hautvast, J.L., Graat, E.A., Vellema, P., van Duynhoven, Y.T., 2011. Seroprevalence and risk factors of Q fever in goats on commercial dairy goat farms in the Netherlands, 2009–2010. *BMC Veterinary Research* 7, 81. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-7-81>
- Schneeberger, P.M., Wintenberger, C., van der Hoek, W., Stahl, J.P., 2014. Q fever in the Netherlands – 2007–2010: What we learned from the largest outbreak ever. *Médecine et Maladies Infectieuses* 44, 339–353. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.02.006>
- Schoffelen, T., Limonard, G.J.M., Bleeker-Rovers, C.P., Bouwman, J.J.M., Meer, J.W.M. van der, Nabuurs-Franssen, M., Sprong, T., Deuren, M. van, 2014. Diagnosis of *Coxiella burnetii* Infection: Comparison of a Whole Blood Interferon-Gamma Production Assay and a *Coxiella* ELISPOT. *PLOS ONE* 9, e103749. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103749>
- Sidi-Boumedine, K., Rousset, E., Henning, K., Ziller, M., Niemczuck, K., Roest, H.I.J., Thiéry, R., 2010. Development of harmonised schemes for the monitoring and reporting of Q-fever in animals in the European Union. *EFSA Supporting Publications* 7, 48E. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2010.EN-48>
- Sidi-Boumedine, K., Rousset, E., Henning, K., Ziller, M., Niemczuck, K., Roest, H.I.J., Thiéry, R., 2010. Development of harmonised schemes for the monitoring and reporting of Q-fever in animals in the European Union. *EFSA Supporting Publications* 7, 48E. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2010.EN-48>
- Singer, R.S., Boyce, W.M., Gardner, I.A., Johnson, W.O., Fisher, A.S., 1998. Evaluation of bluetongue virus diagnostic tests in free-ranging bighorn sheep. *Prev Vet Med* 35, 265–282. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(98\)00067-1](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(98)00067-1)
- Sobotta, K., Hillarius, K., Mager, M., Kerner, K., Heydel, C., Menge, C., 2016. *Coxiella burnetii* Infects Primary Bovine Macrophages and Limits Their Host Cell Response. *Infect Immun* 84, 1722–1734. <https://doi.org/10.1128/IAI.01208-15>
- Spencer, B.D., 2012. When Do Latent Class Models Overstate Accuracy for Diagnostic and Other Classifiers in the Absence of a Gold Standard? *Biometrics* 68, 559–566. <https://doi.org/10.1111/j.1541-0420.2011.01694.x>
- Stärk, K.D., Regula, G., Hernandez, J., Knopf, L., Fuchs, K., Morris, R.S., Davies, P., 2006. Concepts for risk-based surveillance in the field of veterinary medicine and veterinary public health: Review of current approaches. *BMC Health Serv Res* 6, 20. <https://doi.org/10.1186/1472-6963-6-20>
- Stellfeld, M., Gerlach, C., Richter, I.-G., Miethe, P., Fahlbusch, D., Polley, B., Sting, R., Pfeiffer, M., Neubauer, H., Mertens-Scholz, K., 2020. Evaluation of the Diagnostic Potential of Recombinant *Coxiella burnetii* Com1 in an ELISA for the Diagnosis of Q Fever in Sheep, Goats and Cattle. *Microorganisms* 8, 1235. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081235>
- Sting, R., Molz, K., Philipp, W., Bothe, F., Runge, M., Ganter, M., 2013. Quantitative real-time PCR and

- phase specific serology are mutually supportive in Q fever diagnostics in goats. *Veterinary Microbiology* 167, 600–608. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.09.015>
- Su, C.-L., Gardner, I.A., Johnson, W.O., 2007. Bayesian estimation of cluster-level test accuracy based on different sampling schemes. *JABES* 12, 250. <https://doi.org/10.1198/108571107X198895>
- Suess, E.A., Gardner, I.A., Johnson, W.O., 2002. Hierarchical Bayesian model for prevalence inferences and determination of a country's status for an animal pathogen. *Preventive Veterinary Medicine* 55, 155–171. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(02\)00092-2](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(02)00092-2)
- Szymańska-Czerwińska, M., Jodełko, A., Pluta, M., Kowalik, S., Niemczuk, K., 2017. Seroprevalence of *Coxiella burnetii* among domestic ruminants and horses in Poland. *Acta Virol* 61, 369–371. [https://doi.org/10.4149/av\\_2017\\_318](https://doi.org/10.4149/av_2017_318)
- Szymanska-Czerwinska, M., Niemczuk, K., 2012. Evaluation of the effectiveness of Q fever treatment with oxytetracycline. *Bulletin of the Veterinary Institute in Puławy* 56.
- Szymańska-Czerwińska, M., Niemczuk, K., Jodełko, A., 2016. Evaluation of qPCR and phase I and II antibodies for detection of *Coxiella burnetii* infection in cattle. *Research in Veterinary Science* 108, 68–70. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.08.008>
- Tanner, M.A., 1996. *Tools for Statistical Inference - Methods for the Exploration of Posterior Distributions and Likelihood Functions*, Springer. ed.
- Taurel, Anne-Frieda, Guatteo, R., Joly, A., Beaudeau, F., 2012. Effectiveness of vaccination and antibiotics to control *Coxiella burnetii* shedding around calving in dairy cows. *Veterinary Microbiology* 159, 432–437. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.04.027>
- Taurel, A.-F., Guatteo, R., Joly, A., Beaudeau, F., 2012. Relationship between the level of antibodies in bulk tank milk and the within-herd seroprevalence of *Coxiella burnetii* in cows. *Epidemiology & Infection* 140, 1710–1713. <https://doi.org/10.1017/S0950268811002275>
- To, H., Htwe, K.K., Kako, N., Kim, H.J., Yamaguchi, T., Fukushi, H., Hirai, K., 1998. Prevalence of *Coxiella burnetii* Infection in Dairy Cattle with Reproductive Disorders. *Journal of Veterinary Medical Science* 60, 859–861. <https://doi.org/10.1292/jvms.60.859>
- Torrance-Rynard, V.L., Walter, S.D., 1997. Effects of dependent errors in the assessment of diagnostic test performance. *Statistics in Medicine* 16, 2157–2175. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0258\(19971015\)16:19<2157::AID-SIM653>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0258(19971015)16:19<2157::AID-SIM653>3.0.CO;2-X)
- Tsutsui, T., Minami, N., Koiwai, M., Hamaoka, T., Yamane, I., Shimura, K., 2003. A stochastic-modeling evaluation of the foot-and-mouth-disease survey conducted after the outbreak in Miyazaki, Japan in 2000. *Preventive Veterinary Medicine* 61, 45–58. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(03\)00160-0](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(03)00160-0)
- Turcotte, M.-È., Denis-Robichaud, J., Dubuc, J., Harel, J., Tremblay, D., Gagnon, C.A., Arsenault, J., 2021. Prevalence of shedding and antibody to *Coxiella burnetii* in post-partum dairy cows and its association with reproductive tract diseases and performance: A pilot study. *Preventive Veterinary Medicine* 186, 105231. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105231>
- Umehneku Chikere, C.M., Wilson, K., Graziadio, S., Vale, L., Allen, A.J., 2019. Diagnostic test evaluation methodology: A systematic review of methods employed to evaluate diagnostic tests in the absence of gold standard – An update. *PLoS One* 14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223832>
- van Asseldonk, M.A.P.M., Bontje, D.M., Backer, J.A., Roermund, H.J.W. van, Bergevoet, R.H.M., 2015. Economic aspects of Q fever control in dairy goats. *Preventive Veterinary Medicine* 121, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.06.010>
- van den Brom, R., Moll, L., van Schaik, G., Vellema, P., 2013. Demography of Q fever seroprevalence in sheep and goats in The Netherlands in 2008. *Preventive Veterinary Medicine* 109, 76–82.

<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.09.002>

- van den Brom, R., Santman-Berends, I., Luttikholt, S., Moll, L., Van Engelen, E., Vellema, P., 2015a. Bulk tank milk surveillance as a measure to detect *Coxiella burnetii* shedding dairy goat herds in the Netherlands between 2009 and 2014. *Journal of Dairy Science* 98, 3814–3825. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9029>
- van den Brom, R., van Engelen, E., Luttikholt, S., Moll, L., van Maanen, K., Vellema, P., 2012. *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples from dairy goat and dairy sheep farms in The Netherlands in 2008. *Veterinary Record* 170, 310–310. <https://doi.org/10.1136/vr.100304>
- van den Brom, R., van Engelen, E., Roest, H.I.J., van der Hoek, W., Vellema, P., 2015b. *Coxiella burnetii* infections in sheep or goats: an opinionated review. *Veterinary Microbiology, Microbial Diseases of Sheep and Goats* 181, 119–129. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.07.011>
- van der Hoek, W., Morroy, G., Renders, N.H.M., Wever, P.C., Hermans, M.H.A., Leenders, A.C.A.P., Schneeberger, P.M., 2012. Epidemic Q fever in humans in the Netherlands. *Adv. Exp. Med. Biol.* 984, 329–364. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-4315-1\\_17](https://doi.org/10.1007/978-94-007-4315-1_17)
- Verdugo, C., Toft, N., Nielsen, S.S., 2015. Within- and between-herd prevalence variation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection among control programme herds in Denmark (2011–2013). *Preventive Veterinary Medicine* 121, 282–287. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.07.012>
- Villari, S., Galluzzo, P., Arnone, M., Alfano, M., Geraci, F., Chiarenza, G., 2018. Seroprevalence of *Coxiella burnetii* infection (Q fever) in sheep farms located in Sicily (Southern Italy) and related risk factors. *Small Ruminant Research* 164, 82–86. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.05.006>
- Wang, C., Hanson, T.E., 2019. Estimation of sensitivity and specificity of multiple repeated binary tests without a gold standard. *Statistics in Medicine* 38, 2381–2390. <https://doi.org/10.1002/sim.8114>
- Wang, Z., Dendukuri, N., Joseph, L., 2017a. Understanding the effects of conditional dependence in research studies involving imperfect diagnostic tests. *Stat Med* 36, 466–480. <https://doi.org/10.1002/sim.7148>
- Wang, Z., Dendukuri, N., Zar, H.J., Joseph, L., 2017b. Modeling conditional dependence among multiple diagnostic tests. *Statistics in Medicine* 36, 4843–4859. <https://doi.org/10.1002/sim.7449>
- Whiting, P.F., Rutjes, A.W.S., Westwood, M.E., Mallett, S., Deeks, J.J., Reitsma, J.B., Leeflang, M.M.G., Sterne, J.A.C., Bossuyt, P.M.M., 2011. QUADAS-2: A Revised Tool for the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies. *Ann Intern Med* 155, 529–536. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00009>
- Wolf, A., Prüfer, T.L., Schoneberg, C., Campe, A., Runge, M., Ganter, M., Bauer, B.U., 2020. Prevalence of *Coxiella burnetii* in German sheep flocks and evaluation of a novel approach to detect an infection via preputial swabs at herd-level. *Epidemiology & Infection* 148. <https://doi.org/10.1017/S0950268820000679>
- Wolf, R., Barkema, H.W., De Buck, J., Slomp, M., Flaig, J., Hauptstein, D., Pickel, C., Orsel, K., 2014. High herd-level prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Western Canadian dairy farms, based on environmental sampling. *Journal of Dairy Science* 97, 6250–6259. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8101>
- Wood, C., Muleme, M., Tan, T., Bosward, K., Gibson, J., Alawneh, J., McGowan, M., Barnes, T.S., Stenos, J., Perkins, N., Firestone, S.M., Tozer, S., 2019. Validation of an indirect immunofluorescence assay (IFA) for the detection of IgG antibodies against *Coxiella burnetii* in bovine serum. *Preventive Veterinary Medicine* 169, 104698. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104698>

- Wood, C.M., Perkins, N.R., Tozer, S.J., Johnson, W., Barnes, T.S., McGowan, M., Gibson, J.S., Alawneh, J., Firestone, S.M., Woldeyohannes, S.M., 2021. Prevalence and spatial distribution of *Coxiella burnetii* seropositivity in northern Australian beef cattle adjusted for diagnostic test uncertainty. *Preventive Veterinary Medicine* 189, 105282. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105282>
- Xu, H., Craig, B.A., 2009. A Probit Latent Class Model with General Correlation Structures for Evaluating Accuracy of Diagnostic Tests. *Biometrics* 65, 1145–1155. <https://doi.org/10.1111/j.1541-0420.2008.01194.x>
- Yadav, J.P., Malik, S.V.S., Dhaka, P., Kumar, M., Sirsant, B., Gourkhede, D., Barbuddhe, S.B., Rawool, D.B., 2020. Comparison of two new in-house Latex Agglutination Tests (LATs), based on the DnaK and Com1 synthetic peptides of *Coxiella burnetii*, with a commercial indirect-ELISA, for sero-screening of coxiellosis in bovines. *Journal of Microbiological Methods* 170, 105859. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105859>
- Youden, W.J., 1950. Index for rating diagnostic tests. *Cancer* 3, 32–35. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(1950\)3:1<32::AID-CNCR2820030106>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/1097-0142(1950)3:1<32::AID-CNCR2820030106>3.0.CO;2-3)
- Youngflesh, C., 2018. MCMCvis: Tools to Visualize, Manipulate, and Summarize MCMC Output. *Journal of Open Source Software* 3, 640. <https://doi.org/10.21105/joss.00640>
- Zhang, J., Yu, K.F., 1998. What's the Relative Risk? A Method of Correcting the Odds Ratio in Cohort Studies of Common Outcomes. *JAMA* 280, 1690–1691. <https://doi.org/10.1001/jama.280.19.1690>
- Zhu, M., Lu, A.Y., 2004. The Counter-intuitive Non-informative Prior for the Bernoulli Family. *null* 12, null-null. <https://doi.org/10.1080/10691898.2004.11910734>
- Ziller, M., Selhorst, T., Teuffert, J., Kramer, M., Schlüter, H., 2002. Analysis of sampling strategies to substantiate freedom from disease in large areas. *Preventive Veterinary Medicine* 52, 333–343. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(01\)00245-8](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(01)00245-8)
- Zweig, M.H., Campbell, G., 1993. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin. Chem.* 39, 561–577.

## ANNEXES

---



## A. ANNEXES GÉNÉRALES THÈSE

---

### I. Valorisation des travaux dans le cadre de la thèse

#### I.1.1 Articles scientifiques publiés dans des revues internationales à comité de lecture

**Lurier, T.**, Rousset, E., Gasqui, P., Sala, C., Claustre, C., Abrial, D., Dufour, P., de Crémoux, R., Gache, K., Delignette-Muller, M.L., Ayrat, F., Jourdain, E., 2021. Evaluation using latent class models of the diagnostic performances of three ELISA tests commercialized for the serological diagnosis of Coxiella burnetii infection in domestic ruminants. Veterinary Research 52, 56. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00926-w>

#### I.1.2 Communication orale

##### I.1.2.1 Congrès internationaux

**Lurier, T.**, Rousset, E., Gasqui, P., Sala, C., Claustre, C., Abrial, D., Dufour, P., de Crémoux, R., Gache, K., Delignette-Muller, M.L., Ayrat, F., Jourdain, E., 2021. Evaluation using latent class models of the diagnostic performances of three ELISA tests commercialized for the serological diagnosis of Coxiella burnetii infection in domestic ruminants. Presented at the Gemeinsame Arbeitstagung der NRLs Chlamydie, Q-Fieber, Paratuberkulose und Tuberkulose der Rinder, Friedrich Loeffler Institut.

Rousset, E., **Lurier, T.**, Jourdain, E., Thiéry, R., 2021. Diagnostic methods for Q fever in ruminants: contribution to the validation of performances and to their harmonization, in: Gemeinsamen Arbeitstagung Der Nationalen Referenzlabore Chlamydie, Q-Fieber, Paratuberkulose Und Tuberkulose Der Rinder - Online-Tagung Veranstaltet. Friedrich Loeffler Institut, Naumburger, Germany, p. 13.

##### I.1.2.2 Congrès ou séminaires nationaux

**Lurier, T.**, Jourdain, E., Ayrat, F., Delignette-Muller, M.L., 2018. Evaluation de méthodes diagnostiques en l'absence de gold standard sur la base de variables binaires et continues : intérêt de l'approche bayésienne. Presented at the Journées Applibugs, Journées Applibugs, Paris.

**Lurier, T.**, 2020. Evaluation de réactifs sans matériel de référence. Presented at the Collège de la référence, Collège de la référence, ANSES Maison Alfort.

**Lurier, T.**, Rousset, E., Gasqui, P., Sala, C., Caustre, C., Abrial, D., Dufour, P., Morignat, E., DE Cremoux, R., Cache, K., Delignette-Muller, M.L., Ayrat, F., Jourdain, E., 2020. Evaluation des caractéristiques de trois kits ELISA pour le diagnostic de la fièvre Q chez les ruminants domestiques par des modèles à classes latentes. Presented at the Groupe de travail sur les avortments des petits ruminants, GDS France, Paris.

**Lurier, T.**, Rousset, E., Gasqui, P., Sala, C., Caustre, C., Abrial, D., Dufour, P., Morignat, E., DE Cremoux, R., Cache, K., Delignette-Muller, M.L., Ayrat, F., Jourdain, E., 2021. Evaluation, à l'aide de modèles à classes latentes, des performances diagnostic des tests ELISA commercialisés pour le diagnostic sérologique des infections par C.burnetii chez les ruminants domestiques. Presented at the 17ème Rencontre des Microbiologistes du Pôle Clermontois, Clermont Ferrand.

**Lurier, T.**, 2021. A probabilistic approach based on latent class models to interpret Q fever serological test results at the individual and herd levels in domestic ruminants. Presented at the Journée de l'école doctorale SVSAE, Clermont Ferrand.

## II. Autres publications

### II.1.1 Articles scientifiques dans des revues internationale à comité de lecture

**Lurier, T.**, Delignette-Muller, M.L., Rannou, B., Strube, C., Arcangioli, M.-A., Bourgoïn, G., 2018. Diagnosis of bovine dictyocaulosis by bronchoalveolar lavage technique: A comparative study using a Bayesian approach. Preventive Veterinary Medicine 154, 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.03.017>

Magnin, M., Foulon, É., **Lurier, T.**, Allaouchiche, B., Bonnet-Garin, J.-M., Junot, S., 2020. Evaluation of microcirculation by Sidestream Dark Field imaging: Impact of hemodynamic status on the occurrence of pressure artifacts - A pilot study.

Microvasc Res 131, 104025. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2020.104025>

Belluco, S., Sammarco, A., Sapin, P., **Lurier, T.**, Marchal, T., 2020. FOXP3, CD208, and CD206 Expression in Canine Cutaneous Histiocytoma. Veterinary Pathology.

<https://doi.org/10.1177/0300985820941818>

Sermet-Gaudelus, I., Temmam, S., Huon, C., Behillil, S., Gajdos, V., Bigot, T., **Lurier, T.**, Chrétien, D., Backovic, M., Delaunay-Moisan, A., Donati, F., Albert, M., Foucaud, E., Mesplées, B., Benoist, G., Faye, A., Duval-Arnould, M., Cretolle, C., Charbit, M., Aubart, M., Auriau, J., Lorrot, M., Kariyawasam, D., Fertitta, L., Orliaguet, G., Pigneur, B., Bader-Meunier, B., Briand, C., Enouf, V., Toubiana, J., Guillemot, T., Werf, S. van der, Leruez-Ville, M., Eloit, M., 2021. Prior infection by seasonal coronaviruses, as assessed by serology, does not prevent SARS-CoV-2 infection and disease in children, France, April to June 2020. Eurosurveillance 26, 2 001 782. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.13.2001782>

### II.1.2 Articles publiés dans des revues nationales à comité de lecture

Rigaud, P., Bourgoïn, G., Camuset, P., **Lurier, T.**, 2019. Un cas d'échec de traitement sélectif de la dictyocaulose avec de l'éprinomectine injectable dans un troupeau de vaches laitières. Bulletin des GTV 93–102.

Kerkour, A., Jankjowiak, B., **Lurier, T.**, Cherifi, B., Le Borgne, M., Frikha, R., 2020. Traitement des complications d'une fracture chez un veau nouveau-né. Le Point Vétérinaire 50, 84–89.

### II.1.3 Articles publiés dans des revues nationales destinés au professionnel

Barde, C., Ayrat, F., Jourdain, E., **Lurier, T.**, Rousset, E., 2021. Fièvre Q. De la fiabilité des tests sérologiques. Semaine Vétérinaire 26–27.

Herve-Quartier, V., Ayrat, F., Jourdain, E., **Lurier, T.**, Rousset, E., 2021. Bonne fiabilité des tests sérologiques. RÉUSSIR LA CHÈVRE vol 365, p 40.

### II.1.4 Thèses d'exercices vétérinaires co-encadrées

Hilaire, T., 2018. Suivi longitudinal de l'analyse de cytologie sur lavage broncho-alvéolaire : évaluation de l'efficacité d'un traitement sélectif à l'échelle groupe lors de dictyocaulose bovine (Thèse de Doctorat Vétérinaire). Vetagro Sup.

Besson, R., 2019. Les autovaccins en médecine vétérinaire, utilisations chez les ruminants, perspectives et réglementation (Thèse de Doctorat Vétérinaire). Vetagro Sup.

Betton, M., 2020. La prise en charge de la kératoconjonctivite infectieuse bovine : médecine factuelle et pratique sur le terrain (Thèse de Doctorat Vétérinaire). Vetagro Sup.

Carre, H., 2020. Estimation des performances diagnostiques de tests évaluant un état inflammatoire chez les bovins adultes au chevet du malade et au cabinet vétérinaire. (Thèse de Doctorat Vétérinaire).

Vetagro Sup.

Save, M., 2021. Influence du mode de naissance et de la complémentation en post-biotiques sur la mise en place du microbiote intestinal : étude chez des veaux charolais (Thèse de Doctorat Vétérinaire). Vetagro Sup.

#### II.1.5 Communication orale

**Lurier, T.**, Hilaire, T., Henon, C., Bourgoïn, G., Arcangioli, M.-A., 2019. Pertinence d'un traitement sélectif à l'échelle groupe lors de dictyocaulose bovine. Presented at the Journée nationale de la SNGTV, Nantes, pp. 319–324.

Rigaud, P., Bourgoïn, G., Camuset, P., **Lurier, T.**, 2019. Cas clinique de dictyocaulose. Exemple d'échec d'un traitement sélectif de la dictyocaulose avec de l'éprinomectine injectable dans un troupeau de vaches laitières. Presented at the Journée nationale de la SNGTV, Nantes, pp. 307–318.

Mittag, L., Tortereau, A., Virieux-WatreLOT, D., Arcangioli, M.-A., Gonthier, A., **Lurier, T.**, 2019. Cas clinique de listériose caprine et attitude à adopter en cas de transformation fermière du lait. Presented at the Journée nationale de la SNGTV, Nantes, pp. 533–588.

**Lurier, T.**, Le Borgne, M., Buronfosse, T., Grancher, D., 2020. Suspicion d'intoxication à l'Amarante et hypocalcémies en milieu de lactation dans un élevage bovin laitier. Presented at the Journée nationale de la SNGTV, Poitiers, pp. 43–48.

**Lurier, T.**, Ledoux, D., Le Borgne, M., 2020. Gestion d'une arthrite septique digitale par arthrodèse de l'articulation interphalangienne distale chez une génisse Holstein de haute valeur génétique. Presented at the Journée nationale de la SNGTV, Poitiers, pp. 259–266.

### III. **Autres activités**

#### III.1.1 Participation à des actions de coopération internationale

COST ACTION CA18208 : Harmony, Novel tools for test evaluation and disease prevalence estimation

Membre du comité de management et participation à trois groupes de travail :

- Working Group 2: Evaluation of diagnostic tests with BLCMs
- Working Group 3: Estimation of true disease prevalence with BLCMs
- Working Group 4: Certification of disease freedom BLCMs

COST Action CA17110: Standardizing OUtput-based surveillance to control Non-regulated Diseases of cattle in the EU (SOUND control)

Membre additionnel du groupe de travail 3 : WG3 – Evaluation of existing methods

## B. ANNEXES PARTIE 1

### I. Cross-classified test results in each department and verification of the hypothesis of constant accuracy across populations

#### I.1. Crosse-classified test results

Tables 1, 2 and 3 present the number of cattle, goats and sheep, respectively in each of the eight categories of cross-classified test results for each department. The variations observed in the number of animals in each category and department seem compatible with variations in seroprevalence in each department, except for the number of cattle in the category  $T_1^+T_2^-T_3^-$  in department G. There were 37 cattle positive to test 1 and negative to tests 2 and 3, whereas there were only a few animals in this category in the other departments and species. This observation led us to question the assumption of constant accuracy of tests in each population, particularly for test 1 in cattle. Therefore, for cattle, we ran the model in department G and in the 9 other departments independently.

*Table 1: Number of cattle in each of the eight categories of cross-classified test results in each department.*

Cattle									
dpt	$T_1^-T_2^-T_3^-$	$T_1^-T_2^-T_3^+$	$T_1^-T_2^+T_3^-$	$T_1^-T_2^+T_3^+$	$T_1^+T_2^-T_3^-$	$T_1^+T_2^-T_3^+$	$T_1^+T_2^+T_3^-$	$T_1^+T_2^+T_3^+$	Total
A	134	4	0	0	1	1	0	3	143
B	135	12	0	1	5	2	1	1	157
C	80	21	0	0	1	7	1	40	150
D	130	6	0	1	1	3	1	39	181
E	89	15	0	0	6	8	6	31	155
F	111	13	0	0	0	3	1	33	161
G	114	2	0	0	37	1	0	1	155
H	143	2	0	1	0	0	0	4	150
I	138	5	0	0	2	3	1	3	152
J	8	0	0	0	0	0	0	1	9

Table 2: Number of goats in each of the eight categories of cross-classified test results in each department.

Goats									
dpt	$T_1^-T_2^-T_3^-$	$T_1^-T_2^-T_3^+$	$T_1^-T_2^+T_3^-$	$T_1^-T_2^+T_3^+$	$T_1^+T_2^-T_3^-$	$T_1^+T_2^-T_3^+$	$T_1^+T_2^+T_3^-$	$T_1^+T_2^+T_3^+$	Total
A	63	14	1	13	1	0	3	59	154
B	68	28	2	13	2	1	3	44	161
C	181	15	0	0	0	3	0	2	201
D	42	9	3	25	1	3	4	88	175
E	123	6	0	7	1	3	0	12	152
F	114	10	0	0	2	0	1	7	134
G	68	22	5	15	0	0	3	33	146
H	9	1	1	0	0	0	0	0	11
I	132	13	0	4	0	0	0	4	153
J	72	24	3	20	2	1	4	61	187

Table 3: Number of sheep in each of the eight categories of cross-classified test results in each department.

Sheep									
dpt	$T_1^-T_2^-T_3^-$	$T_1^-T_2^-T_3^+$	$T_1^-T_2^+T_3^-$	$T_1^-T_2^+T_3^+$	$T_1^+T_2^-T_3^-$	$T_1^+T_2^-T_3^+$	$T_1^+T_2^+T_3^-$	$T_1^+T_2^+T_3^+$	Total
A	91	27	0	10	2	0	0	35	165
B	94	28	5	11	0	0	2	22	162
C	145	3	0	0	1	0	0	0	149
D	124	2	8	4	0	0	0	7	145
E	142	10	0	0	0	0	0	3	155
F	154	1	1	0	1	0	0	0	157
G	161	0	0	0	0	0	0	0	161
H	91	25	3	4	3	2	0	18	146
I	124	15	9	3	2	1	0	2	156
J	24	2	1	0	0	0	0	9	36

## 1.2. Hypothesis of constant accuracy across populations

To check whether the assumption of constant accuracy across each population remains valid in sheep and goats, and in the 9 other departments for cattle, we run the model independently in each department taking the posterior distribution of the complete model as a prior for the analysis. Including posterior distribution as a prior at this step ensured that the model converged, even in departments with low within-herd variability (especially in departments where most herds are seropositive or seronegative). Figures 1 and 2 present the posterior estimate of sensitivities and specificities, respectively in each department.

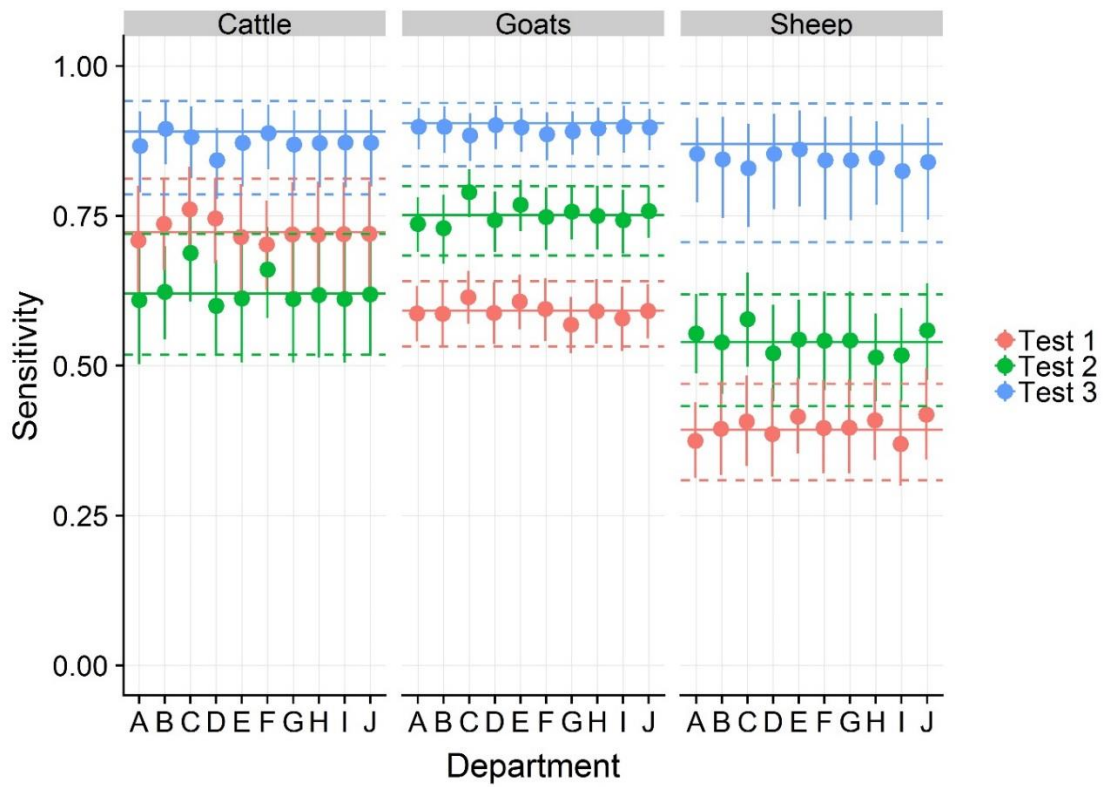


Figure 1: Posterior estimates of the sensitivities in each department and in each species. Points and plain lines colored according to the test represent their point estimates and their 95% credibility interval. Plain and dashed horizontal lines represent the posterior estimates of the global model (considering all “departments”), which have been used as a prior for this analysis.

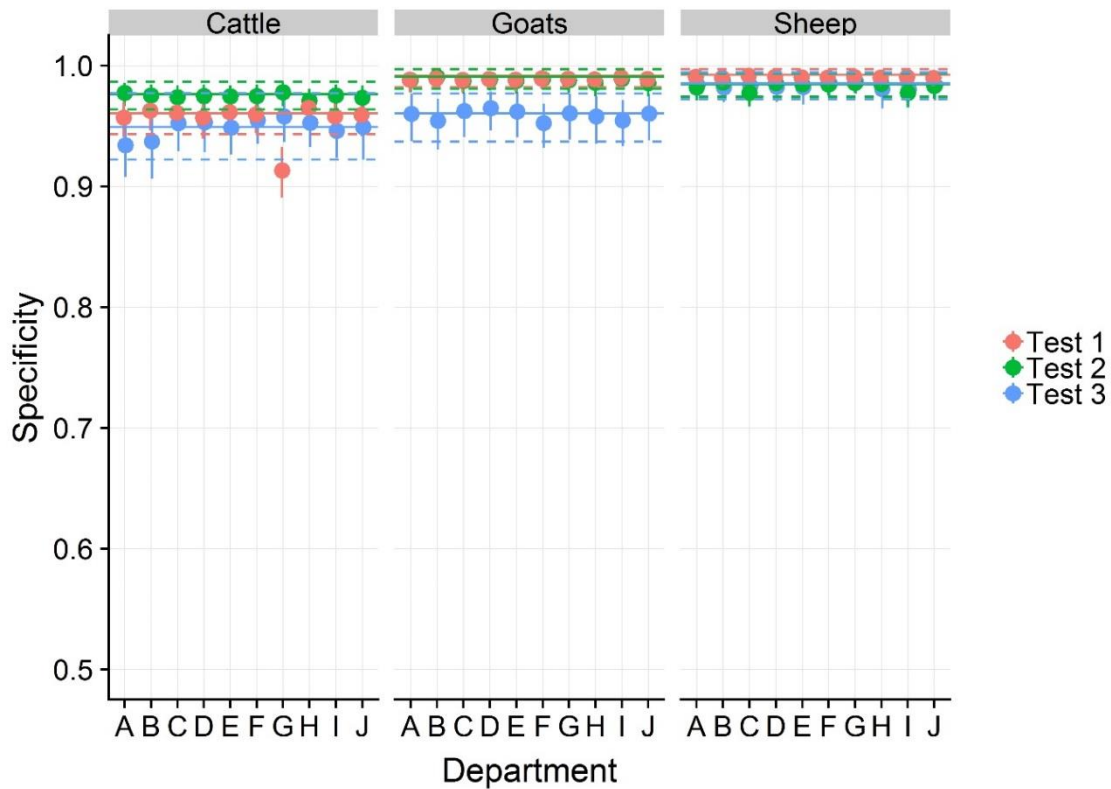


Figure 2: Posterior estimates of the specificities in each department and in each species. Points and plain lines colored according to the test represent their point estimates and their 95% credibility interval. Plain and dashed horizontal lines represent the posterior estimates of the global model (considering all “departments”), which have been used as a prior for this analysis.

horizontal lines represent the posterior estimates of the global model in all departments, which has been used as a prior for this analysis.

## II. Complete specifications of the model

In this section, we detail the specifications of the model, and provide a description of the probability vector of the multinomial distribution of  $n_{ij}$  the number of animals in each of the eight combinations of the free test results in the  $j$  th herd of the  $i$  th department in Table 4 and the inequality constraints included in the model.

Table 4: Probability vector of the multinomial distribution of  $n_{ij}$  the number of animals in each of the eight combinations of the free test results in the  $j$  th herd of the  $i$  th department (for example, the  $T_1^-T_2^+T_3^-$  category corresponds to a serum with a positive test 2 and negative tests 1 and 3).

P	Category	Probability
$p_{ij}$ [1]	$T_1^-T_2^-T_3^-$	$WHP_{ij} \times ((1 - Se_1) \times (1 - Se_2) \times (1 - Se_3) + \gamma_{Se000}) +$ $(1 - WHP_{ij}) \times (Sp_1 \times Sp_2 \times Sp_3 + \gamma_{Sp000})$
$p_{ij}$ [2]	$T_1^-T_2^-T_3^+$	$WHP_{ij} \times ((1 - Se_1) \times (1 - Se_2) \times Se_3 + \gamma_{Se001}) +$ $(1 - WHP_{ij}) \times (Sp_1 \times Sp_2 \times (1 - Sp_3) + \gamma_{Sp001})$
$p_{ij}$ [3]	$T_1^-T_2^+T_3^-$	$WHP_{ij} \times ((1 - Se_1) \times Se_2 \times (1 - Se_3) + \gamma_{Se010}) +$ $(1 - WHP_{ij}) \times (Sp_1 \times (1 - Sp_2) \times Sp_3 + \gamma_{Sp010})$
$p_{ij}$ [4]	$T_1^-T_2^+T_3^+$	$WHP_{ij} \times ((1 - Se_1) \times Se_2 \times Se_3 + \gamma_{Se011}) +$ $(1 - WHP_{ij}) \times (Sp_1 \times (1 - Sp_2) \times (1 - Sp_3) + \gamma_{Sp011})$
$p_{ij}$ [5]	$T_1^+T_2^-T_3^-$	$WHP_{ij} \times (Se_1 \times (1 - Se_2) \times (1 - Se_3) + \gamma_{Se100}) +$ $(1 - WHP_{ij}) \times ((1 - Sp_1) \times Sp_2 \times Sp_3 + \gamma_{Sp100})$
$p_{ij}$ [6]	$T_1^+T_2^-T_3^+$	$WHP_{ij} \times (Se_1 \times (1 - Se_2) \times Se_3 + \gamma_{Se101}) +$ $(1 - WHP_{ij}) \times ((1 - Sp_1) \times Sp_2 \times (1 - Sp_3) + \gamma_{Sp101})$
$p_{ij}$ [7]	$T_1^+T_2^+T_3^-$	$WHP_{ij} \times (Se_1 \times Se_2 \times (1 - Se_3) + \gamma_{Se110}) +$ $(1 - WHP_{ij}) \times ((1 - Sp_1) \times (1 - Sp_2) \times Sp_3 + \gamma_{Sp110})$
$p_{ij}$ [8]	$T_1^+T_2^+T_3^+$	$WHP_{ij} \times (Se_1 \times Se_2 \times Se_3 + \gamma_{Se111}) +$ $(1 - WHP_{ij}) \times ((1 - Sp_1) \times (1 - Sp_2) \times (1 - Sp_3) + \gamma_{Sp111})$

According to Wang et al.(Wang et al., 2017b), because of the total probability law, 8 of the 16 conditional dependence terms were expressed as a function of the eight others, according to the following equations:

$$\begin{aligned}
\gamma_{Se100} &= \gamma_{Se011} + \gamma_{Se111} - \gamma_{Se000} & \gamma_{Sp100} &= \gamma_{Sp011} + \gamma_{Sp111} - \gamma_{Sp000} \\
\gamma_{Se101} &= -(\gamma_{Se001} + \gamma_{Se011} + \gamma_{Se111}) & \gamma_{Sp101} &= -(\gamma_{Sp001} + \gamma_{Sp011} + \gamma_{Sp111}) \\
\gamma_{Se110} &= \gamma_{Se000} + \gamma_{Se001} - \gamma_{Se111} & \text{and } \gamma_{Sp110} &= \gamma_{Sp000} + \gamma_{Sp001} - \gamma_{Sp111} \\
\gamma_{Se010} &= -(\gamma_{Se000} + \gamma_{Se001} + \gamma_{Se011}) & \gamma_{Sp010} &= -(\gamma_{Sp000} + \gamma_{Sp001} + \gamma_{Sp011})
\end{aligned}$$

As every marginal probability in Table 1 belongs to  $[0;1]$ , each of the 16 conditional terms were constrained by the following inequalities:

$$\begin{aligned}
& -Se_1 \times Se_2 \times Se_3 < \gamma_{Se111} < \min(Se_1, \min(Se_2, Se_3)) - Se_1 \times Se_2 \times Se_3 \\
& -(1 - Se_1) \times Se_2 \times Se_3 < \gamma_{Se011} < \min((1 - Se_1), \min(Se_2, Se_3)) - (1 - Se_1) \times Se_2 \times Se_3 \\
& -(1 - Se_1) \times (1 - Se_2) \times Se_3 < \gamma_{Se001} < \min((1 - Se_1), \min((1 - Se_2), Se_3)) - (1 - Se_1) \times (1 - Se_2) \times Se_3 \\
& -(1 - Se_1) \times (1 - Se_2) \times (1 - Se_3) < \gamma_{Se000} < \min((1 - Se_1), \min((1 - Se_2), (1 - Se_3))) - (1 - Se_1) \times (1 - Se_2) \times (1 - Se_3) \\
& -Se_1 \times (1 - Se_2) \times (1 - Se_3) < \gamma_{Se100} < \min(Se_1, \min((1 - Se_2), (1 - Se_3))) - Se_1 \times (1 - Se_2) \times (1 - Se_3) \\
& -Se_1 \times (1 - Se_2) \times Se_3 < \gamma_{Se101} < \min(Se_1, \min((1 - Se_2), Se_3)) - Se_1 \times (1 - Se_2) \times Se_3 \\
& -Se_1 \times Se_2 \times (1 - Se_3) < \gamma_{Se110} < \min(Se_1, \min(Se_2, (1 - Se_3))) - Se_1 \times Se_2 \times (1 - Se_3) \\
& -(1 - Se_1) \times Se_2 \times (1 - Se_3) < \gamma_{Se010} < \min((1 - Se_1), \min(Se_2, (1 - Se_3))) - (1 - Se_1) \times Se_2 \times (1 - Se_3) \\
& -Sp_1 \times Sp_2 \times Sp_3 < \gamma_{Sp000} < \min(Sp_1, \min(Sp_2, Sp_3)) - Sp_1 \times Sp_2 \times Sp_3 \\
& -(1 - Sp_1) \times Sp_2 \times Sp_3 < \gamma_{Sp100} < \min((1 - Sp_1), \min(Sp_2, Sp_3)) - (1 - Sp_1) \times Sp_2 \times Sp_3 \\
& -(1 - Sp_1) \times (1 - Sp_2) \times Sp_3 < \gamma_{Sp110} < \min((1 - Sp_1), \min((1 - Sp_2), Sp_3)) - (1 - Sp_1) \times (1 - Sp_2) \times Sp_3 \\
& -(1 - Sp_1) \times (1 - Sp_2) \times (1 - Sp_3) < \gamma_{Sp111} < \min((1 - Sp_1), \min((1 - Sp_2), (1 - Sp_3))) - (1 - Sp_1) \times (1 - Sp_2) \times (1 - Sp_3) \\
& -Sp_1 \times (1 - Sp_2) \times (1 - Sp_3) < \gamma_{Sp011} < \min(Sp_1, \min((1 - Sp_2), (1 - Sp_3))) - Sp_1 \times (1 - Sp_2) \times (1 - Sp_3) \\
& -Sp_1 \times (1 - Sp_2) \times Sp_3 < \gamma_{Sp010} < \min(Sp_1, \min((1 - Sp_2), Sp_3)) - Sp_1 \times (1 - Sp_2) \times Sp_3 \\
& -Sp_1 \times Sp_2 \times (1 - Sp_3) < \gamma_{Sp001} < \min(Sp_1, \min(Sp_2, (1 - Sp_3))) - Sp_1 \times Sp_2 \times (1 - Sp_3) \\
& -(1 - Sp_1) \times Sp_2 \times (1 - Sp_3) < \gamma_{Sp101} < \min((1 - Sp_1), \min(Sp_2, (1 - Sp_3))) - (1 - Sp_1) \times Sp_2 \times (1 - Sp_3)
\end{aligned}$$

To avoid the unidentifiability problem related to the mirror image with the same likelihood (when the model switches the labels of truly positive and truly negative results), we also constrained the sensitivities to be greater than the complement of the respective specificities. Then, we specified in the model that:

$$\begin{aligned}
Se_1 &> 1 - Sp_1 \\
Se_2 &> 1 - Sp_2 \\
Se_3 &> 1 - Sp_3
\end{aligned}$$

A runnable version of the model with the data set is also provided in the .zip file of the supplementary data in [online version of this article](#).



### III. Simulation study

The objectives of the simulation study were to assess (1) the potential bias and coverage probability of the latent class model when used to assess the sensitivities and specificities of the three diagnostic tests in a context similar to the one observed on the study dataset, and (2) the impact of using two different prior distributions for conditional dependence terms. We performed the simulations independently for goats, sheep and cattle.

Five simulation scenarios were considered. We generated 100 datasets per scenario. In these datasets, the numbers of herds per department, and of animals per herd, were set as equal to the sample size observed in the corresponding species (see Tableau B-1 of the main manuscript for details). We analyzed all simulated datasets with two LCMs. The first LCM (hereafter named “Cauchy”) was identical to the LCM performed on the study dataset; it used a Cauchy prior distribution of location 0 and scale 0.039 for conditional dependence terms. The second LCM (hereafter named “Unif”) was similar to the LCM performed on the study dataset, but a uniform prior distribution between -0.5 and 0.5 was used for conditional dependence terms.

#### III.1. Description of the five scenarios used to create simulation datasets

Because the main parameters of interest were sensitivity, specificity and conditional dependence terms, the only parameters we changed between the five scenarios, for each species, were sensitivity, specificity or conditional dependence terms. Serorevalence terms (between-herd seroprevalence in every department and the hyperparameters ( $\gamma_p$  and  $\mu_p$ ) for within-herd seroprevalence) were set at their respective estimated values in each species for the five scenarios (see Table E1 of Appendix E for details). The five scenarios were set to represent five plausible situations related to the estimations of the main manuscript (Table 5):

- Scenario 1, named “original scenario” corresponds to the original values assessed in the current study (Table E1)
- Scenario 2, named “High Se, High Sp and conditional independence scenario”, corresponds to a situation where tests are conditionally independent and sensitivity and specificity are consequently higher than in the original scenario
- Scenario 3, named “High Se, original Sp and low conditional dependence”, corresponds to a situation where tests are more sensitive and specific and less conditionally dependent than in the original scenario
- Scenario 4, named “Low Se, original Sp and conditional dependence”, corresponds to a situation where tests are less sensitive but equally specific to those in the original scenario and still conditionally dependent
- Scenario 5, named “Low Sp for test 3 only”, corresponds to the original situation, except that the specificity of one test (test 3) is set to a lower value.

As the sensitivity and specificity of the three tests varied broadly between tests and species, and with the aim of standardizing the deviation from the original scenario, we used a logit link to fix the values of the low and high parameters as follows:

$$Se_{Low} = \text{logit}^{-1}(\text{logit}(Se_{Original}) - 1)$$

$$Se_{High} = \text{logit}^{-1}(\text{logit}(Se_{Original}) + 1)$$

$$Sp_{High} = \text{logit}^{-1}(\text{logit}(Sp_{Original}) + 1)$$

Where,  $Se_{Original}$  and  $Sp_{Original}$  are respectively the sensitivity and specificity values assessed in the main manuscript,  $\text{logit}$  is the logit link function defined as  $\text{logit}(x) = \ln\left(\frac{x}{1-x}\right)$

$\text{logit}^{-1}$  is the inverse logit function defined as  $\text{logit}^{-1}(x) = \frac{\exp(x)}{1 + \exp(x)}$ .

In scenario 5, deviations from the original value of the specificity of test 3 ( $Sp_3$ ) was chosen to be slightly higher than for other tests (as in scenarios 1 to 4) in order to assess the stability of the estimations if one of the tests had a specificity much lower than the others.

$$Sp_{3Low} = \text{logit}^{-1}\left(\text{logit}(Sp_{3Original}) - 1.5\right)$$

For scenarios in which tests are conditionally dependent (scenarios 1, 3, 4 and 5), all conditional dependence terms have to be fixed while respecting their inequality constraints (see Appendix B for details). To do so, we ensure that, for each conditional term, the ratio between its value and the maximum value allowed by its respective constraints stays as close as possible to the corresponding ratio in the original scenario.

As an example, we detail the calculation of  $\gamma_{Se111SC3}$ , i.e. the value of  $\gamma_{Se111}$  in scenario 3. The inequality constraint of  $\gamma_{Se111}$  is expressed as follows:

$$-Se_1 \times Se_2 \times Se_3 < \gamma_{Se111} < \min(Se_1, \min(Se_2, Se_3)) - Se_1 \times Se_2 \times Se_3$$

Then the maximum possible value of  $\gamma_{Se111}$  in the original scenario is equal to:

$$\max(\gamma_{Se111})_{SC1} = \min(Se_{1SC1}, \min(Se_{2SC1}, Se_{3SC1})) - Se_{1SC1} \times Se_{2SC1} \times Se_{3SC1}$$

Where  $Se_{1SC1}$ ,  $Se_{2SC1}$  and  $Se_{3SC1}$  are the sensitivity of tests 1, 2 and 3, respectively in the original scenario.

The ratio between  $\gamma_{Se111SC1}$  and its maximum values is noted  $Ratio_{MAX}(\gamma_{Se111})$  and is equal to:

$$Ratio_{MAX}(\gamma_{Se111}) = \frac{\gamma_{Se111SC1}}{\min(Se_{1SC1}, \min(Se_{2SC1}, Se_{3SC1})) - Se_{1SC1} \times Se_{2SC1} \times Se_{3SC1}}$$

Finally, we fixed  $\gamma_{Se111SC3}$  the value of  $\gamma_{Se111}$  in scenario 3 as follows:

$$\gamma_{Se111SC3} = Ratio_{MAX}(\gamma_{Se111}) \times \left(\min(Se_{1SC3}, \min(Se_{2SC3}, Se_{3SC3})) - Se_{1SC3} \times Se_{2SC3} \times Se_{3SC3}\right)$$

Where  $Se_{1SC3}$ ,  $Se_{2SC3}$  and  $Se_{3SC3}$  are the sensitivity of tests 1, 2 and 3, respectively in scenario 3.

We applied the same procedure for other conditional dependence terms and scenarios. After following this procedure, when certain inequality constraints were still not satisfied, we arbitrarily chose values for the corresponding parameters near to the one calculated as described above.

The set of values used to simulate the datasets of scenarios 1 to 5 is provided in Table 5.

Table 5: Values of sensitivity, specificity and conditional dependence terms used to generate 100 datasets for each scenario.

Parameters	Goats					Sheep					Cattle				
	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5
$Se_1$	0.592	0.797	0.797	0.348	0.59	0.395	0.639	0.639	0.193	0.395	0.723	0.876	0.876	0.489	0.723
$Se_2$	0.751	0.891	0.891	0.525	0.751	0.541	0.762	0.762	0.302	0.541	0.621	0.816	0.816	0.376	0.621
$Se_3$	0.905	0.962	0.962	0.778	0.905	0.871	0.948	0.948	0.712	0.871	0.891	0.956	0.956	0.75	0.891
$Sp_1$	0.991	0.996	0.991	0.991	0.991	0.992	0.997	0.992	0.992	0.992	0.960	0.984	0.960	0.960	0.960
$Sp_2$	0.991	0.996	0.991	0.991	0.991	0.984	0.994	0.984	0.984	0.984	0.976	0.991	0.976	0.976	0.976
$Sp_3$	0.96	0.984	0.96	0.96	0.842	0.985	0.994	0.985	0.985	0.936	0.949	0.980	0.949	0.949	0.805
$\gamma_{Se000}$	0.013	0	0.006	0.013	0.013	0.01	0	0.005	0.020	0.01	0.015	0	0.007	0.015	0.015
$\gamma_{Se001}$	0.098	0	0.054	0.098	0.098	0.137	0	0.098	0.085	0.137	0.136	0	0.075	0.136	0.136
$\gamma_{Se011}$	-0.106	0	-0.053	-0.106	-0.106	-0.154	0	-0.09	-0.12	-0.154	-0.142	0	-0.081	-0.142	-0.142
$\gamma_{Se111}$	0.124	0	0.074	0.124	0.124	0.166	0	0.125	0.12	0.166	0.160	0	0.096	0.160	0.160
$\gamma_{Sp000}$	0.002	0	0.002	0.002	0	0.005	0	0.005	0.005	0	0.046	0	0.046	0.046	0
$\gamma_{Sp001}$	0.001	0	0.001	0.001	0	-0.003	0	-0.003	-0.003	0	-0.027	0	-0.027	-0.027	0
$\gamma_{Sp011}$	0.011	0	0.011	0.011	0	0.001	0	0.001	0.001	0	0.001	0	0.001	0.001	0
$\gamma_{Sp111}$	-0.007	0	-0.007	-0.007	0	0.001	0	0.001	0.001	0	0.018	0	0.018	0.018	0

### III.2. Assessment of estimator performances

Accuracy of the sensitivity and specificity estimators was initially assessed graphically by plotting the “boxplot” of the 100 point estimates of the sensitivity and specificity values obtained with the five simulation scenarios in goats, sheep and cattle (Figures 3, 4 and 5 respectively).

We calculated the mean bias (Tables 6 and 8 for the “Cauchy” and “Unif” models, respectively) and the coverage probability (Table 7 and 9 for the “Cauchy” and “Unif” models, respectively) corresponding to all parameters of each scenario and species. Finally, we compared the quadratic error mean of all sensitivity and specificity estimators between both models (Tables 10, 11 and 12 for cattle, sheep and goats, respectively).

For each parameter, the mean bias was defined as the mean difference between its point estimates and the value used to simulate the datasets:

$$\overline{Bias}(X) = \frac{\sum_{k=1}^{Nsim} (\tilde{X}_k - X_{Sim})}{Nsim} \quad \text{Where } \overline{Bias}(X) \text{ is the mean bias of the parameter named } X, \tilde{X}_k \text{ is}$$

the point estimate of  $X$  obtained from the  $k^{th}$  simulated dataset, and  $X_{Sim}$  is the “true” value of  $X$  used to simulate the dataset in the corresponding scenario.

For each parameter, the coverage probability was defined as the number out of 100 of 95% credible intervals which includes the value used to simulate the datasets.

For each parameter, the quadratic error mean was defined as the mean of the square of the difference between its point estimates and the value used to simulate the datasets as follows:

$$\overline{QEM}(X) = \frac{\sum_{k=1}^{Nsim} (\tilde{X}_k - X_{Sim})^2}{Nsim} \quad \text{Where } \overline{QEM}(X) \text{ is the quadratic error mean of the parameter named } X$$

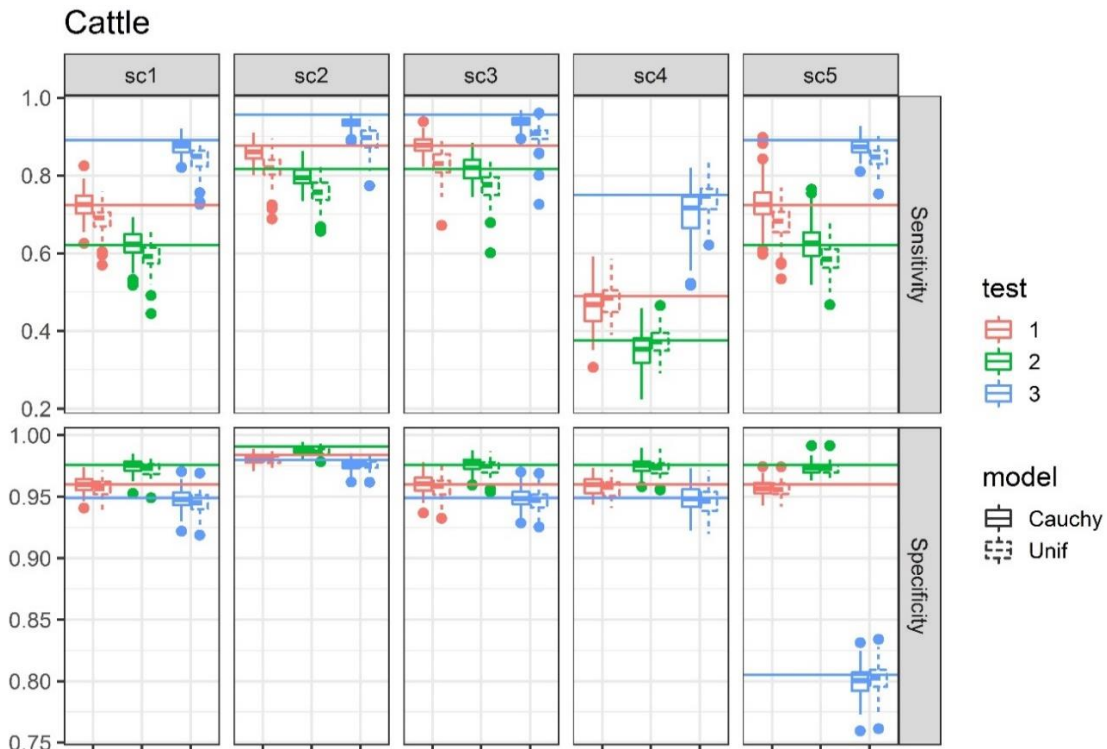


Figure 3: Boxplot of the 100 point estimates of the sensitivity and specificity values obtained with the five simulation scenarios for cattle and both prior distributions for conditional dependence terms: Cauchy (0,0.039) in plain line and uniform (-0.5,0.5) in dotted line. Plain horizontal lines represent the expected value of each parameter used to generate the dataset in the corresponding scenario.

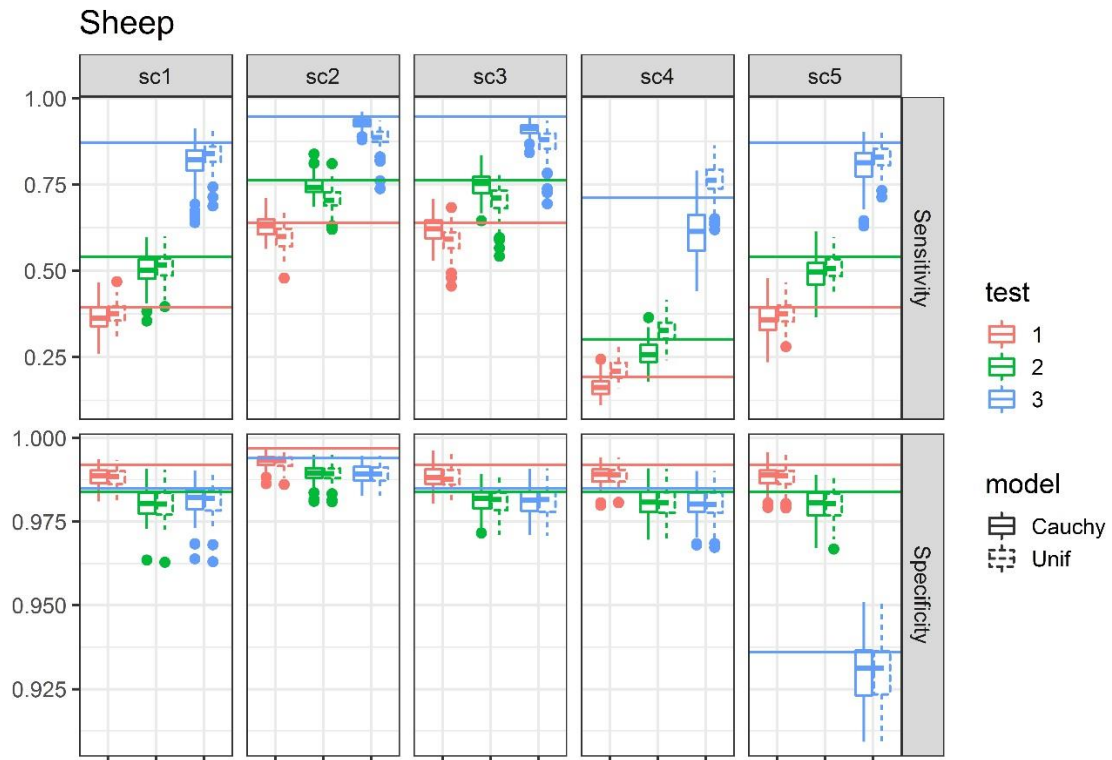


Figure 4: Boxplot of the 100 point estimates of the sensitivity and specificity values obtained with the five simulation scenarios for sheep and both prior distributions for conditional dependence terms: Cauchy (0,0.039) in plain line and uniform (-0.5,0.5) in dotted line. Plain horizontal lines represent the expected value of each parameter used to generate the dataset in the corresponding scenario.

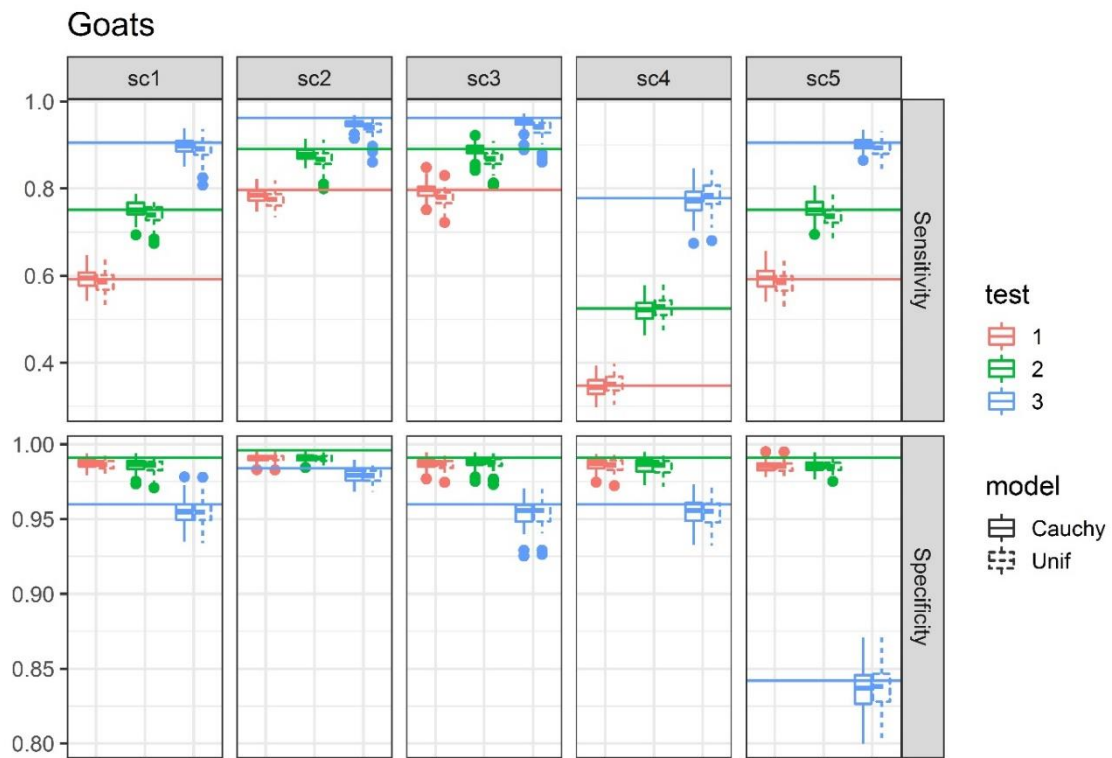


Figure 5: Boxplot of the 100 point estimates of the sensitivity and specificity values obtained with the five simulation scenarios for cattle and both prior distributions for conditional dependence terms: Cauchy (0,0.039) in plain line and uniform (-0.5,0.5) in dotted line. Plain horizontal lines represent the expected value of each parameter used to generate the dataset in the corresponding scenario.

Table 6: Mean bias of sensitivity and specificity estimators obtained with the “Cauchy” model for the five scenarios in the three species

Parameters	Goats					Sheep					Cattle				
	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5
Se1	0.0010	-0.0122	-0.0015	-0.0033	0.0023	-0.0313	-0.0113	-0.0181	-0.0273	-0.0360	0.0010	-0.0151	0.0012	-0.0303	0.0077
Se2	0.0014	-0.0126	-0.0026	-0.0056	0.0026	-0.0401	-0.0172	-0.0144	-0.0418	-0.0463	-0.0019	-0.0195	0.0016	-0.0268	0.0064
Se3	-0.0081	-0.0132	-0.0102	-0.0084	-0.0043	-0.0595	-0.0192	-0.0368	-0.0984	-0.0709	-0.0179	-0.0203	-0.0174	-0.0484	-0.0178
Sp1	-0.0040	-0.0050	-0.0038	-0.0045	-0.0056	-0.0036	-0.0040	-0.0036	-0.0032	-0.0036	-0.0005	-0.0039	0.0000	-0.0014	-0.0030
Sp2	-0.0047	-0.0052	-0.0029	-0.0054	-0.0057	-0.0034	-0.0046	-0.0023	-0.0034	-0.0037	-0.0010	-0.0042	0.0000	-0.0016	-0.0029
Sp3	-0.0052	-0.0053	-0.0057	-0.0046	-0.0062	-0.0037	-0.0047	-0.0039	-0.0045	-0.0058	-0.0008	-0.0042	-0.0005	-0.0011	-0.0051
Mean	-0.0033	-0.0089	-0.0044	-0.0053	-0.0028	-0.0236	-0.0102	-0.0132	-0.0298	-0.0277	-0.0035	-0.0112	-0.0025	-0.0183	-0.0024

Table 7: Coverage probability of sensitivity and specificity estimators obtained with the “Cauchy” model for the five scenarios in the three species

Parameters	Goats					Sheep					Cattle				
	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5
Se1	0,98	0,93	0,98	0,98	0,97	0,95	0,92	0,94	0,96	0,93	0,98	0,93	0,99	0,95	0,98
Se2	1	0,90	1	1	0,97	0,91	0,91	0,96	0,92	0,96	0,97	0,92	0,96	0,95	0,99
Se3	0,99	0,87	0,94	1	1	0,97	0,92	0,83	0,96	0,96	0,98	0,88	0,92	1	0,99
Sp1	0,92	0,70	0,89	0,83	0,75	0,86	0,59	0,84	0,88	0,83	0,97	0,88	0,94	0,92	0,96
Sp2	0,85	0,62	0,95	0,76	0,79	0,92	0,72	0,93	0,93	0,92	0,98	0,81	0,96	0,91	0,91
Sp3	0,89	0,81	0,93	0,94	0,91	0,92	0,68	0,93	0,94	0,90	0,94	0,85	0,95	0,93	0,95
Mean	0.938	0.805	0.948	0.918	0.898	0.921	0.790	0.905	0.931	0.916	0.970	0.878	0.953	0.943	0.963

Table 8: Mean bias of sensitivity and specificity estimators obtained with the “Unif” model for the five scenarios in the three species

Parameters	Goats					Sheep					Cattle				
	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5
Se1	-0.0072	-0.0226	-0.0189	0.0037	-0.0086	-0.0177	-0.0437	-0.0510	0.0189	-0.0195	-0.0378	-0.0586	-0.0485	-0.0117	-0.0452
Se2	-0.0112	-0.0242	-0.0235	0.0016	-0.0133	-0.0283	-0.0547	-0.0584	0.0229	-0.0300	-0.0313	-0.0602	-0.0440	-0.0050	-0.0359
Se3	-0.0168	-0.0250	-0.0253	0.0045	-0.0133	-0.0380	-0.0634	-0.0777	0.0488	-0.0427	-0.0492	-0.0655	-0.0534	-0.0107	-0.0458
Sp1	-0.0047	-0.0052	-0.0044	-0.0052	-0.0059	-0.0039	-0.0041	-0.0039	-0.0032	-0.0038	-0.0035	-0.0040	-0.0028	-0.0038	-0.0034
Sp2	-0.0053	-0.0054	-0.0034	-0.0060	-0.0059	-0.0037	-0.0047	-0.0027	-0.0035	-0.0038	-0.0034	-0.0043	-0.0024	-0.0033	-0.0031
Sp3	-0.0056	-0.0055	-0.0055	-0.0054	-0.0050	-0.0040	-0.0048	-0.0039	-0.0047	-0.0058	-0.0035	-0.0042	-0.0025	-0.0034	-0.0028
Mean	-0.0085	-0.0147	-0.0135	-0.0011	-0.0087	-0.0159	-0.0292	-0.0330	0.0132	-0.0176	-0.0214	-0.0328	-0.0256	-0.0063	-0.0227

Table 9: Coverage probability of sensitivity and specificity estimators obtained with the “Unif” model for the five scenarios in the three species

Parameters	Goats					Sheep					Cattle				
	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5	SC1	SC2	SC3	SC4	SC5
Se1	0,98	0,86	0,94	0,99	0,96	0,97	0,89	0,87	0,98	0,93	0,97	0,78	0,83	0,99	0,94
Se2	0,98	0,85	0,93	0,99	0,98	0,95	0,86	0,81	0,99	0,99	0,94	0,75	0,87	1,00	0,99
Se3	0,98	0,72	0,85	1,00	0,99	0,98	0,74	0,71	1,00	0,97	0,95	0,57	0,81	1,00	0,97
Sp1	0,87	0,68	0,88	0,81	0,75	0,84	0,58	0,81	0,89	0,82	0,94	0,88	0,90	0,88	0,95
Sp2	0,84	0,61	0,94	0,74	0,77	0,91	0,74	0,93	0,92	0,90	0,96	0,81	0,93	0,88	0,88
Sp3	0,89	0,81	0,94	0,94	0,94	0,92	0,68	0,93	0,94	0,90	0,94	0,86	0,94	0,90	0,96
Mean	0.923	0.755	0.913	0.912	0.898	0.928	0.748	0.843	0.953	0.918	0.950	0.775	0.880	0.942	0.948

Table 10: Square roots of the quadratic error mean for sensitivity and specificity estimators obtained with both alternative prior distributions for conditional dependence terms for the five scenarios of the simulation study in cattle

Scenario	Cattle									
	SC1		SC2		SC3		SC4		SC5	
	Cauchy	Unif	Cauchy	Unif	Cauchy	Unif	Cauchy	Unif	Cauchy	Unif
Se1	0,032	0,051	0,026	0,067	0,025	0,058	0,062	0,042	0,053	0,063
Se2	0,037	0,049	0,032	0,069	0,031	0,057	0,052	0,036	0,048	0,053
Se3	0,027	0,059	0,025	0,072	0,022	0,06	0,079	0,042	0,027	0,053
Sp1	0.007	0.008	0.005	0.005	0.008	0.009	0.007	0.008	0.006	0.007
Sp2	0.005	0.007	0.005	0.005	0.006	0.007	0.006	0.007	0.006	0.006
Sp3	0.008	0.009	0.006	0.006	0.008	0.008	0.01	0.011	0.014	0.013
Mean	0.019	0.03	0.016	0.037	0.017	0.033	0.036	0.024	0.026	0.032

Table 11: Square roots of the quadratic error mean for sensitivity and specificity estimators obtained with both alternative prior distributions for conditional dependence terms for the five scenarios of the simulation study in sheep

Scenario	Sheep									
	SC1		SC2		SC3		SC4		SC5	
	Cauchy	Unif	Cauchy	Unif	Cauchy	Unif	Cauchy	Unif	Cauchy	Unif
Se1	0,049	0,035	0,032	0,056	0,041	0,065	0,04	0,034	0,059	0,042
Se2	0,061	0,046	0,032	0,063	0,039	0,074	0,056	0,041	0,068	0,046
Se3	0,08	0,054	0,024	0,071	0,041	0,089	0,124	0,068	0,094	0,058
Sp1	0.004	0.005	0.004	0.005	0.005	0.005	0.004	0.004	0.005	0.005
Sp2	0.006	0.006	0.005	0.005	0.004	0.005	0.005	0.005	0.006	0.006
Sp3	0.006	0.006	0.005	0.006	0.006	0.006	0.006	0.006	0.011	0.011
Mean	0.034	0.025	0.017	0.034	0.023	0.041	0.039	0.026	0.04	0.028

Table 12: Square roots of the quadratic error mean for sensitivity and specificity estimators obtained with both alternative prior distributions for conditional dependence terms for the five scenarios of the simulation study in goats

Scenario	Goats									
	SC1		SC2		SC3		SC4		SC5	
	Cauchy	Unif	Cauchy	Unif	Cauchy	Unif	Cauchy	Unif	Cauchy	Unif
Se1	0,023	0,024	0,021	0,03	0,017	0,027	0,022	0,021	0,024	0,026
Se2	0,02	0,025	0,019	0,031	0,015	0,03	0,026	0,024	0,022	0,027
Se3	0,019	0,028	0,016	0,03	0,016	0,032	0,034	0,033	0,015	0,023
Sp1	0.005	0.006	0.005	0.006	0.005	0.006	0.006	0.007	0.007	0.007
Sp2	0.006	0.007	0.006	0.006	0.005	0.005	0.007	0.008	0.007	0.007
Sp3	0.01	0.01	0.007	0.007	0.01	0.01	0.01	0.01	0.015	0.015
Mean	0.014	0.017	0.012	0.018	0.011	0.018	0.018	0.017	0.015	0.017



#### IV. Herd sensitivity, herd specificity

We considered a sample plan consisting of submitting  $N_{sample}$  animals from one herd of size  $N_{herd}$  to a test of sensitivity  $Se$  and of specificity  $Sp$ . The herd was considered positive if at least 1 animal sampled is positive to the test (i.e. if  $N_{pos_{sample}}$ , the number of sampled positive animals is greater than or equal to 1). The within-herd seroprevalence  $WHP$  was unknown but followed a beta distribution of location and precision parameters noted  $\mu_p$  and  $\gamma_p$ , respectively:

$$(1.1) \quad WHP \sim \text{beta} \left( \mu_p \times \frac{(1 - \gamma_p)}{\gamma_p}, (1 - \mu_p) \times \frac{(1 - \gamma_p)}{\gamma_p} \right)$$

The objective of the study based on this sample plan was to identify all seropositive herds regardless of their  $WHP$ . We defined the corresponding herd sensitivity  $HSe_{WHP>0}$  and specificity  $HSp_{WHP=0}$  as follows:

$$(1.2) \quad \begin{aligned} HSe_{WHP>0} &= 1 - P(N_{pos_{sample}} = 0 | WHP > 0) \\ HSp_{WHP=0} &= P(N_{pos_{sample}} = 0 | WHP = 0) \end{aligned}$$

For a given  $WHP$ , we assumed that  $N_{pos_{herd}}$ , the number of potential positive animals to the test, followed a binomial distribution of size  $N_{herd}$  and of probability  $WHP \times Se + (1 - WHP) \times (1 - Sp)$ :

$$(1.3) \quad N_{pos_{herd}} \sim \text{binomial}(N_{herd}, WHP \times Se + (1 - WHP) \times (1 - Sp))$$

We assumed that  $N_{pos_{sampled}}$ , the number of positive individuals sampled, followed a hypergeometric distribution depending on the number of potential positive individuals in the herd, the herd size and the sample size ( $N_{sample}$ ):

$$(1.4) \quad N_{pos_{sampled}} \sim \text{hypergeometric}(N_{sample}, N_{herd}, N_{pos_{herd}})$$

Then, according to the total probability law, for every integer  $n \in [0 : N_{herd}]$ :

$$(1.5) \quad \begin{aligned} P(N_{pos_{sampled}} = n | N_{herd}, Se, Sp, WHP) &= \\ \sum_{x=0}^{N_{herd}} P(N_{pos_{sampled}} = n | N_{herd}, N_{sample}, N_{pos_{herd}} = x) &\times P(N_{pos_{herd}} = x | N_{herd}, Se, Sp, WHP) \end{aligned}$$

where  $P(N_{pos_{herd}} = x | N_{herd}, Se, Sp, WHP)$  was the probability density function of the binomial distribution (1.3)

$P(N_{pos_{sampled}} = n | N_{herd}, N_{sample}, N_{pos_{herd}} = x)$  was the probability density function of the hypergeometric distribution (1.4)

According to the total probability law, we then weighted and integrated the expression (1.6) across all possible  $WHP$  as follows:

$$P(Npos_{Sampled} = n | Nherd, Se, Sp) =$$

$$(1.6) \int_0^1 P(WHP = P | \mu_p, \gamma_p) \times P(Npos_{Sampled} = n | Nherd, Se, Sp, WHP = P) dP$$

Where  $P(WHP = P | \mu_p, \gamma_p)$  was the density probability function of the beta distribution (1.5)

Finally, considering a herd as positive if at least 1 animal was positive from the  $Nsampled$  animals sampled in a herd of size  $Nherd$ , we calculated the herd sensitivity corresponding to the non-free of *C. burnetii* Herd as:

$$(1.7) HSe_{WHP>0} = 1 - \int_0^1 P(WHP = P | \mu_p, \gamma_p) \times P(Npos_{Sampled} = 0 | Nherd, Se, Sp, WHP = P) dP$$

The herd specificity of this situation was calculated from the expression (1.6) because  $WHP$  was equal to 0:

$$(1.8) HSp_{WHP=0} = \sum_{x=0}^{Nherd} P(Npos_{Sampled} = 0 | Nherd, Nsample, Npos_{herd} = x) \times Sp^{Nherd-x} \times (1-Sp)^x$$

## V. Estimations of the model

Table 13: Estimations of the models for each parameter; point estimates and 95% credibility intervals (in square brackets) are the median and the 2.5 and 97.5 percentiles, respectively of the posterior distribution.

Parameter	Sheep	Goats	Cattle without department G	Cattle only in department G
$BHP_A$	0.929 [0.652;1]	0.912 [0.655;0.999]	0.078 [0;0.376]	
$BHP_B$	0.941 [0.687;1]	0.823 [0.54;0.979]	0.232 [0.011;0.602]	
$BHP_C$	0.06 [0;0.349]	0.179 [0.024;0.462]	0.969 [0.701;1]	
$BHP_D$	0.148 [0.014;0.482]	0.982 [0.82;1]	0.648 [0.29;0.965]	
$BHP_E$	0.204 [0.039;0.503]	0.275 [0.073;0.57]	0.681 [0.365;0.961]	
$BHP_F$	0.021 [0;0.212]	0.165 [0.017;0.496]	0.492 [0.216;0.79]	
$BHP_G$	0.022 [0;0.21]	0.73 [0.439;0.933]		0.071 [0;0.575]
$BHP_H$	0.965 [0.707;1]	0.196 [0;0.96]	0.023 [0;0.242]	
$BHP_I$	0.47 [0.143;0.854]	0.231 [0.05;0.525]	0.064 [0;0.457]	
$BHP_J$	0.931 [0.458;1]	0.93 [0.684;1]	0.306 [0.001;0.996]	
$Se_1$	0.395 [0.312;0.471]	0.592 [0.532;0.641]	0.723 [0.618;0.811]	0.568 [0.277;0.891]*
$Se_2$	0.541 [0.436;0.618]	0.751 [0.682;0.798]	0.621 [0.514;0.719]	0.372 [0.063;0.845]*
$Se_3$	0.871 [0.715;0.937]	0.905 [0.832;0.938]	0.891 [0.788;0.941]	0.475 [0.096;0.871]*
$Sp_1$	0.992 [0.985;0.997]	0.991 [0.982;0.997]	0.96 [0.943;0.977]	0.75 [0.676;0.86]
$Sp_2$	0.984 [0.974;0.993]	0.991 [0.98;0.997]	0.976 [0.963;0.986]	0.98 [0.952;0.994]
$Sp_3$	0.985 [0.973;0.994]	0.96 [0.936;0.976]	0.949 [0.922;0.977]	0.97 [0.931;0.993]
$\gamma_{Se000}$	0.01 [-0.023;0.108]	0.013 [-0.006;0.076]	0.015 [-0.007;0.103]	-0.003 [-0.079;0.071]
$\gamma_{Se001}$	0.137 [0.044;0.175]	0.098 [0.059;0.122]	0.136 [0.077;0.176]	0.002 [-0.061;0.076]
$\gamma_{Se011}$	-0.154 [-0.188;-0.104]	-0.106 [-0.125;-0.085]	-0.142 [-0.169;-0.108]	-0.001 [-0.065;0.066]
$\gamma_{Se111}$	0.166 [0.138;0.196]	0.124 [0.096;0.172]	0.16 [0.118;0.221]	0.005 [-0.069;0.082]
$\gamma_{Sp000}$	0.005 [0.001;0.012]	0.011 [0.004;0.024]	0.046 [0.025;0.068]	0.015 [0.001;0.04]
$\gamma_{Sp001}$	-0.003 [-0.008;-0.001]	-0.007 [-0.016;-0.002]	-0.027 [-0.039;-0.014]	-0.009 [-0.027;0.001]
$\gamma_{Sp011}$	0.001 [0;0.004]	0.001 [0;0.006]	0.001 [-0.001;0.005]	0.003 [0;0.015]
$\gamma_{Sp111}$	0.001 [0;0.004]	0.002 [0;0.009]	0.018 [0.009;0.03]	0.005 [0;0.02]
$\gamma_P$	0.204 [0.119;0.319]	0.27 [0.169;0.432]	0.224 [0.127;0.345]	0.187 [0.002;0.966]
$\mu_P$	0.432 [0.347;0.549]	0.679 [0.593;0.783]	0.478 [0.374;0.609]	0.535 [0.062;0.995]

\* Because between-herd seroprevalence is close to 0 in department G, posterior distributions of the sensitivities are close to the uninformative prior distribution used in the model; hence, point estimates of sensitivity assessed only with data from department G only are not relevant.

## VI. Sensitivity analysis

Table 14: Estimations of the models with uniform ( $Unif[-1;1]$ ) instead of Cauchy(0,0.039) prior distribution for conditional dependence terms; point estimates and 95% credibility intervals (in square brackets) are the median and the 2.5 and 97.5 percentiles, respectively of the posterior distribution.

Parameter	Sheep	Goats	Cattle without department G	Cattle only in department G
$BHP_A$	0.93 [0.654;1]	0.913 [0.659;0.999]	0.076 [0;0.377]	
$BHP_B$	0.941 [0.682;1]	0.827 [0.544;0.979]	0.225 [0.008;0.588]	
$BHP_C$	0.06 [0;0.349]	0.179 [0.024;0.456]	0.967 [0.685;1]	
$BHP_D$	0.147 [0.014;0.475]	0.981 [0.815;1]	0.61 [0.264;0.947]	
$BHP_E$	0.203 [0.04;0.502]	0.275 [0.071;0.572]	0.664 [0.359;0.944]	
$BHP_F$	0.021 [0;0.214]	0.164 [0.017;0.49]	0.474 [0.206;0.773]	
$BHP_G$	0.021 [0;0.207]	0.732 [0.443;0.934]		0.068 [0;0.55]
$BHP_H$	0.964 [0.707;1]	0.198 [0.001;0.966]	0.022 [0;0.225]	
$BHP_I$	0.475 [0.147;0.852]	0.232 [0.051;0.524]	0.05 [0;0.405]	
$BHP_J$	0.933 [0.459;1]	0.932 [0.681;1]	0.292 [0.001;0.994]	
$Se_1$	0.399 [0.322;0.472]	0.583 [0.519;0.635]	0.687 [0.567;0.783]	0.565 [0.282;0.886] *
$Se_2$	0.54 [0.446;0.616]	0.737 [0.663;0.79]	0.595 [0.481;0.696]	0.374 [0.067;0.842] *
$Se_3$	0.875 [0.737;0.939]	0.894 [0.813;0.936]	0.866 [0.721;0.936]	0.479 [0.099;0.867] *
$Sp_1$	0.992 [0.985;0.997]	0.991 [0.981;0.997]	0.956 [0.938;0.973]	0.75 [0.677;0.852]
$Sp_2$	0.984 [0.974;0.993]	0.99 [0.98;0.997]	0.973 [0.958;0.984]	0.98 [0.953;0.994]
$Sp_3$	0.985 [0.972;0.994]	0.96 [0.938;0.977]	0.945 [0.918;0.972]	0.97 [0.931;0.993]
$\gamma_{Se000}$	0.009 [-0.024;0.098]	0.024 [-0.005;0.092]	0.041 [-0.006;0.155]	-0.003 [-0.078;0.071]
$\gamma_{Se001}$	0.143 [0.059;0.18]	0.096 [0.051;0.124]	0.127 [0.04;0.177]	0.002 [-0.062;0.076]
$\gamma_{Se011}$	-0.16 [-0.192;-0.115]	-0.11 [-0.129;-0.091]	-0.15 [-0.174;-0.122]	-0.001 [-0.064;0.065]
$\gamma_{Se111}$	0.17 [0.143;0.2]	0.135 [0.102;0.185]	0.185 [0.134;0.248]	0.005 [-0.07;0.082]
$\gamma_{Sp000}$	0.005 [0.001;0.012]	0.011 [0.004;0.026]	0.053 [0.031;0.077]	0.015 [0.001;0.041]
$\gamma_{Sp001}$	-0.003 [-0.009;-0.001]	-0.007 [-0.016;-0.002]	-0.03 [-0.043;-0.017]	-0.009 [-0.026;0.001]
$\gamma_{Sp011}$	0.001 [0;0.004]	0.001 [0;0.007]	0.001 [-0.001;0.005]	0.003 [0;0.015]
$\gamma_{Sp111}$	0.001 [0;0.004]	0.002 [0;0.009]	0.021 [0.011;0.034]	0.005 [0;0.02]
$\gamma_P$	0.205 [0.12;0.314]	0.283 [0.173;0.469]	0.237 [0.13;0.384]	0.192 [0.002;0.971]
$\mu_P$	0.431 [0.347;0.54]	0.688 [0.601;0.817]	0.506 [0.39;0.672]	0.555 [0.058;0.995]

\* Because between-herd seroprevalence is close to 0 in department G, posterior distributions of the sensitivities are close to the uninformative prior distribution used in the model; Hence point estimates of sensitivity assessed only with data from department G only are not relevant.

## C. ANNEXES PARTIE 2

### I. Évaluation de l'hypothèse de l'absence d'effet du département sur les séroprévalences intra-élevages des élevages séropositifs

Afin d'évaluer si les distributions des séroprévalences intra-élevages parmi les élevages séropositifs étaient similaires dans tous les départements de l'étude, un modèle alternatif (nommé « sd\_dep\_WHP ») comprenant un effet aléatoire sur la distribution des séroprévalences intra-élevage à l'échelle du département a été construit. Les changements par rapport au modèle original sont identifiés en rouge sur le DAG du modèle alternatif présenté dans la figure 1.

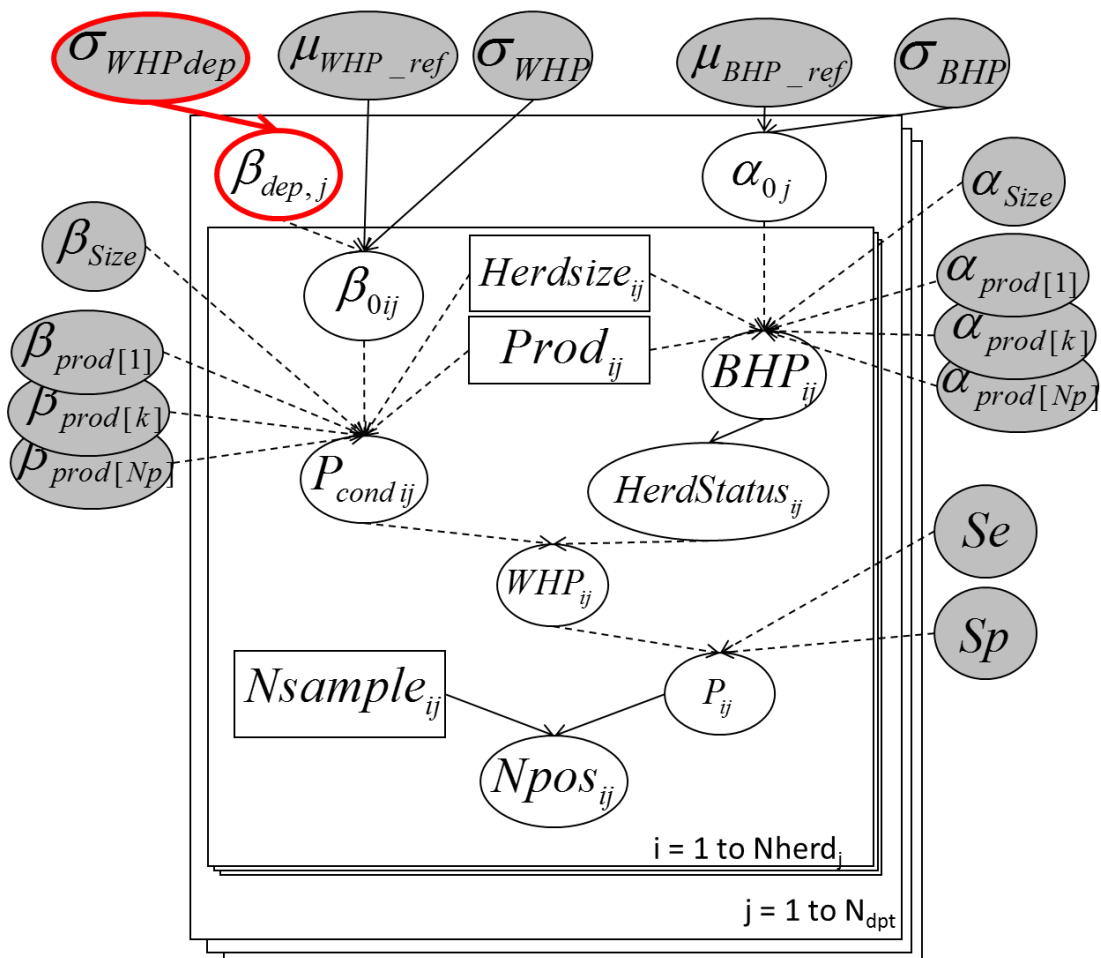


Figure 1 : DAG du modèle alternatif, chaque nœud du modèle est représenté par un cercle (pour les variables) ou un carré (pour les covariables). Les nœuds correspondant aux paramètres à estimer du modèle sont colorés en gris. Les flèches en traits pleins et pointillés représentent respectivement les liens stochastiques et déterministes. Les nœuds et liens supplémentaires par rapport au modèle original sont entourés en rouge.

Ainsi, dans le modèle « sd\_dep\_WHP », la prévalence intra-élevage conditionnelle du  $i$  ème élevage du  $j$  ème département s'exprime :

$$P_{cond\ ij} = \text{inv. logit} \left( \beta_{dep,j} + \beta_{0ij} + \beta_{size} \times Herdsize_{ij} + \beta_{Prod(Prodij)} \times Prod_{ij} \right)$$

$$\beta_{dep,j} \sim \text{Norm}(0, \sigma_{WHPdep})$$

$$\beta_{0ij} \sim \text{Norm}(\mu_{WHP}, \sigma_{WHP})$$

Avec :

- $\beta_{dep,j}$  l'effet aléatoire correspondant au  $j$  ème département qui suit une loi normale de moyenne 0 et d'écart-type  $\sigma_{WHPdep}$
- $\beta_{0ij}$  l'intercepte aléatoire correspondant au  $i$  ème élevage du  $j$  ème département  $\mu_{WHP\_ref}$  et  $\sigma_{WHP}$
- $\mu_{WHP\_ref}$  la moyenne de la distribution de la séroprévalence intra-élevage dans la classe de référence ( $Herdsize_{ij}$  égale à 0 et type de production de référence).
- $\beta_{size}$  l'effet fixe sur l'échelle logit associée au log2 centré de la taille de l'élevage (notée  $Herdsize_{ij}$ )
- $\beta_{Prod}$  le vecteur des effets fixe correspondant à chaque type de production des l'élevage

Afin d'évaluer l'impact de l'ajout de cet effet aléatoire, l'ensemble des paramètres de l'étude a été réestimé avec le modèle « sd\_dep\_WHP » et comparé avec les estimations obtenues avec le modèle original (figure 2). Le modèle « sd\_dep\_WHP » est inclus dans l'étude de simulation (II.3).

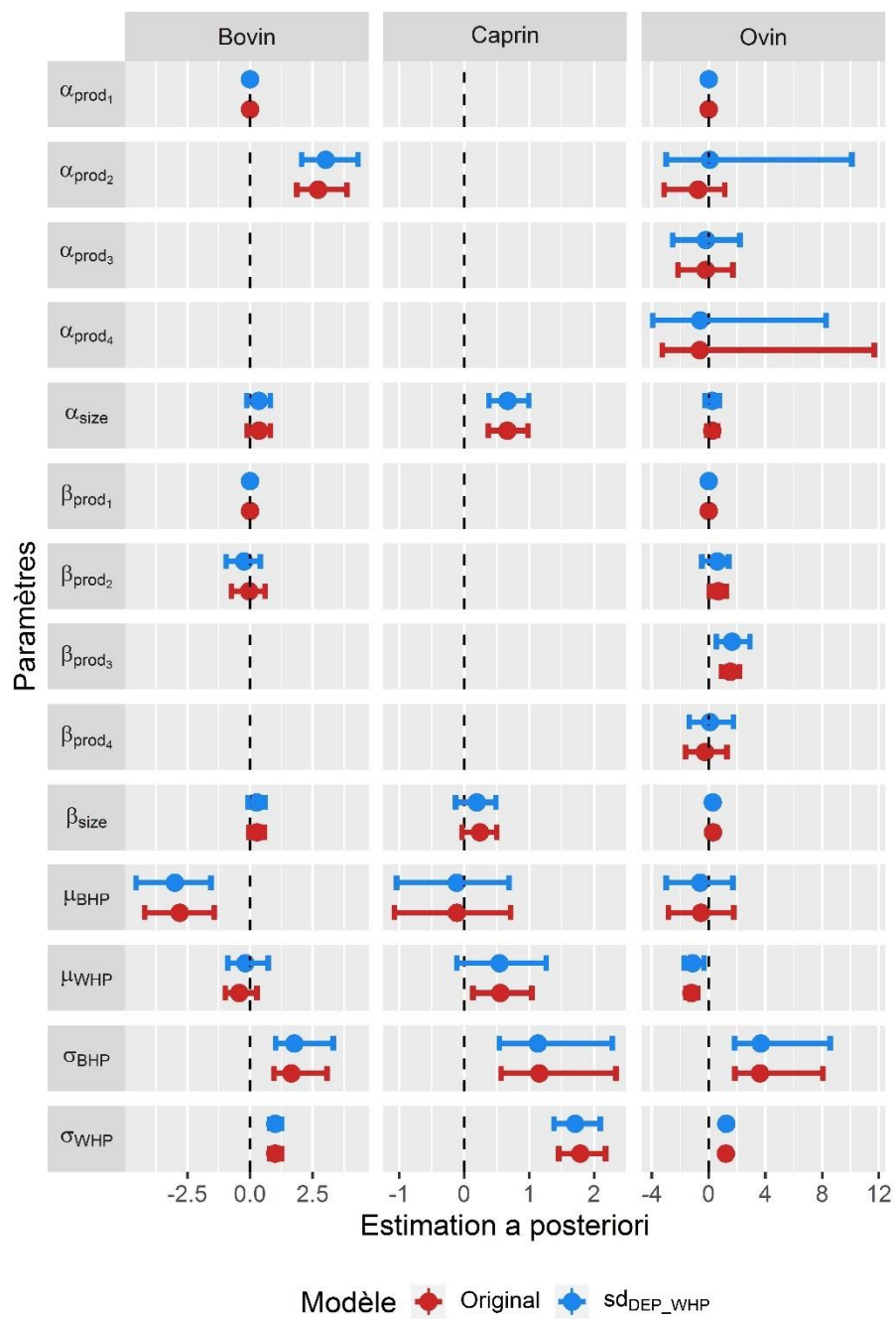


Figure 2 : Estimation ponctuelle (point) et intervalle de crédibilité à 95 % de l'ensemble des paramètres du modèle obtenus avec le modèle original en rouge et avec le modèle alternatif (« sd<sub>dep\_WHP</sub> ») en bleu.

## II. Étude des performances des modèles par simulation

### II.1. Objectifs

Les objectifs de l'analyse par simulation des performances du modèle sur un jeu de données comparable à celui de l'étude sont 1) d'évaluer la justesse du modèle (biais relatif et erreur quadratique moyenne) dans différentes situations plausibles ; 2) de comparer les performances du modèle original avec deux modèles alternatifs, l'un utilisant des distributions *a priori* alternatives et l'autre comprenant un effet aléatoire à l'échelle des départements sur la séroprévalence intra-élevage.

### II.2. Modèles évalués

Les trois modèles évalués sont :

- Le modèle décrit dans la partie matériel et méthode de cette partie 2. Il comprend deux effets aléatoires, l'un à l'échelle des départements sur la séroprévalence inter-élevage et l'autre à l'échelle des élevages sur la séroprévalence intra-élevage. Les priors de ce modèle sont des distributions pour les moyennes et les effets fixes et des lois demi-Cauchy d'échelle 2 pour les écarts-types des distributions. Ce modèle est nommé « original ».
- Un modèle similaire au modèle précédent dans sa structure, mais avec les distributions *a posteriori* utilisées par Paul et al. 2014 (Paul et al., 2014) c'est-à-dire des lois normales de moyenne 0 et de précision 0.001 pour les moyennes et les effets fixes et des lois gamma (0,01,0,01) pour les précisions des distributions. Ce modèle est nommé « Prior normal ».
- Un modèle similaire au modèle « Prior Cauchy », mais comprenant à l'échelle des départements un effet aléatoire supplémentaire sur la séroprévalence intra-élevage. Ce modèle est nommé « sd\_dep\_WHP ».

### II.3. Scénarios de simulation

17 scénarios de simulation plausibles ont été définis. Dans chaque scénario, les valeurs des paramètres du modèle ont été fixées puis utilisées pour simuler le nombre d'individus positifs dans chaque élevage et construire un jeu de données simulé de taille et de structure identique à celui de l'étude (même nombre d'individus prélevés par élevage, même nombre d'élevages par département et mêmes caractéristiques de taille et de type de production).

Les spécificités de chaque scénario de simulation sont les suivantes :

- Scénario 1 : tous les paramètres du modèle sont fixés à la valeur de la médiane *a posteriori* estimée dans l'étude (cf. Annexes partie 2.IV) ;
- Scénario 2 : Tous les paramètres du modèle sont fixés à la valeur de la médiane *a posteriori* estimée dans le modèle « sd\_dep\_WHP » ;
- Scénario 3 : idem scénario 1, mais la moyenne de la distribution des séroprévalences intra-élevage dans la classe de référence est supérieure de deux écarts-types ;
- Scénario 4 : idem scénario 1, mais la moyenne de la distribution des séroprévalences intra-élevage dans la classe de référence est supérieure d'un écart-type ;



- Scenario 5 : idem scénario 1, mais la moyenne de la distribution des séroprévalences intra-élevage dans la classe de référence est inférieure d'un écart-type ;
- Scenario 6 : idem scénario 1, mais la moyenne de la distribution des séroprévalences intra-élevage dans la classe de référence est inférieure de deux écarts-types ;
- Scenario 7 : idem scénario 1, mais les **effets fixes** sur la distribution des séroprévalences **intra-élevage sont deux fois plus grands** ;
- Scenario 8 : idem scénario 1, mais les **effets fixes** sur la distribution des séroprévalences **intra-élevage sont deux fois plus petits** ;
- Scenario 9 : idem scénario 1, mais l'**écart-type** de la distribution des séroprévalences **intra-élevage sont deux fois plus petits** ;
- Scenario 10 : idem scénario 1, mais la moyenne de la distribution des séroprévalences inter-élevage dans la classe de référence est supérieure de deux écarts-types ;
- Scenario 11 : idem scénario 1, mais la **moyenne** de la distribution des séroprévalences **inter-élevage dans la classe de référence est supérieure d'un écart-type** ;
- Scenario 12 : idem scénario 1, mais la **moyenne** de la distribution des séroprévalences **inter-élevage dans la classe de référence est inférieure d'un écart-type** ;
- Scenario 13 : idem scénario 1, mais la moyenne de la distribution des séroprévalences inter-élevage dans la classe de référence est inférieure de deux écarts-types ;
- Scenario 14 : idem scénario 1, mais les **effets fixes** sur la distribution des séroprévalences **inter-élevage sont deux fois plus grands** ;
- Scenario 15 : idem scénario 1, mais les **effets fixes** sur la distribution des séroprévalences **inter-élevage sont deux fois plus petits** ;
- Scenario 16 : idem scénario 1, mais l'**écart-type** de la distribution des séroprévalences **inter-élevage sont deux fois plus petits** ;
- Scenario 17 : idem scénario 1, mais les **sensibilité et spécificité** du test sont fixées à celles estimées dans la partie 1 de la thèse (B.III.2).

Les valeurs des paramètres correspondants sont présentées dans les tableaux 5.1, 5.2 et 5.3 respectivement pour les bovins, ovins et caprins. Pour chacun des 17 scénarios, 100 jeux de données ont été simulés puis analysés par les trois modèles évalués.

Pour évaluer la justesse de chaque modèle, les boxplots des 100 médianes *a posteriori* obtenues pour chaque paramètre dans chaque scénario sont visualisés graphiquement et comparés à la vraie valeur utilisée pour simuler les données.

Les biais relatifs moyens (noté *BRM*), l'erreur quadratique moyenne (noté *EQM*) et la probabilité de couverture (notée *P<sub>couv</sub>*) ont été calculés pour chaque paramètre puis leurs moyennes respectives ont été calculées sur l'ensemble des paramètres pour chaque scénario.

Tableau 1 : Valeur des paramètres utilisés pour réaliser les simulations chez les bovins. Les cases grisées correspondent aux changements du scénario par rapport au scénario 1.

Scénario	$\mu_{WHP\_ref}$	$\sigma_{WHP\_dep}$	$\sigma_{WHP}$	$\beta_{size}$	$\beta_{lait}$	$\mu_{BHP\_ref}$	$\sigma_{BHP}$	$\alpha_{size}$	$\alpha_{lait}$	$Se$	$Sp$
1	-0,43	0,00	1,00	0,27	-0,03	-2,80	1,66	0,36	2,68	0,64	0,99
2	-0,14	0,43	1,01	0,27	-0,25	-3,00	1,77	0,34	3,03	0,64	0,99
3	1,57	0,00	1,00	0,27	-0,03	-2,80	1,66	0,36	2,68	0,64	0,99
4	0,57	0,00	1,00	0,27	-0,03	-2,80	1,66	0,36	2,68	0,64	0,99
5	-1,44	0,00	1,00	0,27	-0,03	-2,80	1,66	0,36	2,68	0,64	0,99
6	-2,44	0,00	1,00	0,27	-0,03	-2,80	1,66	0,36	2,68	0,64	0,99
7	-0,43	0,00	1,00	0,54	-0,06	-2,80	1,66	0,36	2,68	0,64	0,99
8	-0,43	0,00	1,00	0,13	-0,01	-2,80	1,66	0,36	2,68	0,64	0,99
9	-0,43	0,00	0,50	0,27	-0,03	-2,80	1,66	0,36	2,68	0,64	0,99
10	-0,43	0,00	1,00	0,27	-0,03	0,51	1,66	0,36	2,68	0,64	0,99
11	-0,43	0,00	1,00	0,27	-0,03	-1,14	1,66	0,36	2,68	0,64	0,99
12	-0,43	0,00	1,00	0,27	-0,03	-4,45	1,66	0,36	2,68	0,64	0,99
13	-0,43	0,00	1,00	0,27	-0,03	-6,11	1,66	0,36	2,68	0,64	0,99
14	-0,43	0,00	1,00	0,27	-0,03	-2,80	1,66	0,73	5,36	0,64	0,99
15	-0,43	0,00	1,00	0,27	-0,03	-2,80	1,66	0,18	1,34	0,64	0,99
16	-0,43	0,00	1,00	0,27	-0,03	-2,80	0,83	0,36	2,68	0,64	0,99
17	-0,43	0,00	1,00	0,27	-0,03	-2,80	1,66	0,36	2,68	0,62	0,98

Tableau 2 : Valeurs des paramètres utilisés pour réaliser les simulations chez les caprins. Les cases grisées correspondent aux changements du scénario par rapport au scénario 1.

Scénario	$\mu_{WHP\_ref}$	$\sigma_{WHP\_dep}$	$\sigma_{WHP}$	$\beta_{size}$	$\mu_{BHP\_ref}$	$\sigma_{BHP}$	$\alpha_{size}$	$Se$	$Sp$
1	0,56	0,00	1,79	0,24	-0,11	1,16	0,67	0,81	0,98
2	0,55	0,64	1,71	0,19	-0,11	1,13	0,67	0,80	0,98
3	4,13	0,00	1,79	0,24	-0,11	1,16	0,67	0,81	0,98
4	2,35	0,00	1,79	0,24	-0,11	1,16	0,67	0,81	0,98
5	-1,23	0,00	1,79	0,24	-0,11	1,16	0,67	0,81	0,98
6	-3,02	0,00	1,79	0,24	-0,11	1,16	0,67	0,81	0,98
7	0,56	0,00	1,79	0,49	-0,11	1,16	0,67	0,81	0,98
8	0,56	0,00	1,79	0,12	-0,11	1,16	0,67	0,81	0,98
9	0,56	0,00	0,89	0,24	-0,11	1,16	0,67	0,81	0,98
10	0,56	0,00	1,79	0,24	2,20	1,16	0,67	0,81	0,98
11	0,56	0,00	1,79	0,24	1,04	1,16	0,67	0,81	0,98
12	0,56	0,00	1,79	0,24	-1,27	1,16	0,67	0,81	0,98
13	0,56	0,00	1,79	0,24	-2,43	1,16	0,67	0,81	0,98
14	0,56	0,00	1,79	0,24	-0,11	1,16	1,33	0,81	0,98
15	0,56	0,00	1,79	0,24	-0,11	1,16	0,33	0,81	0,98
16	0,56	0,00	1,79	0,24	-0,11	0,58	0,67	0,81	0,98
17	0,56	0,00	1,79	0,24	-0,11	1,16	0,67	0,75	0,99

Tableau 3 : Valeur des paramètres utilisés pour réaliser les simulations chez les ovins. Les cases grisées correspondent aux changements du scénario par rapport au scénario 1.

Scénario	$\mu_{WHP\_ref}$	$\sigma_{WHPdep}$	$\sigma_{WHP}$	$\beta_{size}$	$\beta_{lait}$	$\beta_{mixte}$	$\beta_{selection}$	$\mu_{BHP\_ref}$	$\sigma_{BHP}$	$\alpha_{size}$	$\alpha_{lait}$	$\alpha_{mixte}$	$\alpha_{selection}$	Se	Sp
1	-1,21	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	-0,52	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
2	-1,15	0,52	1,24	0,27	0,63	1,65	0,09	-0,57	3,67	0,26	-0,01	-0,22	-0,57	0,61	0,99
3	1,21	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	-0,52	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
4	0,00	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	-0,52	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
5	-2,42	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	-0,52	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
6	-3,63	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	-0,52	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
7	-1,21	0,00	1,21	0,60	1,37	3,05	-0,46	-0,52	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
8	-1,21	0,00	1,21	0,15	0,34	0,76	-0,11	-0,52	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
9	-1,21	0,00	0,61	0,30	0,68	1,53	-0,23	-0,52	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
10	-1,21	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	6,72	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
11	-1,21	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	3,10	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
12	-1,21	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	-4,14	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
13	-1,21	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	-7,76	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
14	-1,21	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	-0,52	3,62	0,51	-1,50	-0,37	-1,40	0,61	0,99
15	-1,21	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	-0,52	3,62	0,13	-0,37	-0,09	-0,35	0,61	0,99
16	-1,21	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	-0,52	1,81	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,61	0,99
17	-1,21	0,00	1,21	0,30	0,68	1,53	-0,23	-0,52	3,62	0,25	-0,75	-0,19	-0,70	0,54	0,98

## II.4. Résultats

### II.4.1 Bovin

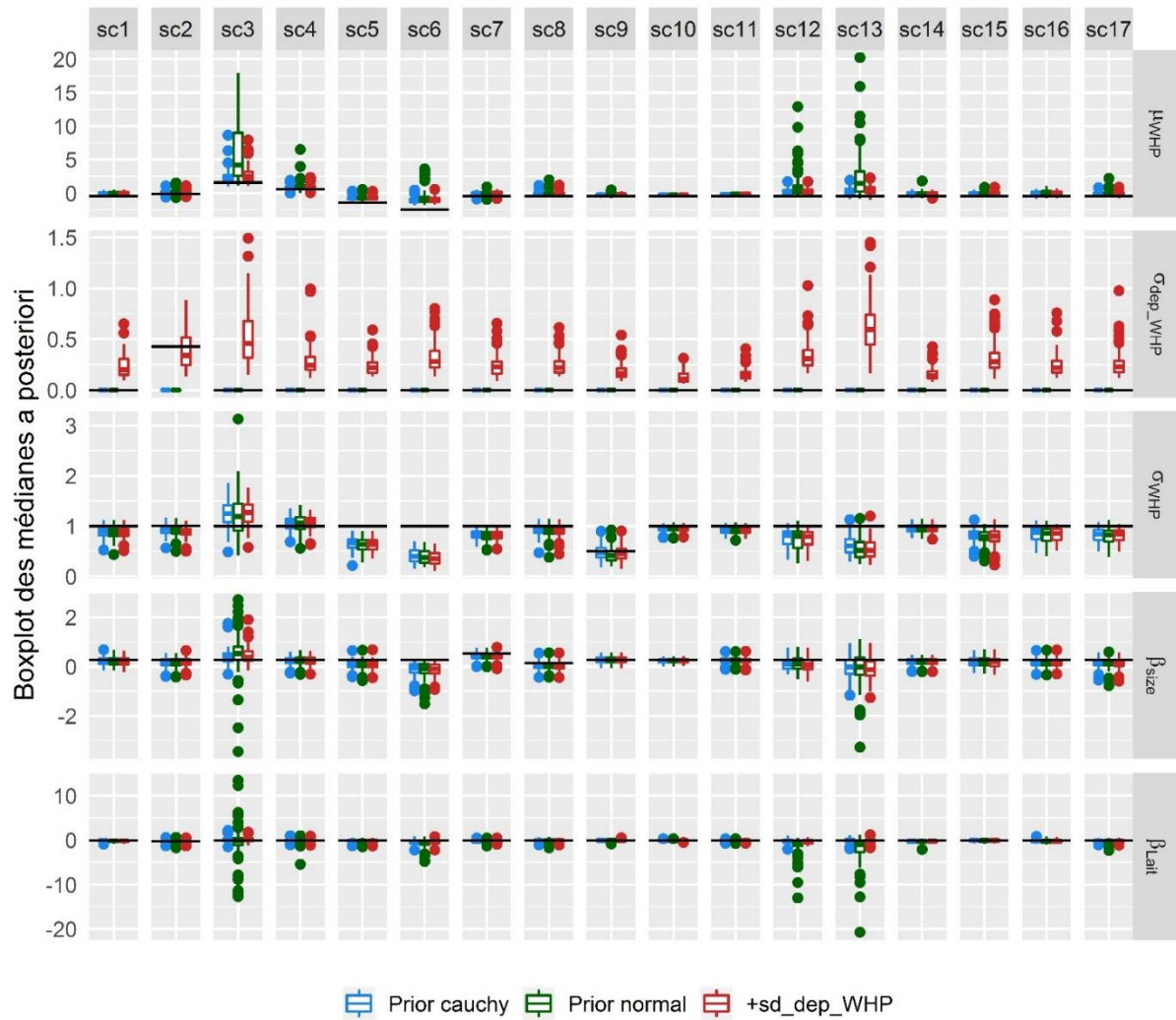


Figure 3 : Boxplot des 100 médianes *a posteriori* estimées pour les paramètres de la distribution des prévalences intra-élevage avec les trois modèles évalués pour chaque scénario de simulation, chez les bovins.

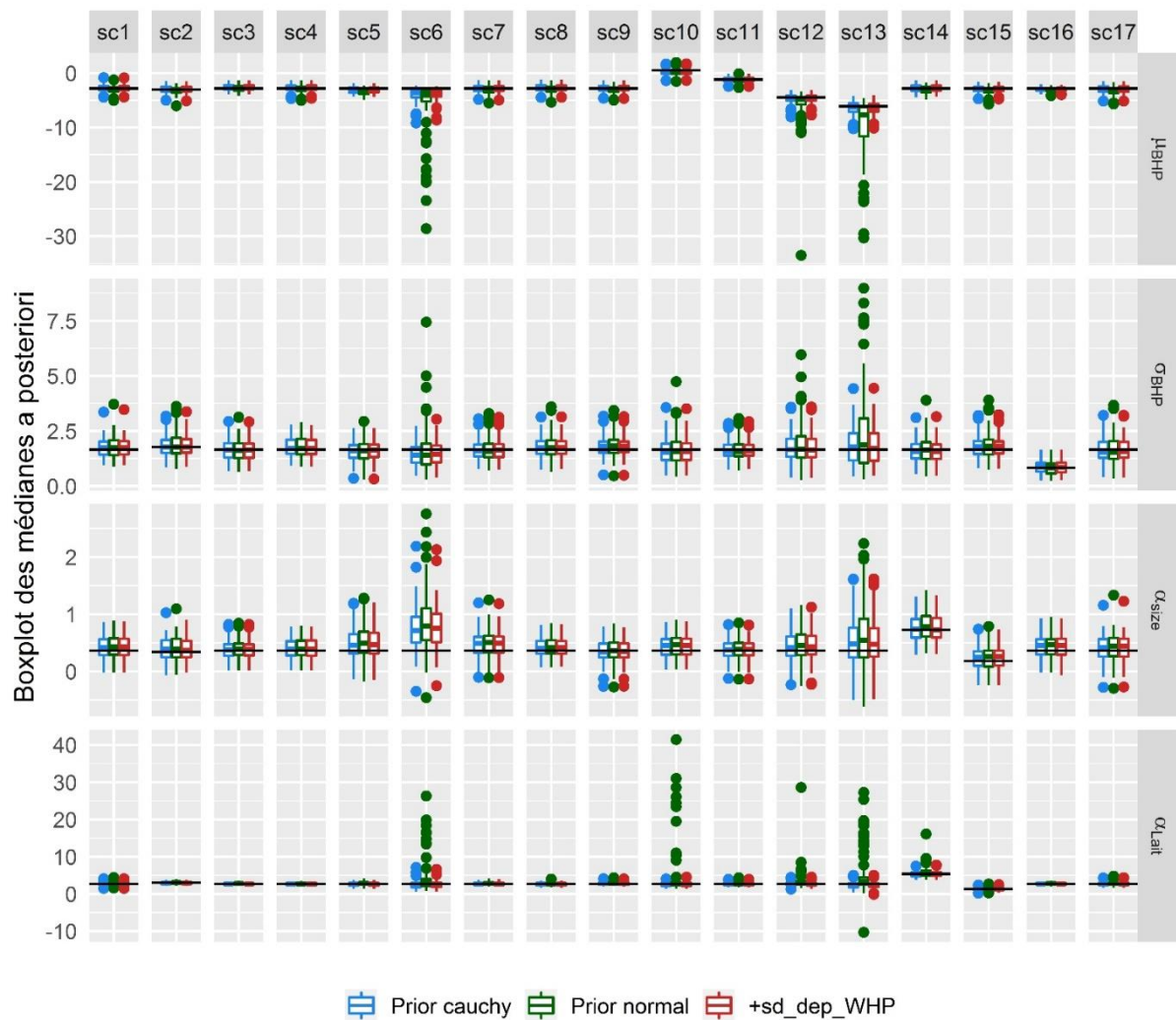


Figure 4 : Boxplot des 100 médianes *a posteriori* estimées pour les paramètres de la distribution des prévalences inter-élevage avec les trois modèles évalués pour chaque scénario de simulation, chez les bovins.

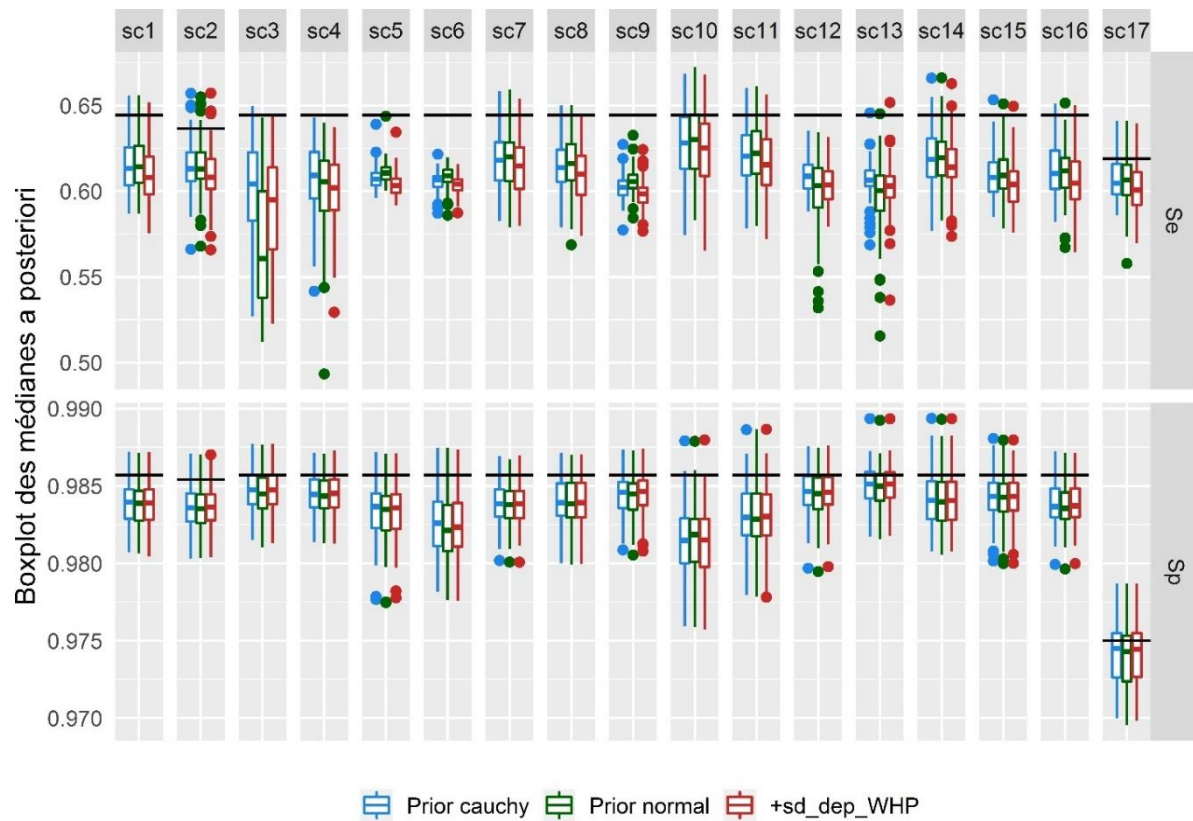


Figure 5 : Boxplot des 100 médianes *a posteriori* estimées pour les sensibilités et spécificités des prévalences intra-élevages avec les trois modèles évalués pour chaque scénario de simulation, chez les bovins.

Tableau 4 : Moyenne des biais relatifs moyens, des erreurs quadratiques moyennes et des probabilités de couverture de l'ensemble des paramètres du modèle pour chacun des 17 scénarios de simulation chez les bovins.

Scenario	Biais relatif moyen			Erreur quadratique moyenne			Probabilité de couverture		
	Cauchy	Normal	sd_dep_WHP	Cauchy	Normal	sd_dep_WHP	Cauchy	Normal	sd_dep_WHP
Sc 1	0,024	0,014	0,027	0,117	0,148	0,123	92,946	91,685	92,631
Sc 2	0,004	-0,007	0,007	0,121	0,159	0,126	94,210	93,579	94,526
Sc 3	0,147	0,461	0,193	0,291	5,380	0,425	95,158	86,737	93,683
Sc 4	0,045	0,039	0,054	0,108	0,215	0,118	96,736	95,684	96,947
Sc 5	-0,041	-0,049	-0,039	0,196	0,257	0,206	76,105	74,527	76,315
Sc 6	-0,105	-0,094	-0,102	0,728	6,372	0,799	66,315	61,472	65,053
Sc 7	-0,006	-0,016	-0,004	0,134	0,182	0,142	91,474	89,475	91,053
Sc 8	0,010	-0,002	0,012	0,118	0,152	0,122	94,002	93,367	94,631
Sc 9	0,045	0,029	0,045	0,109	0,137	0,109	96,104	94,526	96,420
Sc 10	-0,035	0,191	-0,031	0,107	5,274	0,112	91,789	91,579	92,630
Sc 11	-0,011	-0,017	-0,008	0,082	0,099	0,085	92,525	92,105	93,157
Sc 12	-0,011	-0,017	-0,013	0,282	3,204	0,290	92,420	87,579	92,842
Sc 13	-0,036	-0,041	-0,032	0,520	12,603	0,570	95,578	87,158	94,000
Sc 14	-0,002	0,030	0,000	0,167	0,413	0,173	92,420	91,053	92,630
Sc 15	0,006	-0,010	0,008	0,131	0,192	0,146	93,157	91,157	92,947
Sc 16	-0,009	-0,018	-0,007	0,091	0,120	0,094	93,368	90,630	93,473
Sc 17	-0,021	-0,033	-0,019	0,142	0,207	0,154	93,369	91,684	93,159
Moyenne	0,00	0,03	0,01	0,20	2,07	0,22	91,04	88,47	90,95



## II.4.2 Caprin

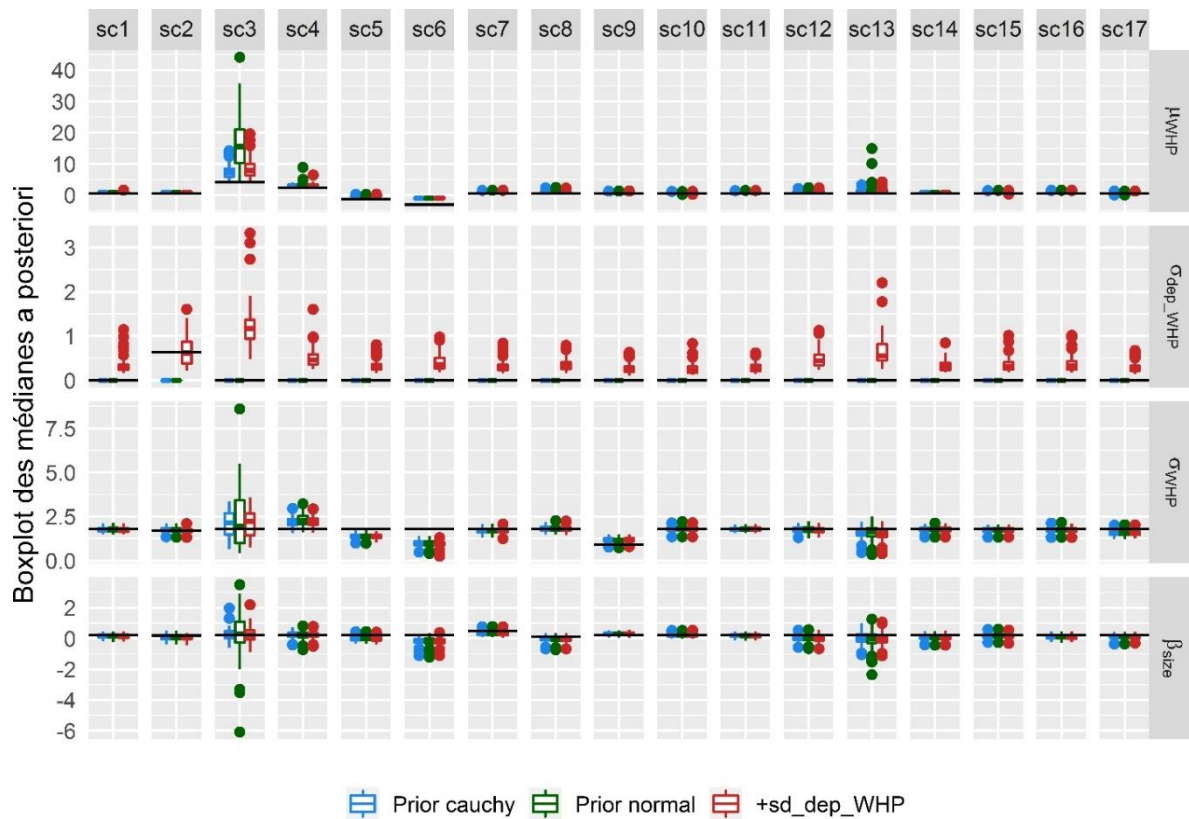


Figure 6 : Boxplot des 100 médianes a posteriori estimées pour les paramètres de la distribution des prévalences intra-élevages avec les trois modèles évalués pour chaque scénario de simulation, chez les caprins.

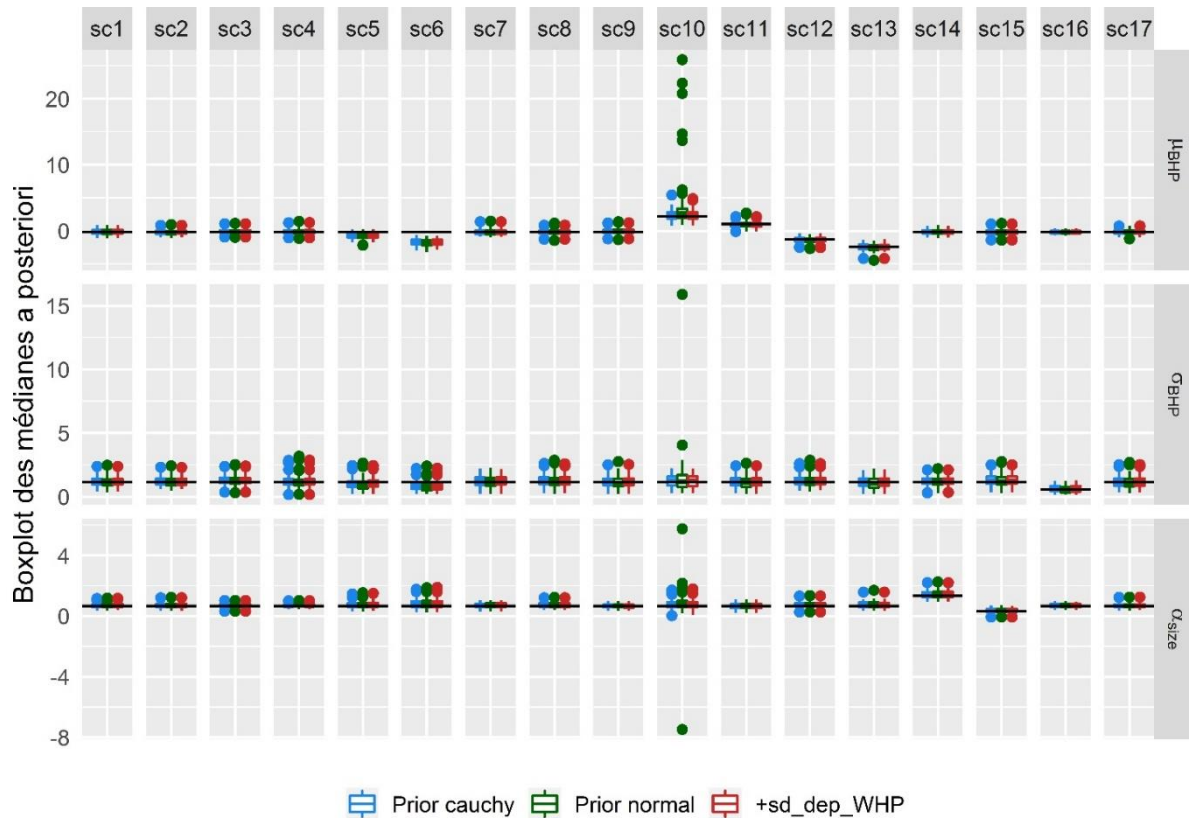


Figure 7 : Boxplot des 100 médianes a posteriori estimées pour les paramètres de la distribution des prévalences inter-élevages avec les trois modèles évalués pour chaque scénario de simulation, chez les caprins.

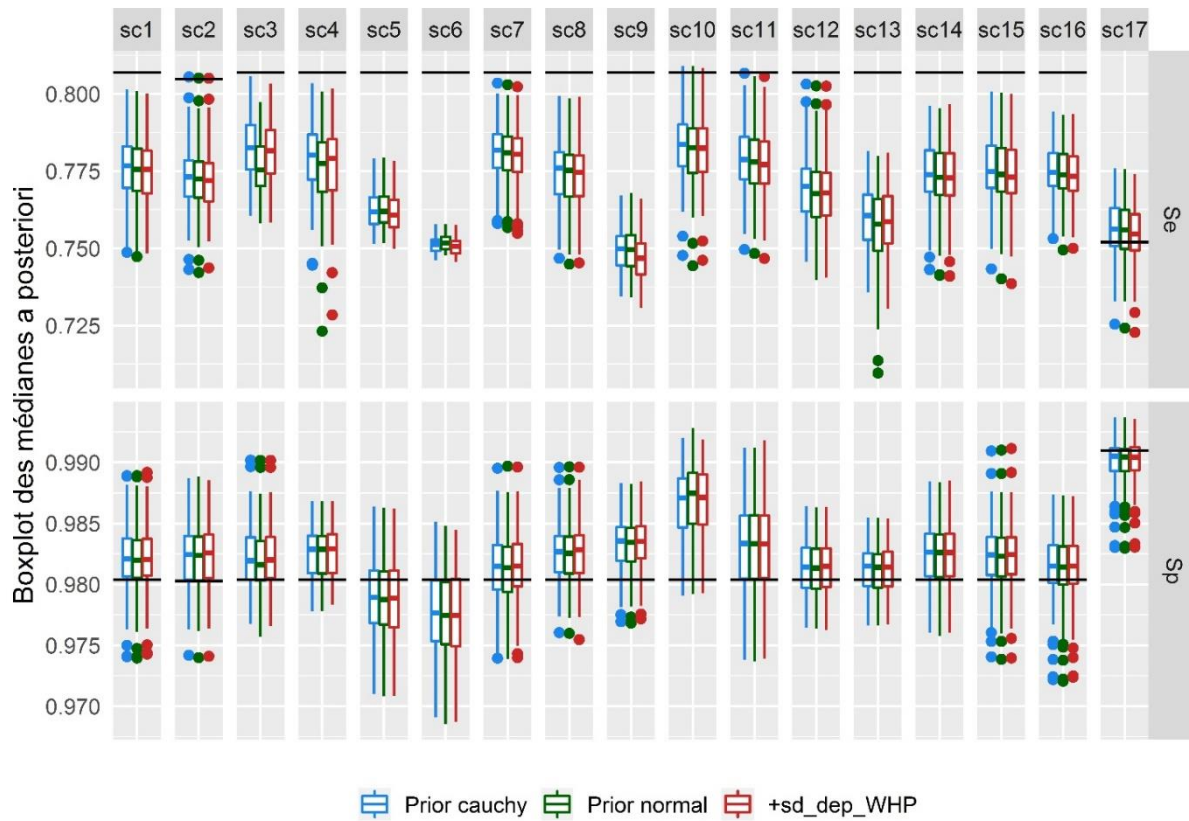


Figure 8 : Boxplot des 100 médianes a posteriori estimées pour les sensibilités et spécificités des prévalences intra-élevages avec les trois modèles évalués pour chaque scénario de simulation, chez les caprins.

Tableau 5 : Moyenne des biais relatifs moyens, des erreurs quadratiques moyennes et des probabilités de couverture de l'ensemble des paramètres du modèle pour chacun des 17 scénarios de simulation chez les caprins.

Scenario	Biais relatif moyen			Erreur quadratique moyenne			Probabilité de couverture		
	Cauchy	Normal	sd_dep_WHP	Cauchy	Normal	sd_dep_WHP	Cauchy	Normal	sd_dep_WHP
Sc 1	0,030	0,028	0,031	0,070	0,081	0,074	90,750	89,625	91,875
Sc 2	0,026	0,020	0,019	0,064	0,072	0,064	91,250	90,250	93,625
Sc 3	0,489	1,632	0,626	2,197	28,096	3,872	88,500	76,625	85,500
Sc 4	0,135	0,180	0,154	0,148	0,281	0,189	91,250	87,375	90,250
Sc 5	-0,051	-0,065	-0,049	0,240	0,266	0,249	62,375	62,000	63,000
Sc 6	-0,126	-0,150	-0,130	1,024	1,100	1,071	38,750	37,500	39,250
Sc 7	0,018	0,014	0,020	0,071	0,080	0,075	91,375	90,750	92,250
Sc 8	0,048	0,045	0,051	0,075	0,088	0,078	90,250	89,500	91,500
Sc 9	0,070	0,062	0,075	0,068	0,074	0,069	77,250	76,750	78,750
Sc 10	0,061	0,235	0,065	0,122	2,624	0,131	93,000	90,250	93,125
Sc 11	0,008	0,016	0,010	0,069	0,081	0,070	91,625	90,750	92,000
Sc 12	0,048	0,038	0,049	0,108	0,134	0,118	88,500	86,875	89,250
Sc 13	0,041	0,060	0,045	0,224	0,695	0,266	82,750	79,875	84,000
Sc 14	0,035	0,032	0,039	0,074	0,088	0,078	91,125	89,125	91,875
Sc 15	0,025	0,021	0,028	0,072	0,084	0,075	91,000	90,375	91,875
Sc 16	0,023	0,014	0,024	0,046	0,050	0,049	91,250	90,375	92,750
Sc 17	-0,028	-0,038	-0,028	0,060	0,070	0,062	94,375	93,750	95,250
Moyenne	0,05	0,13	0,06	0,28	2,00	0,39	85,02	83,04	85,65

### II.4.3 Ovin

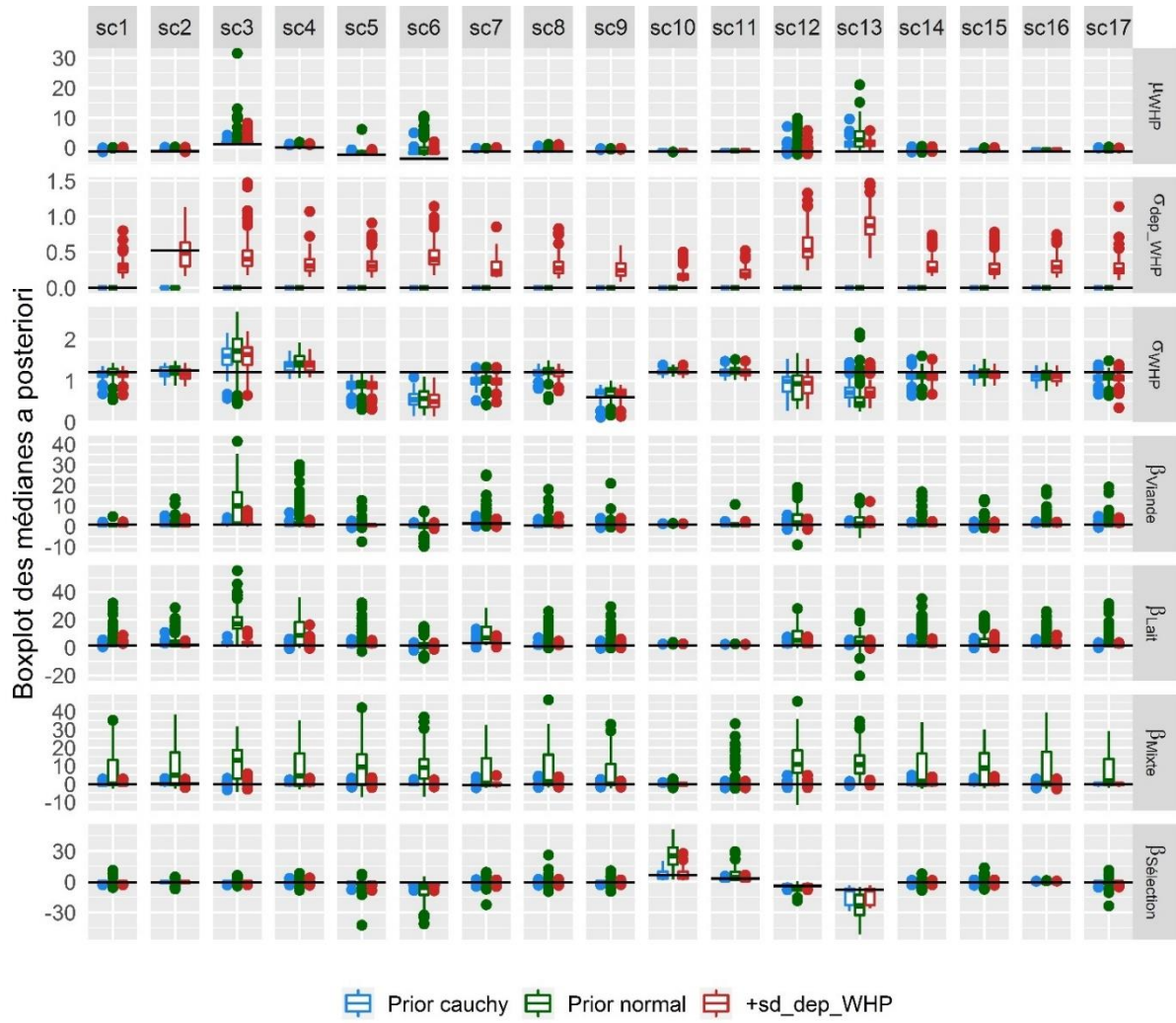


Figure 9 : Boxplot des 100 médianes a posteriori estimées pour les paramètres de la distribution des prévalences intra-élevage avec les trois modèles évalués pour chaque scénario de simulation, chez les ovins.

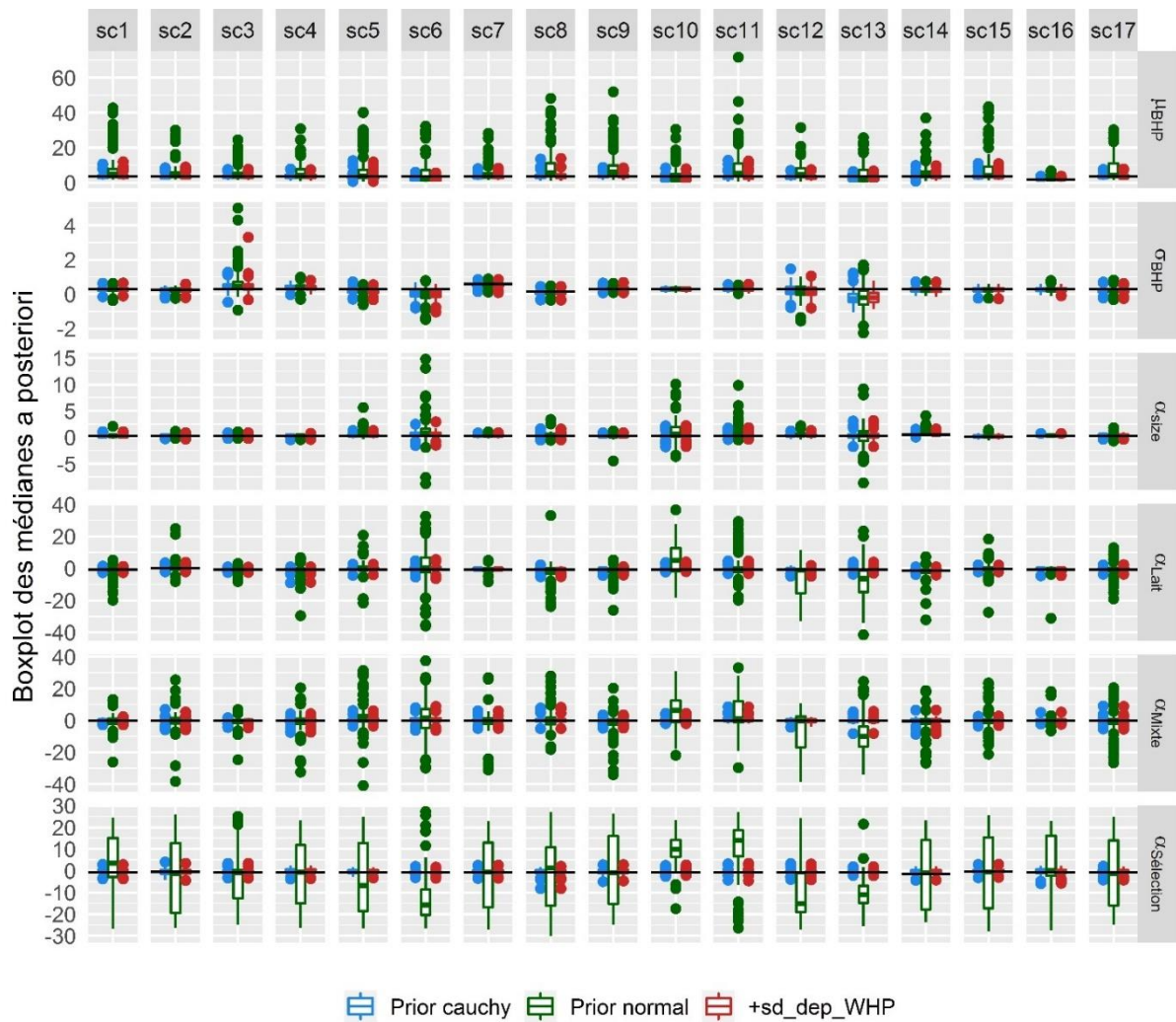


Figure 10 : Boxplot des 100 médianes a posteriori estimées pour les paramètres de la distribution des prévalences inter-élevage avec les trois modèles évalués pour chaque scénario de simulation, chez les ovins.

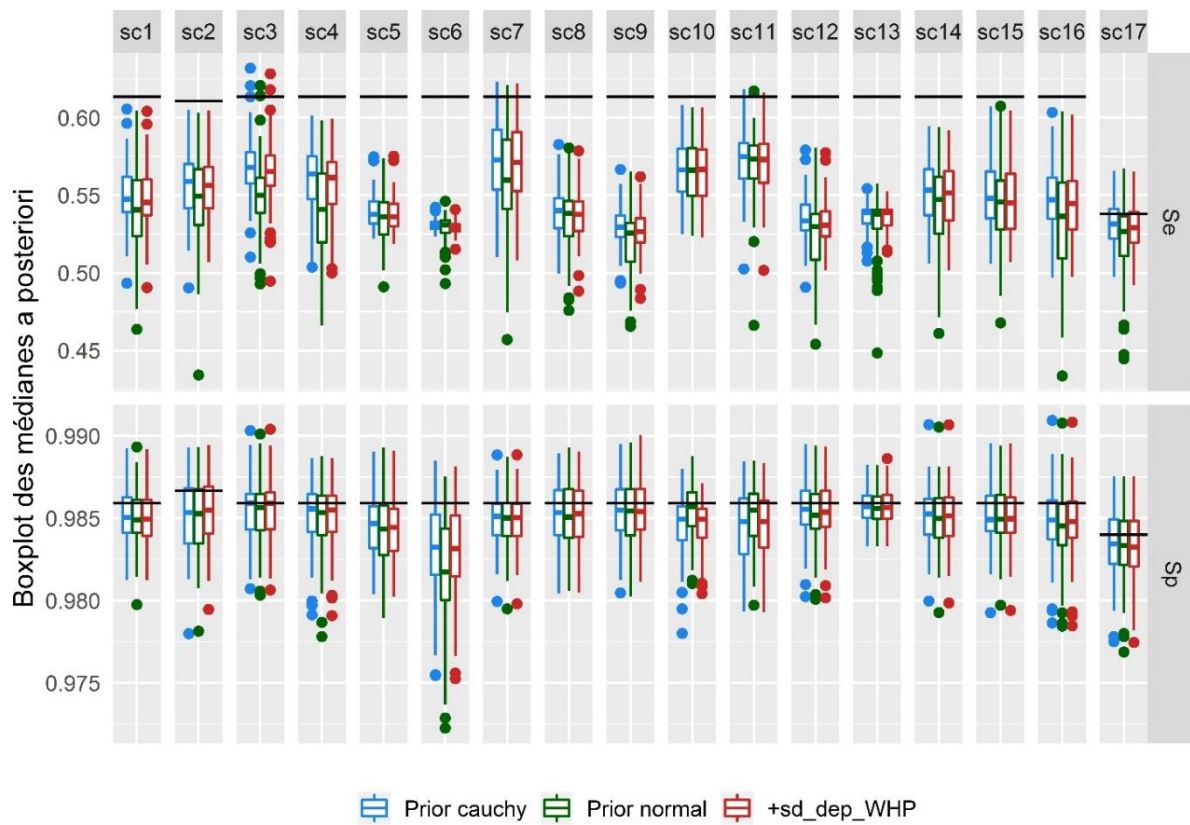


Figure 11 : Boxplot des 100 médianes a posteriori estimées pour les sensibilités et spécificités des prévalences intra-élevages avec les trois modèles évalués pour chaque scénario de simulation, chez les ovins.

Tableau 6 : Moyenne des biais relatifs moyens, des erreurs quadratiques moyennes et des probabilités de couverture de l'ensemble des paramètres du modèle pour chacun des 17 scénarios de simulation chez les ovins.

Scenario	Biais relatif moyen			Erreur quadratique moyenne			Probabilité de couverture		
	Cauchy	Normal	sd_dep_WHP	Cauchy	Normal	sd_dep_WHP	Cauchy	Normal	sd_dep_WHP
Sc 1	0,101	1,221	0,107	0,551	35,921	0,615	92,429	88,071	93,929
Sc 2	0,039	0,938	0,029	0,706	42,833	0,614	89,500	84,500	93,357
Sc 3	0,294	2,866	0,327	0,947	69,900	1,210	90,429	75,214	90,643
Sc 4	0,140	1,654	0,154	0,847	50,891	1,020	91,643	81,571	92,286
Sc 5	0,034	1,047	0,039	0,889	53,729	0,914	82,071	78,643	82,643
Sc 6	-0,176	-0,273	-0,179	1,986	74,151	2,122	73,143	67,286	72,000
Sc 7	0,073	1,109	0,075	0,801	42,071	0,737	90,286	85,214	91,357
Sc 8	0,106	1,124	0,103	0,843	49,207	0,827	92,429	88,786	92,857
Sc 9	0,114	0,919	0,114	0,568	40,796	0,569	90,000	84,286	91,571
Sc 10	0,132	3,068	0,132	2,786	66,561	2,952	92,929	91,071	94,357
Sc 11	0,058	2,184	0,058	1,005	52,610	0,992	93,071	91,214	94,286
Sc 12	0,035	0,104	0,052	1,048	69,722	1,079	89,357	82,643	89,429
Sc 13	-0,349	-1,422	-0,315	7,323	87,713	7,404	95,286	89,500	94,714
Sc 14	0,124	0,994	0,124	0,746	41,585	0,747	91,000	87,643	92,143
Sc 15	0,071	1,275	0,077	0,606	48,564	0,662	91,571	87,500	92,500
Sc 16	0,089	0,909	0,089	0,474	32,029	0,514	90,643	84,571	91,000
Sc 17	0,037	0,966	0,040	0,665	41,764	0,658	94,071	91,357	94,786
Moyenne	0,05	1,10	0,06	1,34	52,94	1,39	89,99	84,65	90,82

### III. Calcul de puissance

#### III.1. Méthodes

La puissance d'un test statistique correspond à la probabilité de rejeter l'hypothèse nulle lorsque l'hypothèse nulle est fautive ; dans notre contexte, l'hypothèse nulle est que le risque relatif est égal à 1 (pas d'effet du facteur étudié), donc rejeter l'hypothèse nulle revient à conclure que le risque relatif est différent de 1 alors qu'il est effectivement différent de 1. Le risque alpha d'un test statistique correspond à la probabilité de rejeter l'hypothèse nulle lorsque l'hypothèse nulle est vraie (dans notre contexte : de conclure à la présence d'un risque relatif différent de 1 lorsque le risque relatif est égal à 1).

L'objectif du calcul de puissance réalisé est de déterminer, pour chaque facteur évalué (taille de l'élevage et type de production), le risque alpha et le risque relatif minimal que le modèle est capable de mettre en évidence avec une probabilité (qu'on appelle classiquement la puissance) supérieure à 80 %.

Pour répondre à cet objectif, pour chaque facteur de risque évalué dans l'étude et pour des valeurs de risque relatif comprises entre 1/3 et 3, nous avons simulé et analysé avec le modèle 100 jeux de données de taille et de structure similaires à celui de l'étude (même nombre d'individus, d'élevages et de départements, même type de production et taille d'élevage que dans le jeu de données de l'étude). Pour chaque valeur de risque relatif différente de 1, la puissance de l'étude a été définie comme la proportion d'intervalles de crédibilité à 95 % ne comprenant pas 1 parmi les 100 estimées. Le risque alpha a été défini comme la proportion d'intervalles de crédibilité à 95 % ne comprenant pas 1 parmi les 100 estimées lorsque la valeur du risque relatif utilisée pour simuler les données était égale à 1.

En parallèle du calcul des risques relatifs, la probabilité de couverture du modèle a été calculée comme la proportion d'intervalles de crédibilité à 95 % comprenant la vraie valeur du risque relatif utilisée pour simuler les données.



### III.2. Résultats

Tableau 7 : Puissance et probabilité de couverture pour les différents risques relatifs estimés par le modèle à l'échelle intra- et inter-élevage chez les bovins. Les puissances supérieures à 80 % sont colorées en vert et les probabilités de couverture sont colorées en vert (Pcouv >90 %), orange (50 % > Pcouv > 90 %) et rouge (Pouv < 50 %). Le risque alpha est identifié par une case bleue.

RR	Prévalence inter-élevage				Prévalence intra-élevage			
	$\alpha_{size}$		$\alpha_{lait}$		$\beta_{size}$		$\beta_{lait}$	
	$\omega$	Pcouv	$\omega$	Pcouv	$\omega$	Pcouv	$\omega$	Pcouv
0,33	1,00	0,93	0,69	0,95	1,00	0,93	0,98	0,88
0,37	1,00	0,92	0,54	0,99	1,00	0,95	0,97	0,95
0,42	0,99	0,95	0,55	0,97	1,00	0,96	0,94	0,97
0,46	0,99	0,92	0,45	0,97	1,00	0,94	0,91	0,92
0,52	0,94	0,93	0,37	0,95	1,00	1,00	0,83	0,93
0,58	0,82	0,95	0,32	0,96	1,00	0,98	0,83	0,95
0,64	0,64	0,93	0,21	0,95	0,98	0,97	0,72	0,98
0,72	0,35	0,96	0,10	0,94	0,95	0,96	0,56	0,95
0,80	0,15	0,93	0,08	0,97	0,71	0,91	0,43	0,96
0,90	0,10	0,91	0,04	0,96	0,43	0,97	0,21	0,97
1,00	0,07	0,93	0,03	0,97	0,09	0,91	0,12	0,88
1,12	0,28	0,93	0,02	0,97	0,11	0,94	0,03	0,89
1,25	0,48	0,94	0,09	0,93	0,53	0,90	0,16	0,87
1,39	0,70	0,94	0,18	0,98	0,86	0,80	0,25	0,93
1,55	0,93	0,97	0,20	0,99	0,99	0,50	0,66	0,93
1,73	0,97	0,93	0,37	0,95	1,00	0,09	0,85	0,94
1,93	0,99	0,94	0,46	0,91	1,00	0,00	0,94	0,93
2,16	1,00	0,96	0,64	0,96	1,00	0,00	0,96	0,94
2,41	1,00	0,93	0,79	0,98	1,00	0,00	0,99	0,98
2,69	1,00	0,95	0,80	0,95	NA	NA	NA	NA
3,00	1,00	0,94	0,92	0,94	NA	NA	NA	NA

Tableau 8 : Puissances et probabilité de couvertures pour les différents risques relatifs estimés par le modèle à l'échelle intra- et inter-élevage chez les caprins. Les puissances supérieures à 80 % sont colorées en vert et les probabilités de couverture sont colorées en vert (Pcouv >90 %), orange (50 % > Pcouv > 90 %) et rouge (Pouv < 50 %). Le risque alpha est identifié par une case bleue.

RR	Prévalence inter-élevage		Prévalence intra-élevage	
	$\alpha_{size}$		$\beta_{size}$	
	$\omega$	Pcouv	$\omega$	Pcouv
0,33	1,00	0,95	1,00	0,88
0,37	1,00	0,93	1,00	0,95
0,42	1,00	0,95	1,00	0,97
0,46	1,00	0,93	1,00	1,00
0,52	1,00	0,94	1,00	0,98
0,58	1,00	0,98	1,00	0,98
0,64	0,99	0,93	1,00	0,94
0,72	0,96	0,93	1,00	0,94
0,80	0,72	0,96	0,96	0,96
0,90	0,28	0,94	0,53	0,90
1,00	0,07	0,93	0,07	0,93
1,12	0,48	0,92	0,28	0,92
1,25	0,95	0,95	0,91	0,64
1,39	1,00	0,95	1,00	0,02
1,55	1,00	0,93	1,00	0,00
1,73	1,00	0,93	NA	NA
1,93	1,00	0,94	NA	NA
2,16	NA	NA	NA	NA
2,41	NA	NA	NA	NA
2,69	NA	NA	NA	NA
3,00	NA	NA	NA	NA

Tableau 9 : Puissances et probabilité de couvertures pour les différents risques relatifs estimés par le modèle à l'échelle intra- et inter-élevage chez les ovins. Les puissances supérieures à 80 % sont colorées en vert et les probabilités de couverture sont colorées en vert (Pcouv >90 %), orange (50 % > Pcouv > 90 %) et rouge (Pouv < 50 %). Le risque alpha est identifié par une case bleue.

RR	Prévalence inter-élevage								Prévalence intra-élevage							
	$\alpha_{size}$		$\alpha_{lait}$		$\alpha_{mixte}$		$\alpha_{selection}$		$\beta_{size}$		$\beta_{lait}$		$\beta_{mixte}$		$\beta_{selection}$	
	$\omega$	Pcouv	$\omega$	Pcouv	$\omega$	Pcouv	$\omega$	Pcouv	$\omega$	Pcouv	$\omega$	Pcouv	$\omega$	Pcouv	$\omega$	Pcouv
0,33	0,99	0,96	0,23	0,98	0,08	0,97	0,00	0,98	1,00	0,97	0,54	0,91	0,29	0,84	0,18	0,98
0,37	0,95	0,93	0,25	0,95	0,06	0,92	0,03	0,97	0,99	0,97	0,46	0,91	0,35	0,88	0,20	0,99
0,42	0,95	0,93	0,19	0,96	0,05	0,94	0,00	0,97	1,00	0,99	0,56	0,97	0,28	0,84	0,14	0,99
0,46	0,96	0,94	0,12	0,94	0,02	0,97	0,00	0,97	0,99	0,98	0,47	0,93	0,24	0,91	0,09	0,98
0,52	0,84	0,94	0,10	0,97	0,02	0,95	0,00	0,99	0,98	0,98	0,40	0,95	0,22	0,93	0,11	0,99
0,58	0,79	0,93	0,11	0,94	0,03	0,94	0,00	0,98	0,95	0,98	0,34	0,98	0,22	0,97	0,11	1,00
0,64	0,58	0,93	0,11	0,98	0,02	0,96	0,00	0,99	0,92	0,95	0,32	0,95	0,11	0,96	0,07	0,97
0,72	0,39	0,95	0,07	0,95	0,02	0,98	0,00	1,00	0,82	0,99	0,10	0,95	0,14	0,91	0,06	0,96
0,80	0,22	0,95	0,02	0,99	0,04	0,96	0,00	0,98	0,56	0,94	0,11	0,96	0,07	0,96	0,04	0,99
0,90	0,07	0,97	0,01	0,98	0,02	0,95	0,00	1,00	0,21	0,94	0,05	0,97	0,01	0,99	0,04	0,96
1,00	0,02	0,98	0,02	0,98	0,03	0,97	0,01	0,99	0,05	0,95	0,01	0,99	0,02	0,98	0,05	0,95
1,12	0,14	0,94	0,04	0,96	0,01	0,99	0,02	0,98	0,12	0,96	0,06	0,96	0,01	0,99	0,02	0,99
1,25	0,42	0,91	0,05	0,96	0,02	0,96	0,01	1,00	0,38	0,96	0,08	0,98	0,11	0,97	0,01	0,98
1,39	0,77	0,96	0,11	0,98	0,05	0,98	0,00	1,00	0,74	0,93	0,11	0,96	0,16	0,91	0,04	0,98
1,55	0,91	0,94	0,09	0,98	0,04	0,97	0,02	0,99	0,90	0,95	0,30	0,98	0,26	0,98	0,06	0,98
1,73	0,94	0,89	0,34	0,93	0,06	0,96	0,07	1,00	0,97	0,89	0,43	0,94	0,41	0,96	0,12	0,99
1,93	1,00	0,93	0,34	0,97	0,15	0,99	0,09	0,98	0,97	0,86	0,58	0,96	0,51	0,99	0,20	0,99
2,16	1,00	0,94	0,55	0,96	0,25	0,98	0,14	0,99	0,97	0,78	0,67	0,97	0,68	1,00	0,24	0,96
2,41	1,00	0,94	0,71	0,95	0,42	0,93	0,22	0,98	0,97	0,47	0,85	0,97	0,77	0,92	0,30	0,97
2,69	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1,00	0,29	0,91	0,96	0,76	0,94	0,38	0,98
3,00	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1,00	0,17	0,92	0,95	0,87	0,99	0,42	0,96

#### IV. Estimations du modèle

Tableau 10 : Estimations ponctuelles et intervalles de crédibilité à 95 % de l'ensemble des paramètres conservés dans le modèle final après élimination des variables non identifiées comme des facteurs de risque de séropositivité

Échelle	Ovin	Caprin	Bovin			
Inter-élevage	$\mu_{BHP\_ref}$	-0,546 [-2 827 ; 1 774]	-0,114 [-1 074 ; 0,716]	$\mu_{BHP\_ref}$	-2 802 [-4 196 ; -1 417]	
	$\sigma_{BHP}$	3 616 [1 853 ; 8 065]	$\sigma_{BHP}$	1 158 [0,571 ; 2 341]	$\sigma_{BHP}$	1 651 [0,964 ; 3 072]
	$\alpha_{size}$	0,25 [-0,153 ; 0,661]	$\alpha_{size}$	0,666 [0,374 ; 0,984]	$\alpha_{size}$	0,357 [-0,104 ; 0,815]
	$\alpha_{lait}$	-0,754 [-3 137 ; 1 132]			$\alpha_{viande}$	Référence
	$\alpha_{mixte}$	-0,214 [-2 176 ; 1 714]	$\alpha_{lait}$	Référence		
	$\alpha_{selection}$	-0,634 [-3 274 ; 11 675]			$\alpha_{lait}$	2 707 [1 863 ; 3 865]
	$\alpha_{viande}$	Référence				
intra-élevage	$\mu_{WHP\_ref}$	-1 215 [-1 588 ; -0,77]	$\mu_{WHP\_ref}$	0,557 [0,135 ; 1 043]	$\mu_{WHP\_ref}$	-0,43 [-0,979 ; 0,281]
	$\sigma_{WHP}$	1 209 [0,996 ; 1 456]	$\sigma_{WHP}$	1 789 [1 458 ; 2 179]	$\sigma_{WHP}$	1 007 [0,784 ; 1 266]
	$\beta_{size}$	0,303 [0,077 ; 0,543]	$\beta_{size}$	0,244 [-0,034 ; 0,506]	$\beta_{size}$	0,276 [-0,047 ; 0,58]
	$\beta_{lait}$	0,675 [0,066 ; 1 249]			$\beta_{viande}$	Référence
	$\beta_{mixte}$	1 527 [0,902 ; 2 188]	$\beta_{lait}$	Référence		
	$\beta_{selection}$	-0,262 [-1 631 ; 1 291]			$\beta_{lait}$	-0,03 [-0,73 ; 0,599]
	$\beta_{viande}$	Référence				
Test	$Se$	0,615 [0,554 ; 0,676]	$Se$	0,807 [0,771 ; 0,841]	$Se$	0,644 [0,559 ; 0,73]
	$Sp$	0,986 [0,981 ; 0,99]	$Sp$	0,98 [0,973 ; 0,987]	$Sp$	0,986 [0,982 ; 0,989]

## V. Distribution *a posteriori* des quantiles des distributions inter- et intra-élevages pour chaque type d'élevage

Tableau 11 : Quantiles des distributions des séroprévalences inter-élevages entre départements et des séroprévalences intra-élevages entre troupeaux en fonction des types de production et tailles d'élevage chez les caprins.

Échelle	Type production	Taille (Nb animaux)	Quantiles des distributions				
			5 %	20 %	50 %	80 %	95 %
Inter-élevage	Laitier	57	0.064 [0,006 ; 0,202]	0.148 [0,033 ; 0,31]	0.315 [0,142 ; 0,522]	0.542 [0,334 ; 0,825]	0.75 [0,502 ; 0,962]
		113	0.118 [0,013 ; 0,31]	0.254 [0,069 ; 0,444]	0.471 [0,255 ; 0,672]	0.697 [0,511 ; 0,901]	0.853 [0,666 ; 0,98]
		226	0.206 [0,027 ; 0,461]	0.398 [0,127 ; 0,613]	0.632 [0,402 ; 0,806]	0.818 [0,659 ; 0,949]	0.919 [0,784 ; 0,99]
Intra-élevage	Laitier	57	0.067 [0,033 ; 0,131]	0.233 [0,142 ; 0,373]	0.581 [0,434 ; 0,739]	0.863 [0,759 ; 0,94]	0.964 [0,918 ; 0,988]
		113	0.083 [0,044 ; 0,147]	0.279 [0,19 ; 0,39]	0.638 [0,528 ; 0,751]	0.889 [0,82 ; 0,943]	0.971 [0,941 ; 0,989]
		226	0.104 [0,053 ; 0,18]	0.33 [0,226 ; 0,446]	0.691 [0,59 ; 0,786]	0.91 [0,855 ; 0,952]	0.977 [0,955 ; 0,991]

Tableau 12 : Quantiles des distributions des séroprévalences inter-élevages entre départements à l'autre et des prévalences intra-élevages entre troupeaux en fonction des types de production et tailles d'élevage chez les bovins.

Échelle	Type production	Taille (Nb femelles paires)	Quantiles des distributions				
			5 %	20 %	50 %	80 %	95 %
Inter-élevage	Allaitant	26	0.003 [0 ; 0,015]	0.01 [0,001 ; 0,04]	0.041 [0,01 ; 0,151]	0.144 [0,039 ; 0,569]	0.383 [0,108 ; 0,925]
		52	0.004 [0 ; 0,019]	0.015 [0,002 ; 0,051]	0.057 [0,015 ; 0,195]	0.192 [0,061 ; 0,648]	0.467 [0,16 ; 0,944]
		104	0.006 [0 ; 0,028]	0.021 [0,003 ; 0,077]	0.08 [0,019 ; 0,27]	0.254 [0,079 ; 0,734]	0.558 [0,203 ; 0,963]
	Laitier	26	0.041 [0,003 ; 0,173]	0.139 [0,024 ; 0,386]	0.391 [0,135 ; 0,749]	0.718 [0,39 ; 0,96]	0.905 [0,653 ; 0,995]
		52	0.058 [0,004 ; 0,211]	0.189 [0,036 ; 0,437]	0.479 [0,203 ; 0,792]	0.783 [0,518 ; 0,969]	0.931 [0,752 ; 0,997]
		104	0.081 [0,006 ; 0,283]	0.249 [0,05 ; 0,534]	0.567 [0,261 ; 0,851]	0.839 [0,593 ; 0,979]	0.951 [0,805 ; 0,998]
Intra-élevage	Allaitant	26	0.086 [0,055 ; 0,148]	0.175 [0,117 ; 0,284]	0.331 [0,227 ; 0,5]	0.536 [0,379 ; 0,727]	0.722 [0,545 ; 0,875]
		52	0.111 [0,068 ; 0,189]	0.218 [0,144 ; 0,345]	0.394 [0,273 ; 0,57]	0.602 [0,444 ; 0,777]	0.773 [0,613 ; 0,902]
		104	0.141 [0,074 ; 0,266]	0.27 [0,156 ; 0,448]	0.462 [0,298 ; 0,667]	0.666 [0,48 ; 0,838]	0.817 [0,651 ; 0,93]
	Laitier	26	0.084 [0,048 ; 0,146]	0.17 [0,111 ; 0,265]	0.324 [0,23 ; 0,459]	0.527 [0,4 ; 0,681]	0.714 [0,577 ; 0,846]
		52	0.107 [0,067 ; 0,17]	0.213 [0,152 ; 0,296]	0.387 [0,305 ; 0,493]	0.595 [0,494 ; 0,712]	0.766 [0,664 ; 0,866]
		104	0.137 [0,078 ; 0,228]	0.264 [0,175 ; 0,378]	0.454 [0,344 ; 0,584]	0.659 [0,544 ; 0,779]	0.812 [0,71 ; 0,899]

Tableau 13 : Quantiles des distributions des séroprévalences inter-élevages d'un département à l'autre et des prévalences intra-élevages d'un troupeau à l'autre, en fonction des types de productions et tailles d'élevage chez les ovins.

Échelle	Type production animaux	Taille (Nb)	Quantiles des distributions					
			5 %	20 %	50 %	80 %	95 %	
Inter-élevage	Viande	91	0.001 [0 ; 0,03]	0.021 [0 ; 0,169]	0.313 [0,042 ; 0,825]	0.904 [0,445 ; 0,999]	0.994 [0,835 ; 1]	
		182	0.002 [0 ; 0,036]	0.027 [0 ; 0,2]	0.367 [0,056 ; 0,855]	0.923 [0,507 ; 0,999]	0.995 [0,864 ; 1]	
		364	0.002 [0 ; 0,046]	0.034 [0 ; 0,251]	0.426 [0,067 ; 0,889]	0.939 [0,551 ; 1]	0.996 [0,883 ; 1]	
	Laitier	91	0.001 [0 ; 0,04]	0.01 [0 ; 0,198]	0.177 [0,009 ; 0,733]	0.823 [0,243 ; 0,997]	0.988 [0,766 ; 1]	
		182	0.001 [0 ; 0,046]	0.012 [0 ; 0,223]	0.216 [0,013 ; 0,762]	0.855 [0,306 ; 0,998]	0.99 [0,816 ; 1]	
		364	0.001 [0 ; 0,056]	0.016 [0 ; 0,252]	0.264 [0,017 ; 0,805]	0.883 [0,363 ; 0,998]	0.992 [0,85 ; 1]	
	Mixte	91	0.001 [0 ; 0,055]	0.016 [0 ; 0,267]	0.276 [0,021 ; 0,838]	0.89 [0,36 ; 0,999]	0.993 [0,829 ; 1]	
		182	0.001 [0 ; 0,066]	0.021 [0 ; 0,309]	0.327 [0,027 ; 0,87]	0.912 [0,424 ; 0,999]	0.994 [0,863 ; 1]	
		364	0.001 [0 ; 0,082]	0.027 [0 ; 0,365]	0.384 [0,034 ; 0,899]	0.93 [0,473 ; 0,999]	0.996 [0,883 ; 1]	
	Sélection	91	0.001 [0 ; 0,991]	0.011 [0 ; 1]	0.196 [0,008 ; 1]	0.845 [0,17 ; 1]	0.99 [0,658 ; 1]	
		182	0.001 [0 ; 0,993]	0.014 [0 ; 1]	0.235 [0,01 ; 1]	0.871 [0,217 ; 1]	0.992 [0,72 ; 1]	
		364	0.001 [0 ; 0,995]	0.018 [0 ; 1]	0.283 [0,014 ; 1]	0.896 [0,263 ; 1]	0.994 [0,762 ; 1]	
	Intra-élevage	Viande	91	0.029 [0,018 ; 0,047]	0.073 [0,051 ; 0,109]	0.18 [0,132 ; 0,252]	0.378 [0,282 ; 0,508]	0.616 [0,482 ; 0,76]
			182	0.039 [0,024 ; 0,066]	0.097 [0,067 ; 0,145]	0.229 [0,17 ; 0,317]	0.451 [0,349 ; 0,58]	0.684 [0,562 ; 0,807]
			364	0.052 [0,029 ; 0,098]	0.127 [0,079 ; 0,21]	0.286 [0,199 ; 0,419]	0.526 [0,4 ; 0,676]	0.745 [0,622 ; 0,859]
Laitier		91	0.056 [0,029 ; 0,1]	0.135 [0,079 ; 0,219]	0.301 [0,197 ; 0,441]	0.544 [0,394 ; 0,704]	0.758 [0,613 ; 0,875]	
		182	0.074 [0,043 ; 0,122]	0.174 [0,116 ; 0,254]	0.369 [0,272 ; 0,486]	0.618 [0,5 ; 0,739]	0.81 [0,707 ; 0,895]	
		364	0.098 [0,058 ; 0,159]	0.223 [0,152 ; 0,315]	0.442 [0,342 ; 0,556]	0.686 [0,583 ; 0,788]	0.852 [0,772 ; 0,917]	
Mixte		91	0.122 [0,066 ; 0,21]	0.269 [0,166 ; 0,411]	0.503 [0,357 ; 0,668]	0.736 [0,594 ; 0,86]	0.88 [0,779 ; 0,949]	
		182	0.159 [0,091 ; 0,257]	0.333 [0,221 ; 0,474]	0.578 [0,445 ; 0,72]	0.79 [0,679 ; 0,887]	0.909 [0,836 ; 0,959]	
		364	0.204 [0,116 ; 0,33]	0.402 [0,271 ; 0,56]	0.65 [0,514 ; 0,784]	0.836 [0,74 ; 0,915]	0.931 [0,874 ; 0,97]	
Sélection		91	0.023 [0,005 ; 0,104]	0.058 [0,015 ; 0,23]	0.145 [0,042 ; 0,451]	0.319 [0,111 ; 0,701]	0.552 [0,243 ; 0,865]	
		182	0.031 [0,007 ; 0,135]	0.077 [0,021 ; 0,285]	0.187 [0,059 ; 0,521]	0.388 [0,15 ; 0,754]	0.626 [0,316 ; 0,892]	
		364	0.041 [0,01 ; 0,176]	0.101 [0,028 ; 0,353]	0.238 [0,077 ; 0,596]	0.462 [0,192 ; 0,803]	0.694 [0,384 ; 0,918]	

## D. ANNEXE PARTIE 3

---

### I. Détail de la formule de calcul de la probabilité de séropositivité du troupeau HVP

$$HVP = \frac{P(N_{pos}|Herd^+) \times BHP}{P(N_{pos}|Herd^+) \times BHP + P(N_{pos}|Herd^-) \times (1 - BHP)}$$

$$HVP = \frac{BHP \times \binom{N_{sample}}{N_{pos}} \times (Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP))^{N_{pos}} \times (1 - (Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP)))^{N_{sample} - N_{pos}}}{BHP \times \binom{N_{sample}}{N_{pos}} \times (Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP))^{N_{pos}} \times (1 - (Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP)))^{N_{sample} - N_{pos}} + (1 - BHP) \times \binom{N_{sample}}{N_{pos}} \times (1 - Sp)^{N_{pos}} \times (1 - (1 - Sp))^{N_{sample} - N_{pos}}}$$

$$HVP = \frac{1}{1 + \frac{(1 - BHP)}{BHP} \times \frac{(1 - Sp)^{N_{pos}} \times Sp^{N_{sample} - N_{pos}}}{(Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP))^{N_{pos}} \times (1 - (Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP)))^{N_{sample} - N_{pos}}}}$$

$$HVP = \frac{1}{1 + \frac{(1 - BHP)}{BHP} \times \frac{(1 - Sp)^{N_{pos}}}{(Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP))^{N_{pos}}} \times \frac{Sp^{N_{sample} - N_{pos}}}{(1 - (Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP)))^{N_{sample} - N_{pos}}}}$$

$$HVP = \frac{1}{1 + \frac{(1 - BHP)}{BHP} \times \left( \frac{(1 - Sp)}{(Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP))} \right)^{N_{pos}} \times \left( \frac{Sp}{(1 - (Se \times WHP + (1 - Sp) \times (1 - WHP)))} \right)^{N_{sample} - N_{pos}}}$$

