



ATELIER DE FORMATION LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE APHTEUSE

*Laboratoire de Santé Animale
Maisons-Alfort*

21-25 mai 2012

Agenda

Lundi 21	
9h-9h30	Accueil des participants
9h30 -10	Réunion d'ouverture
10h -12	Présentation : Lutte contre la fièvre aphteuse
12h -14h	Déjeuner
14h -15	Présentation : PCR en temps réel
15h -16	Présentation : Biosécurité dans le laboratoire
16h -17h	Présentation : Assurance qualité en diagnostic
Mardi 22	
8h-12	Partie pratique :Préparation des échantillons; test Svanodip; Isolement viral sur cellule
12h -14h	Déjeuner
14h -17	Partie pratique :Extraction d'ARN ; RT-PCR classique
Mercredi 23	
8h-12	Partie pratique :RT-PCR en temps réel ; Isolement viral (suite) ; RT-PCR classique (électrophorèse)
12h -14h	Déjeuner
14h -17	- Analyse et interprétation des résultats de RT-PCR - Présentation : Typage du FMDV par Ag-ELISA
Jeudi 24	
8h-12	Partie pratique : Ag – ELISA (IAH) ; Isolement viral (suite)
12h-14	Déjeuner
14h-17	Partie pratique :Ag – ELISA (IZSLER) ; ELISA NSP
Vendredi 25	
8h-12	Partie pratique :ELISA NSP
12h-14	Déjeuner
14h-16	- Réunion de clôture

-  L'Agence Anses
-  Alimentation humaine
-  Alimentation & santé animales >>
-  Santé environnement
-  Santé travail
-  Végétal



Actualités

Avis et rapports

Publications

9 mai 2012
3ème Conférence internationale PPTox
"Programmation prénatale et toxicité"
du 14 au 16 mai 2012 à Paris

4 mai 2012
Facteurs de croissance du lait et des
produits laitiers : l'Anses publie son

Agenda

30 mai 2012
Rencontres scientifiques - Restitution du
programme de recherche environnement-
santé-travail
Des indicateurs d'exposition aux
biomarqueurs : des outils pour
l'évaluation et la surveillance des risques
sanitaires

[> Tous les agendas](#)

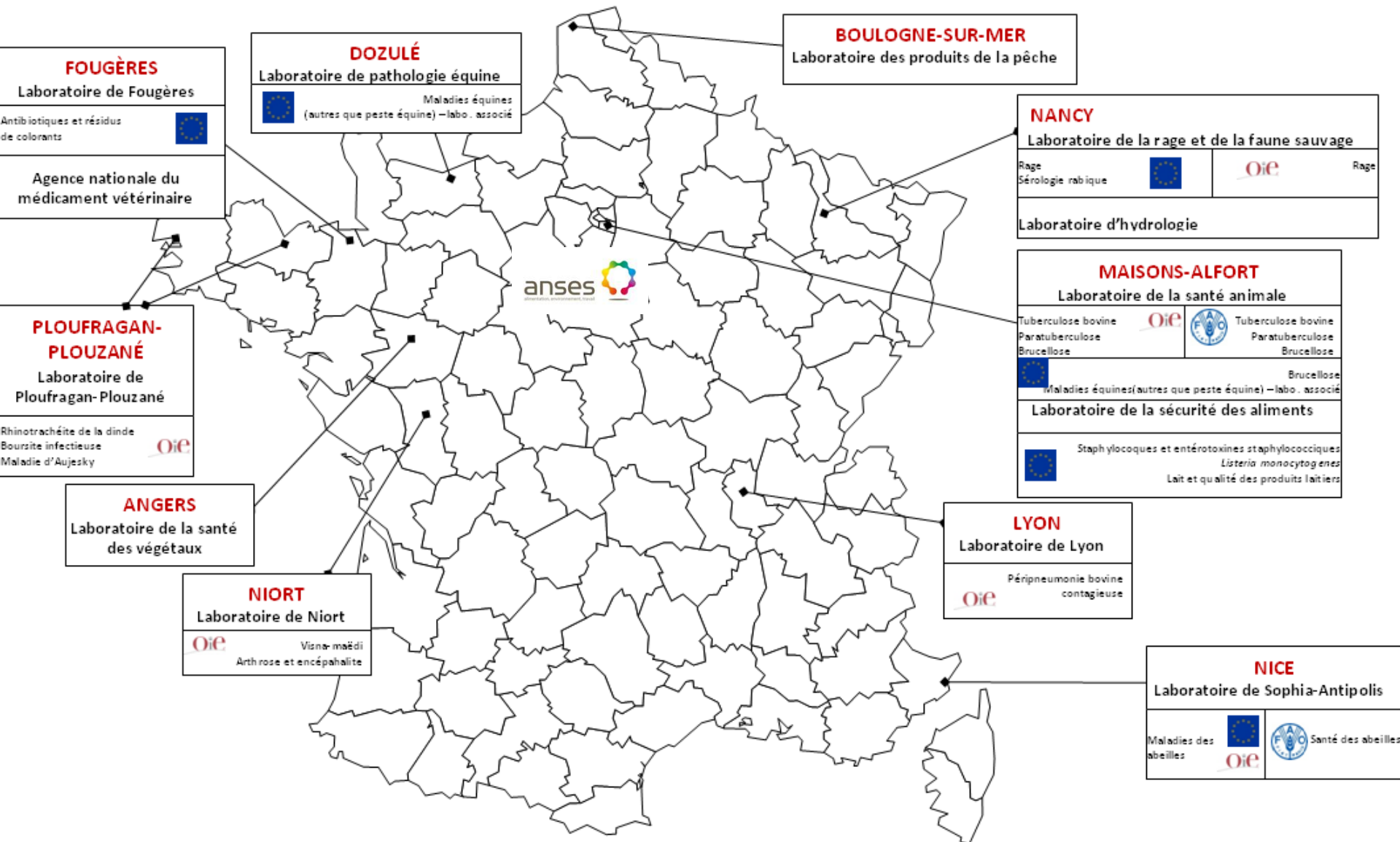
Espace presse

- **Dossiers thématiques**
- **Communiqués et dossiers de presse**
- **Contacts presse**

[> Accéder à l'espace presse](#)

[Appels à projets et consultations publiques](#)

Laboratoires de l'ANSES



Secrétariat

Pascale Rivier (ANSES) (CDI)

ZIENTARA Stephan (ANSES)
Directeur

RICHARDSON Jennifer (INRA)
Directrice Adjointe

BAKKALI - KASSIMI Labib (ANSES)
Adjoint au Directeur

Services communs

ALLAL Aurélie (ANSES) (CDI)
BEBE-LONGANGE Olivier (ANSES) (CDDI)
JEAN-MORENS Andrée-Rose (INRA)

Equipe Vaccins Adénoviraux

KLONJKOWSKI Bernard (DGER)
Responsable
RICHARDSON Jennifer (INRA)
Responsable

Chercheurs et enseignants
chercheurs
CORDONNIER Nathalie (DGER)
KLONJKOWSKI Bernard (DGER)
RICHARDSON Jennifer (INRA)

ITA

GALEA Sandra (DGER)
GAVARD Françoise (INRA)

Thèse d'université
SULEMAN Muhammad (Paris VII)
ZHOU Xiaocui (Paris EST)
CAROZZO Marlène (Anses-Cirad)

Master 2

Equipe Virus entériques et Barrière d'Espèces

LE PODER Sophie (DGER)
Responsable
PAVIO Nicole (ANSES)
Responsable

Chercheurs et enseignants
chercheurs
LE PODER Sophie (DGER)
PAVIO Nicole (ANSES)

ITA
BARNAUD Elodie (ANSES) (CDI)
DUARTE Lidia (INRA)

Post-Doctorant
ROGEE Sophie

Thèse d'université
BOUQUET Jérôme

Master 2
AHODANTIN James

Equipe Physiopathologie des Orbivirus

ZIENTARA Stéphan (ANSES)
Responsable
BREARD Emmanuel (ANSES)
Responsable

Chercheurs et enseignants chercheurs
BREARD Emmanuel (ANSES)
VITOUR Damien (ANSES) (CDI)
ZIENTARA Stéphan (ANSES)

HANS Aymeric* (ANSES)

ITA
ADAM Micheline (INRA)
DESPRAT Alexandra (ANSES) (CDD)
SAILLEAU Corinne (ANSES)
VIAROUGE Cyril (ANSES) (CDI)

Post-Doctorant
BERGERON Corinne

Thèse d'université
CHAUVEAU Emilie

Equipe Biologie des Picornavirus

BAKKALI-KASSIMI Labib (ANSES)
Responsable

Chercheurs et enseignants
chercheurs
BAKKALI KASSIMI Labib (ANSES)
BLAISE-BOISSEAU Sandra (ANSES)

ITA
GORNIA Kamila (ANSES) (CDI)
RELMY Anthony (ANSES) (CDI)
ROMÉY Aurèle (ANSES)

Thèse d'Université
CAROCCI Margot (Paris VII)

Master 2
LEBOUCHER Emilie

Equipe Neurovirologie de zoonoses

COULPIER Muriel (INRA)
Responsable
LECOLLINET Sylvie (ANSES)
Responsable

Chercheurs et enseignants
chercheurs
BECK Cécile (ANSES)
COULPIER Muriel (INRA)
LECOLLINET Sylvie (ANSES) (CDI)

ITA
BAHUON Céline (ANSES)
LOWENSKI Steeve (ANSES) (CDD)
MAINGAULT Josiane (ANSES)

Post-Doctorant
DONADIEU Emilie

Animateur QUALITE INRA : GAVARD Françoise

Correspondant H. & S. ENVA : ADAM Micheline

Correspondant H. & S. ANSES : SAILLEAU Corinne, RELMY Anthony (titulaires), DESPRAT Alexandra, LOWENSKI Steeve (suppléants)

Bioécrité ENVA : KLONJKOWSKI Bernard

Expérimentation animale ENVA:LEPODER Sophie

Réunions scientifiques :LEPODER Sophie

Equipements : BAKKALI KASSIMI Labib

Correspondant QUALITE ANSES : BAKKALI-KASSIMI Labib

Correspondant FORMATION : RIVIER Pascale

LA FIEVRE APHTEUSE

ATELIER DE FORMATION SUR LE DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE APHTEUSE

21 mai 2012

Labib BAKKALI KASSIMI
Labib.bakkali-kassimi@anses.fr
Agence Nationale de Sécurité Sanitaire
Laboratoire de Santé Animale de Maisons-Alfort



1916 USDA

Fièvre Aphteuse (FA)

Maladie ancienne mais reste une menace...

1514 Italie — — — — — 1898 — — — — — ➔ 2012

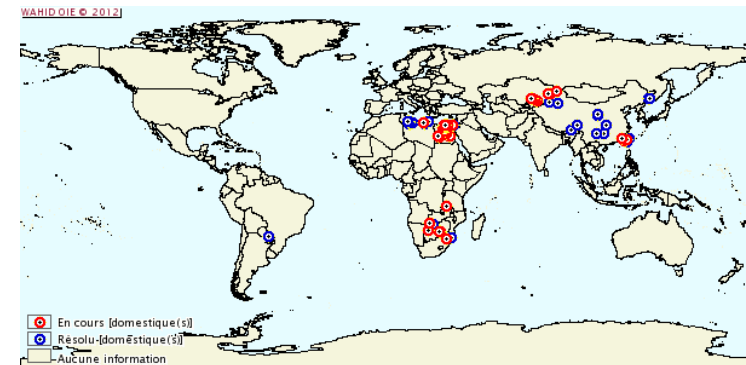
Description de la maladie

Identification de l'agent



JAMES CHAPMAN and KIRSTY WALKER

UK 2001



HISTORIQUE

- Longtemps confondue avec d'autres infections telle que la peste bovine.
- 1^{ère} épizootie décrite en 1514 par Girolamo en Italie
- En France 1^{ère} description 1662
- 1764 (Michel Sagar, Moravie), individualisation clinique
- 1808 l'italien Toggia la nome « fièvre aphteuse »
- 1860 prise de conscience de l'importance de la maladie par les pouvoirs publics (Allemagne réservoir en européen à cette époque)
- 1897 (Loeffler et Frosch) mise en évidence du virus (Premier virus isolé dans l'histoire de la virologie)
- 1922 (Vallée et Carré) identification des sérotypes O (Oise) et A (Ardennes)
- 1926 (Waldmann et Trautwein) identification du sérotype C (Allemagne)
- 1936 (Lawrence) identification des sérotypes SAT1 (South African Territories), SAT2, SAT3 et Asia 1 (Asiatique)
- 1926 (Vallée, Carré et Rinjard) préparation vaccin formolé à partir d'épithélium lingual
- 1938 (Waldmann et Köbe) vaccin FA formolé adsorbé sur hydroxyde d'aluminium, chauffé et normalisé

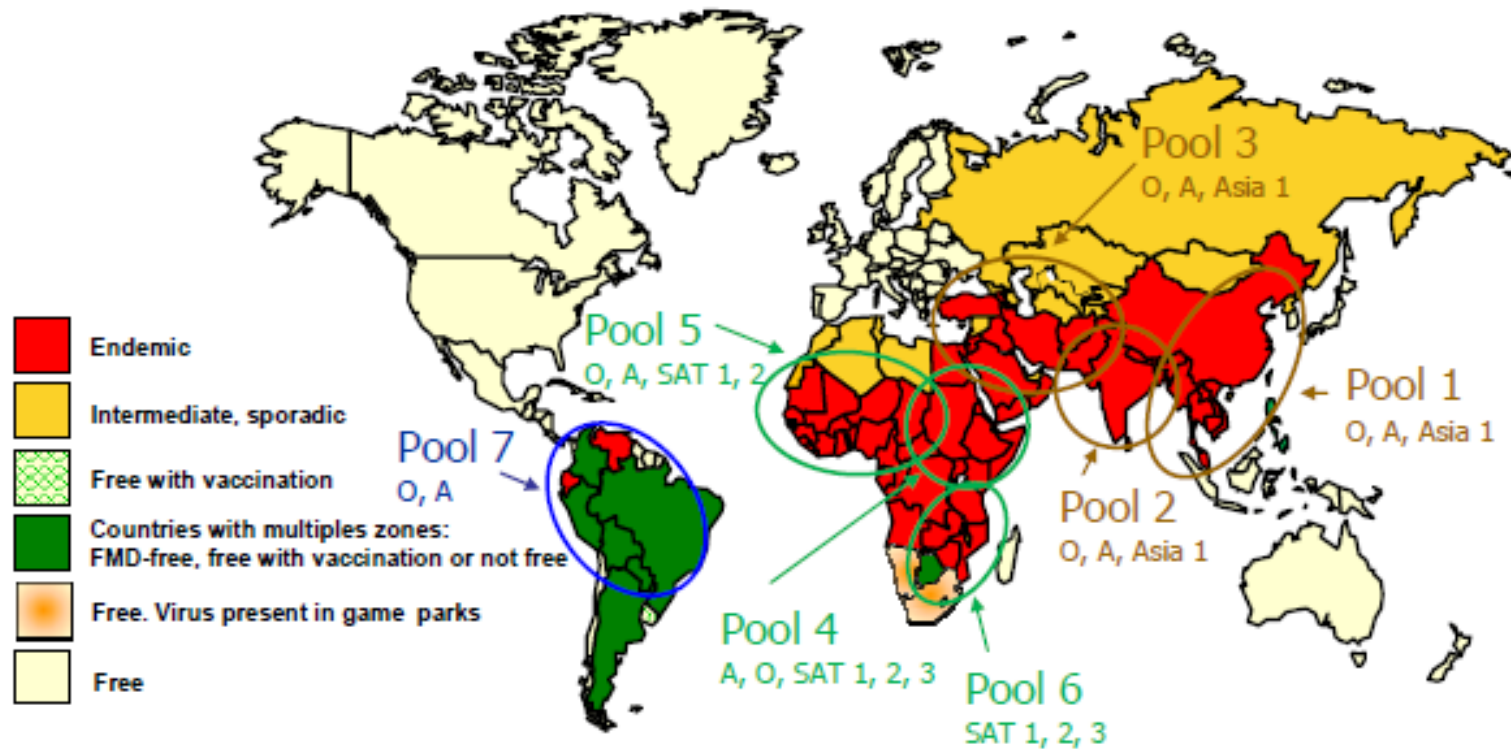
- 1901 Inauguration du Centre National de Recherche d'Alfort
- 1909 Institut de l'Ile de Riems (Allemagne)
- 1924 Weybridge et Pirbright (Angleterre)

LA MALADIE

- Extrêmement contagieuse
- Conséquences économiques dramatiques
- Très forte morbidité, faible mortalité
- Historiquement, l'un des virus les plus étudiés
- Répartition mondiale
- Sept sérotypes (O, A, C, Asia I, SAT1-3), absence d'immunité croisée.

LA MALADIE

Carte de distribution de la FA

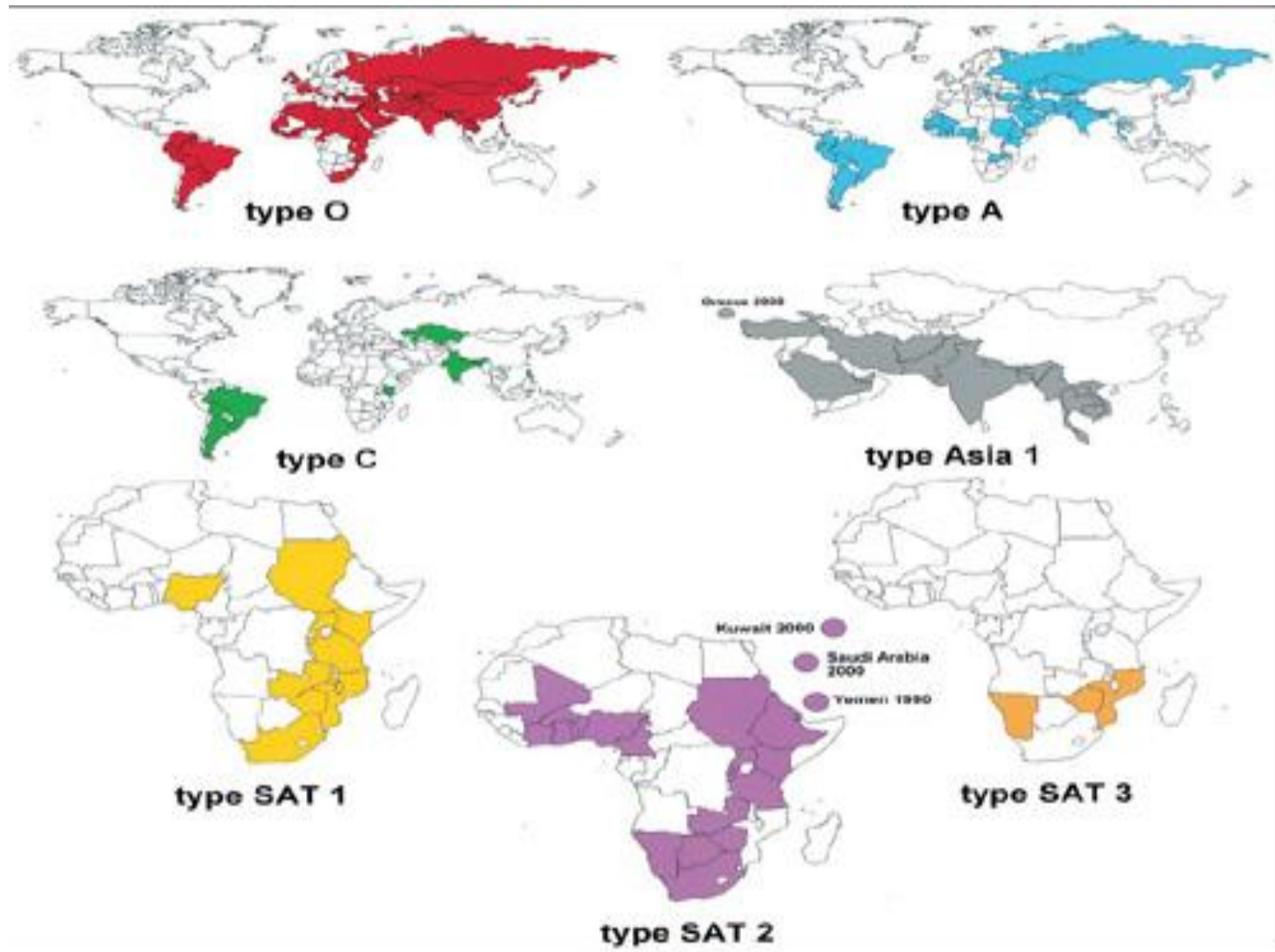


Pool positions are approximate and colours indicate that there are three principal pools, two of which can be subdivided into overlapping areas

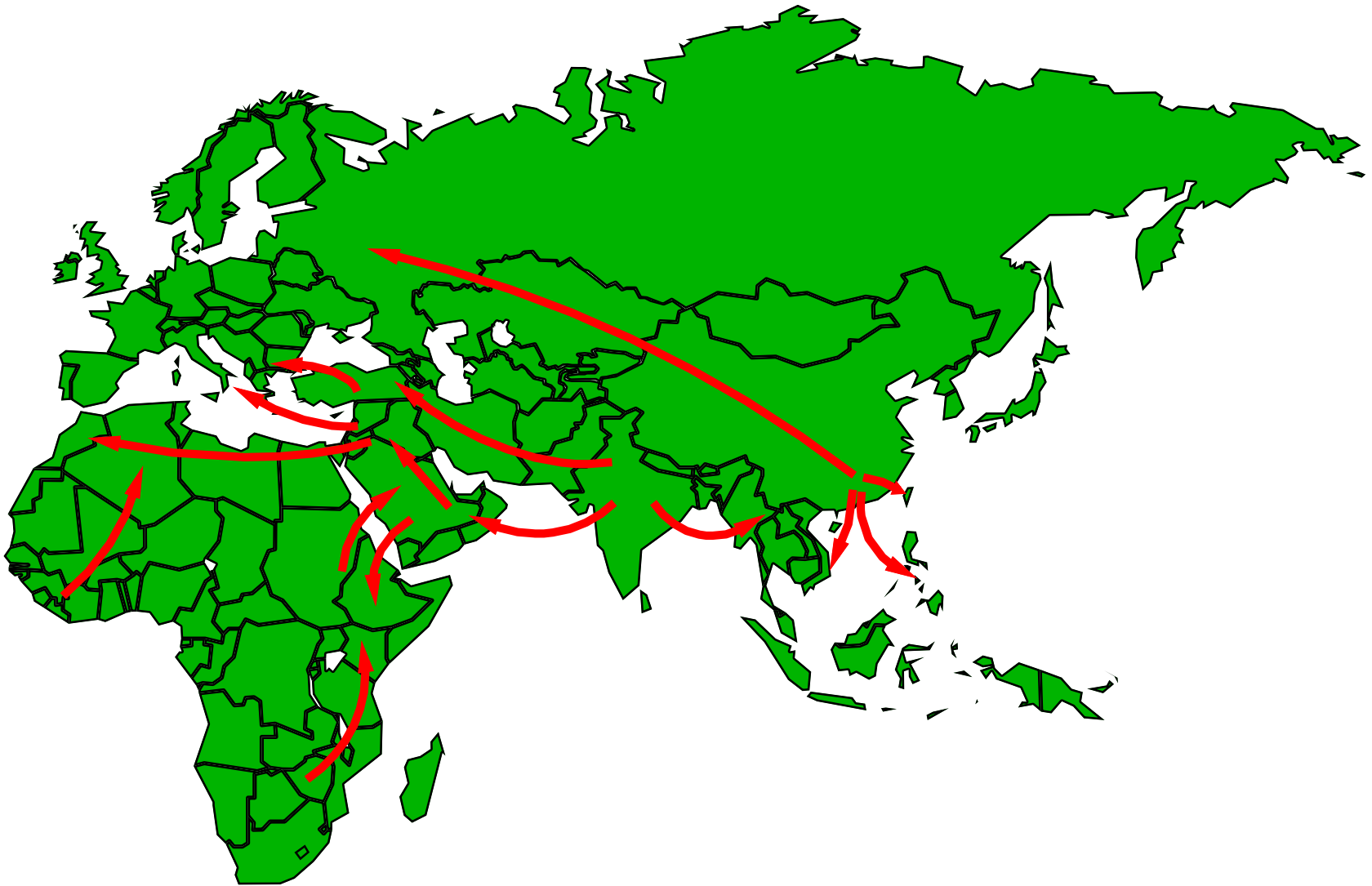
Paton D J et al. Phil. Trans. R. Soc. B 2009

LA MALADIE

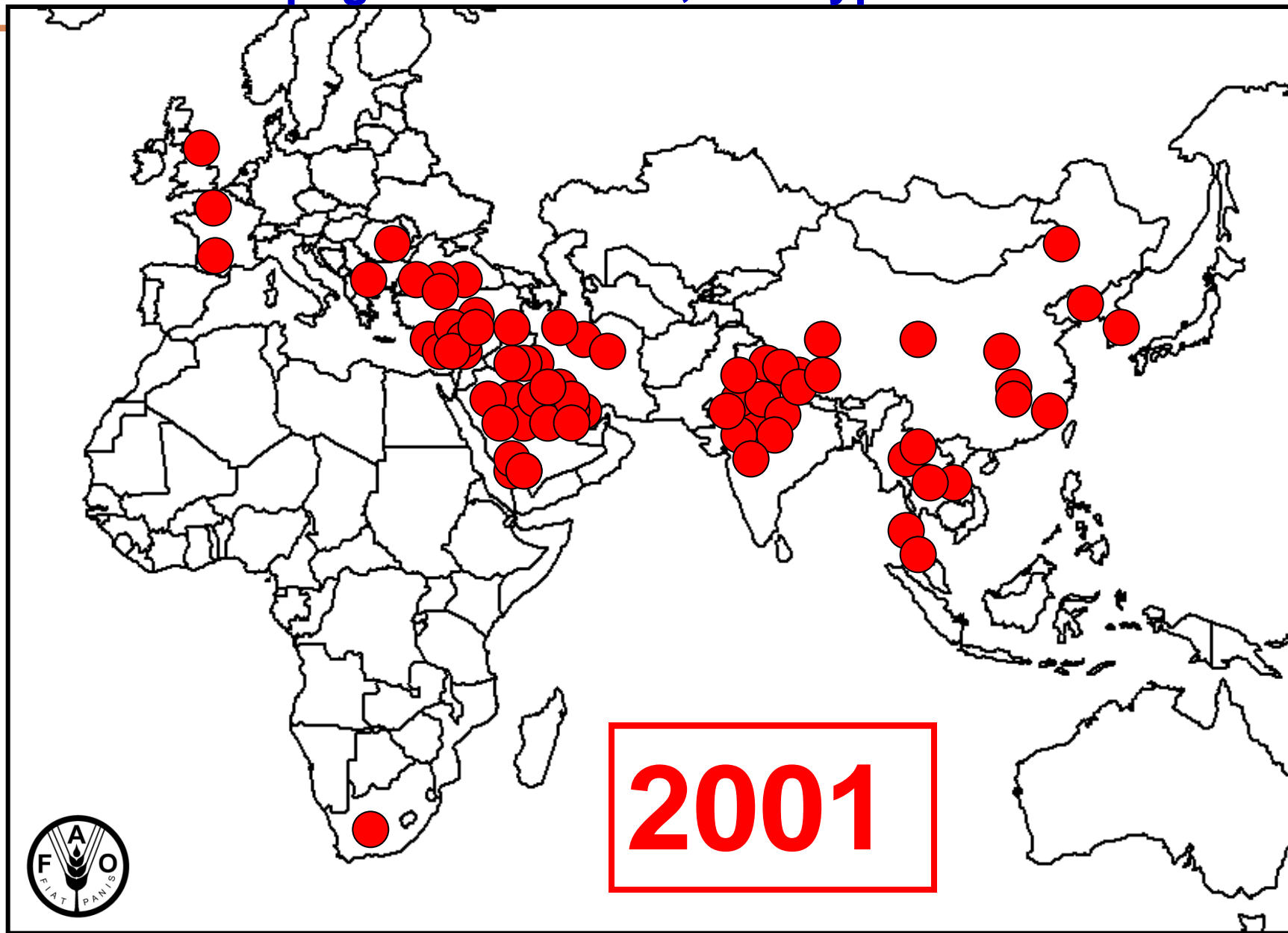
Carte de distribution de la FA 2000-2008



Propagation de FMDV



Propagation de la FA, Serotype O S-Asia



ESPÈCES AFFECTÉES

- Tous les artiodactyles:

Bovidae

Suidae

Ovidae, Capridae

Cervidae, Camelidae

mais aussi éléphant, girafe, ours,

- Transmission à l'espèce humaine anecdotique



SIGNES CLINIQUES

- Incubation: fièvre, anorexie → 2-8 j
 - Formation des vésicules: naseaux, mufle, langue, gencives, bourrelet coronaire, fente interdigitée, talons, mamelle, rumen → 2 j
 - Rupture des vésicules, ulcérations, infections → 2-3 j
 - Nécroses → 4-5 j
 - Avortement et mortalité chez les jeunes sans signes cliniques
 - Cicatrisation → 2-8 j
- (boiterie, hypersalivation, chute de la production lactée)

BOVINS

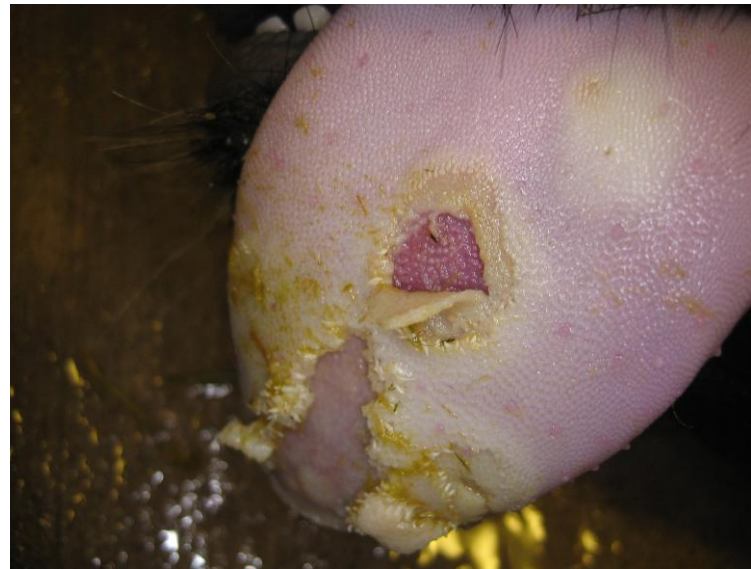


**salivation excessive, bave, jetage
nasal séreux**

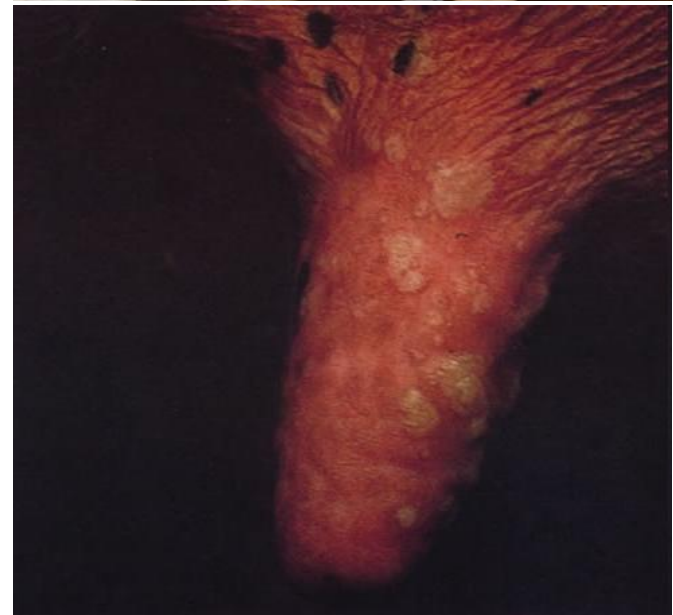
BOVINS



JF Valarcher



BOVINS

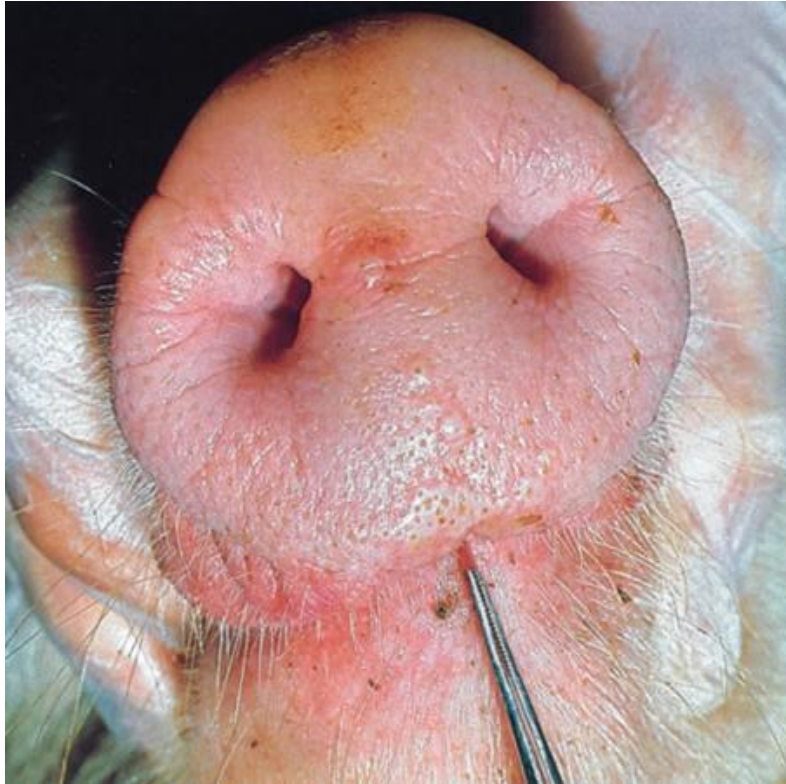


BOVINS



JF Valarcher

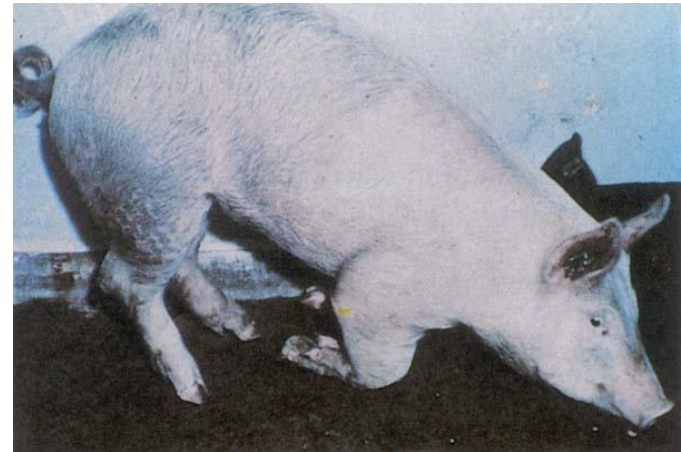
PORCINS



PORCINS



PORCINS



PETITS RUMINANTS



Ulcérations sur la gencive d'une chèvre
(photo J-M Gourreau, AFSSA)



Aphtes non rupturées sur la langue d'un mouton (photo J-M Gourreau, AFSSA)

PETITS RUMINANTS





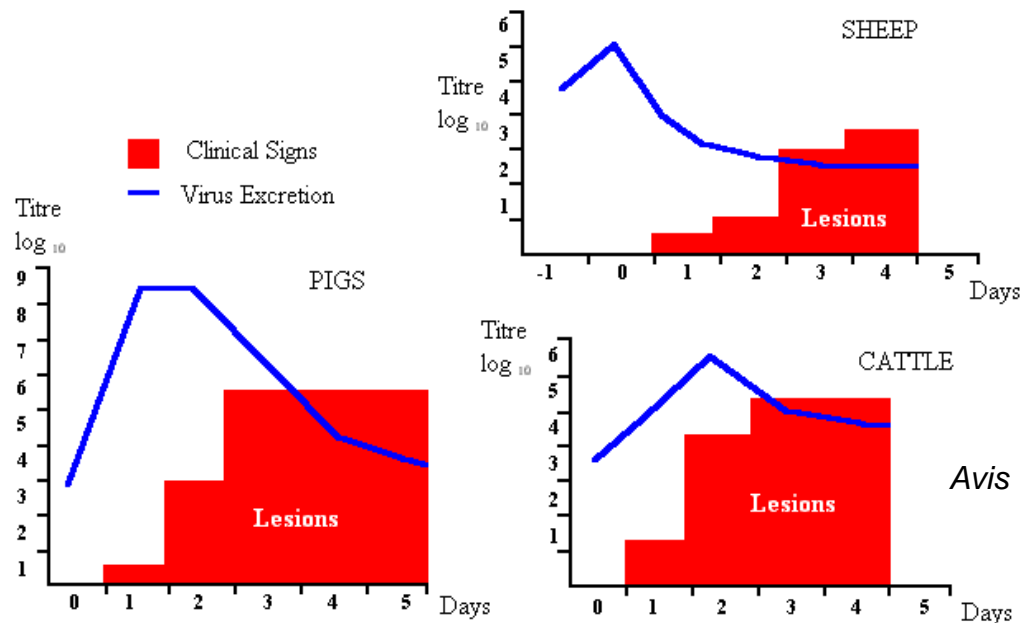
EXPRESSION CLINIQUE

- Bovin +++ animal révélateur
- Porc ++ amplificateur
- Mouton, chèvre + disséminateurs

PATHOGÉNÈSE

Source du virus:

- contact direct ou indirect avec des animaux infectés ou un environnement contaminé
- transfert aérienne de gouttelettes est probablement le mode le plus commun de transmission

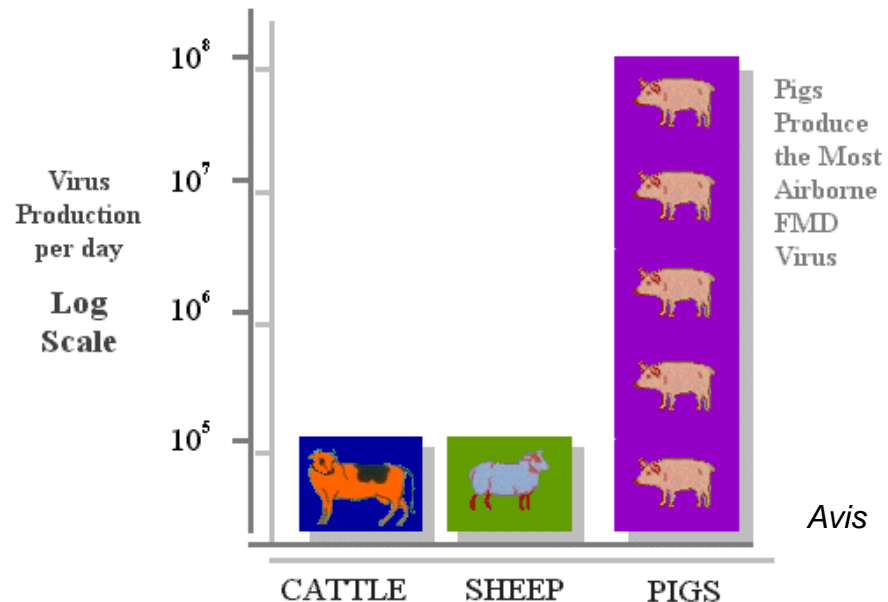


PATHOGÉNÈSE

Source du virus:

Porcs libèrent de grandes quantités de virus en suspension dans leur souffle expiré

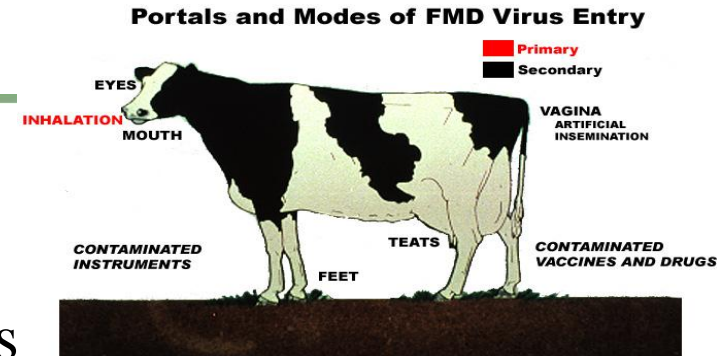
- Porcs infectés: jusqu'à 400 millions TCID₅₀/jour
- Ruminants excrètent un maximum de seulement 1.2×10^5 TCID₅₀/jour



Source du virus:

Virus présent dans toutes les sécrétions et excrétions

- Rupture des vésicules. ($> 10^9$ DI₅₀/ ml)
- Sécrétions lacrymales (bovins: $10^{6.1}$ à $10^{7.0}$ DI₅₀/éch.)
- La salive (bovins: 10^6 à $10^{8.8}$ DI₅₀/ml)
- Urine (bovins: $10^{2.5}$ à $10^{5.5}$ DI₅₀/ml)
- Les matières fécales (bovins: de 10^2 à $10^{3.3}$ DI₅₀/g)
- Lait (bovins: 10^3 à $10^{4.5}$ DI₅₀/ml)
- Sperme: variable en quantité et en durée



Voies d'entrée:

- voie respiratoire:

Voie majeure d'infection chez les ruminants

- Bovins et ovins: de très petites doses de virus peut déclencher l'infection ($10\text{-}25 \text{ TCID}_{50}$)
- Porcs: faut 100 fois plus de virus, mais plus grands générateurs d'aérosols infectés

- voie orale:

Des doses de virus beaucoup plus élevés sont nécessaires pour infecter des animaux par voie orale.

- Les ruminants sont rarement infectés naturellement par cette voie (10^5 TCID_{50} pour les bovins).
- Porcs: voie fréquente

- voie cutanée:

A travers des blessures dans la peau ou des muqueuses

La réponse en anticorps contre la fièvre aphteuse

- les anticorps circulants sont détectés par ELISA 3 à 5 jours à compter de la première apparition de signes cliniques,
- Des niveaux élevés d'anticorps sont atteints 2 à 4 jours plus tard
- Anticorps sont détectés habituellement par SN 1 à 2 jours plus tard que ELISA
- Le titre d'anticorps reste habituellement à un niveau relativement élevé pendant plusieurs mois après l'infection et les anticorps peuvent encore être détectés pendant plusieurs années chez les ruminants
- Chez les porcs, en particulier chez les jeunes en croissance rapide, les anticorps peuvent ne pas être détectables après quelques mois

(“carriers animals”)

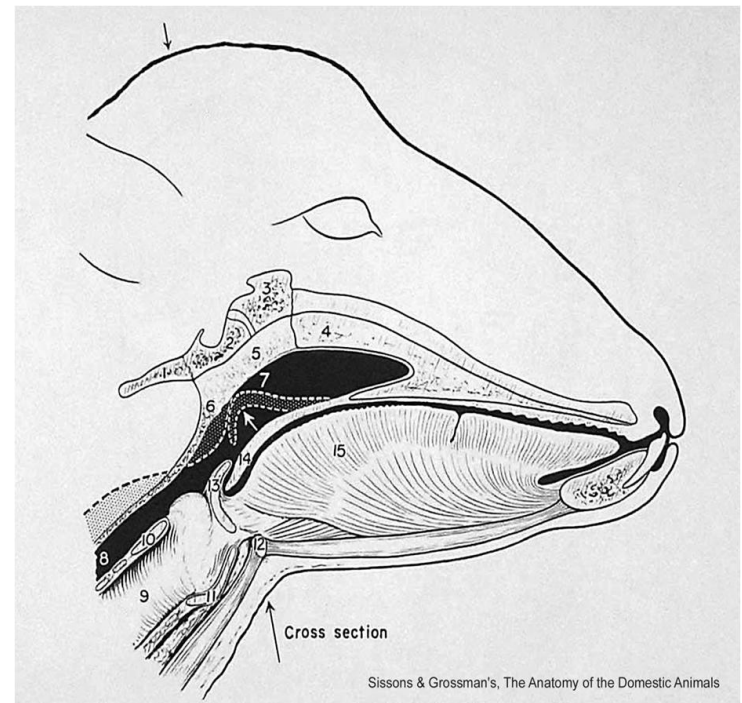
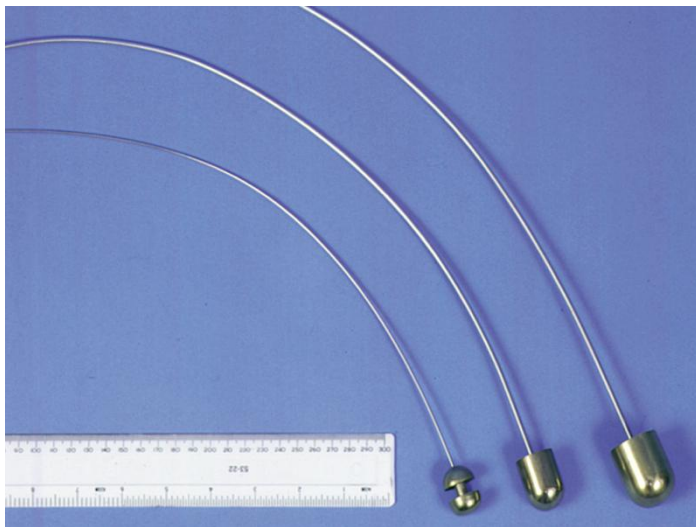
- Animal chez qui le virus peut être isolé à partir d'un prélèvement du pharynx plus de 28 jours post infection.
- Les porcs ne deviennent pas infectés de façon persistante.
- Jusqu'à 50% des ruminants deviennent infectés de façon persistante après la guérison clinique.
- Cette persistance de l'infection, ou l'état de porteur, se produit indépendamment du statut immunitaire de l'animal
- Les bovins vaccinés peuvent devenir porteurs après une exposition à l'infection

Infection persistante et portage asymptomatique

(“carriers animals”)

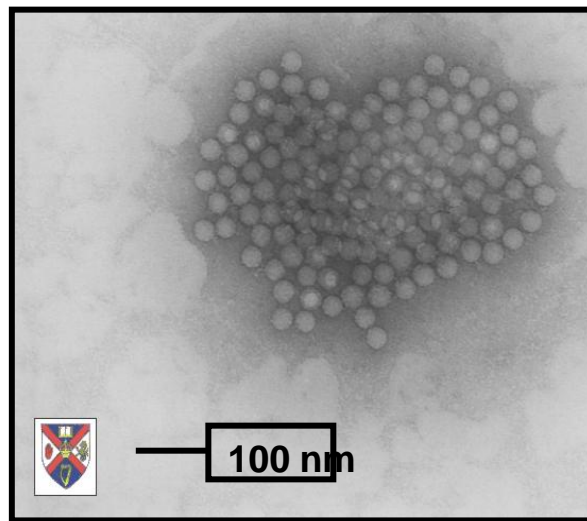
Durée maximale de l'état de portage enregistrée :

- | | |
|-------------------|---|
| - Bovins | 3,5 ans (généralement environ 1 an) |
| - Ovins | 9 mois (généralement entre 1 et 5 mois) |
| - Caprins | 4 mois |
| - Buffle africain | 5 ans |



Virus de la Fièvre Aphteuse (FMDV)

En 1897, Loeffler et Frösch élucidèrent la nature transmissible de la fièvre aphteuse et démontrèrent, pour la première fois, qu'une maladie animale pouvait être causée par un virus...



CLASSIFICATION

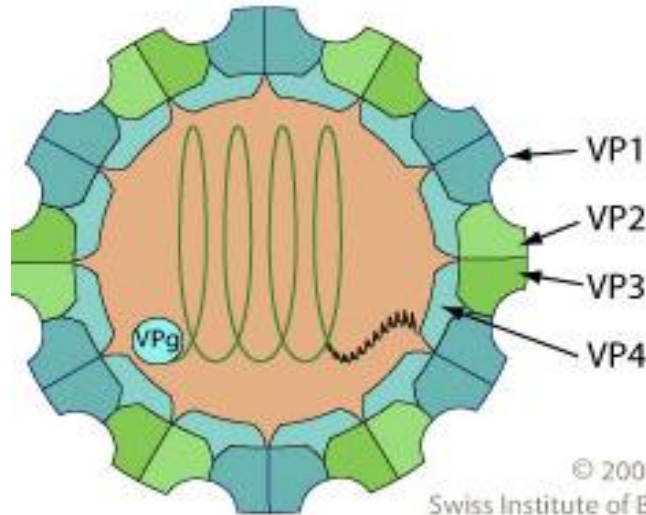
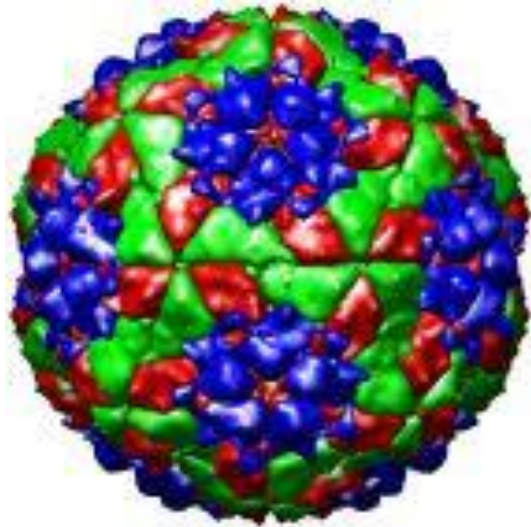
Famille des Picornaviridæ

12 genres dont 5 présents chez l'homme: (ICTV 2009)

- **Les entérovirus** : les poliovirus, les virus coxsackie et les entérovirus
les rhinovirus humains de type A et B
- ***Les aphtovirus*** : les virus de la FA (7 sérotypes : O, A, C, Asia1, SAT1, SAT2, SAT3),
le virus de la rhinite équine de type A et le virus de la rhinite bovine B
- **Les cardiovirus** : le virus de l'encéphalomyocardite et le virus de Theiler
- **Les hépatovirus** : le virus de l'hépatite A
- **Les paréchovirus** : les paréchovirus humains
- **Les erbovirus** : le virus de la rhinite équine de type B
- **Les kobuvirus** : le virus Aïchi
- **Les teschovirus** : le virus de la maladie de Teschen chez le porc (entéro virus porcins 1-7)
- ***Les sapelovirus*** : le Porcine sapelovirus
- ***Les senecavirus*** : le Seneca Valley virus
- ***Les tremovirus*** : Avian encephalomyelitis virus
- ***Les avihepatovirus*** : Duck hepatitis A virus

STRUCTURE

24 nm de diamètre



VP1

VP2

VP3

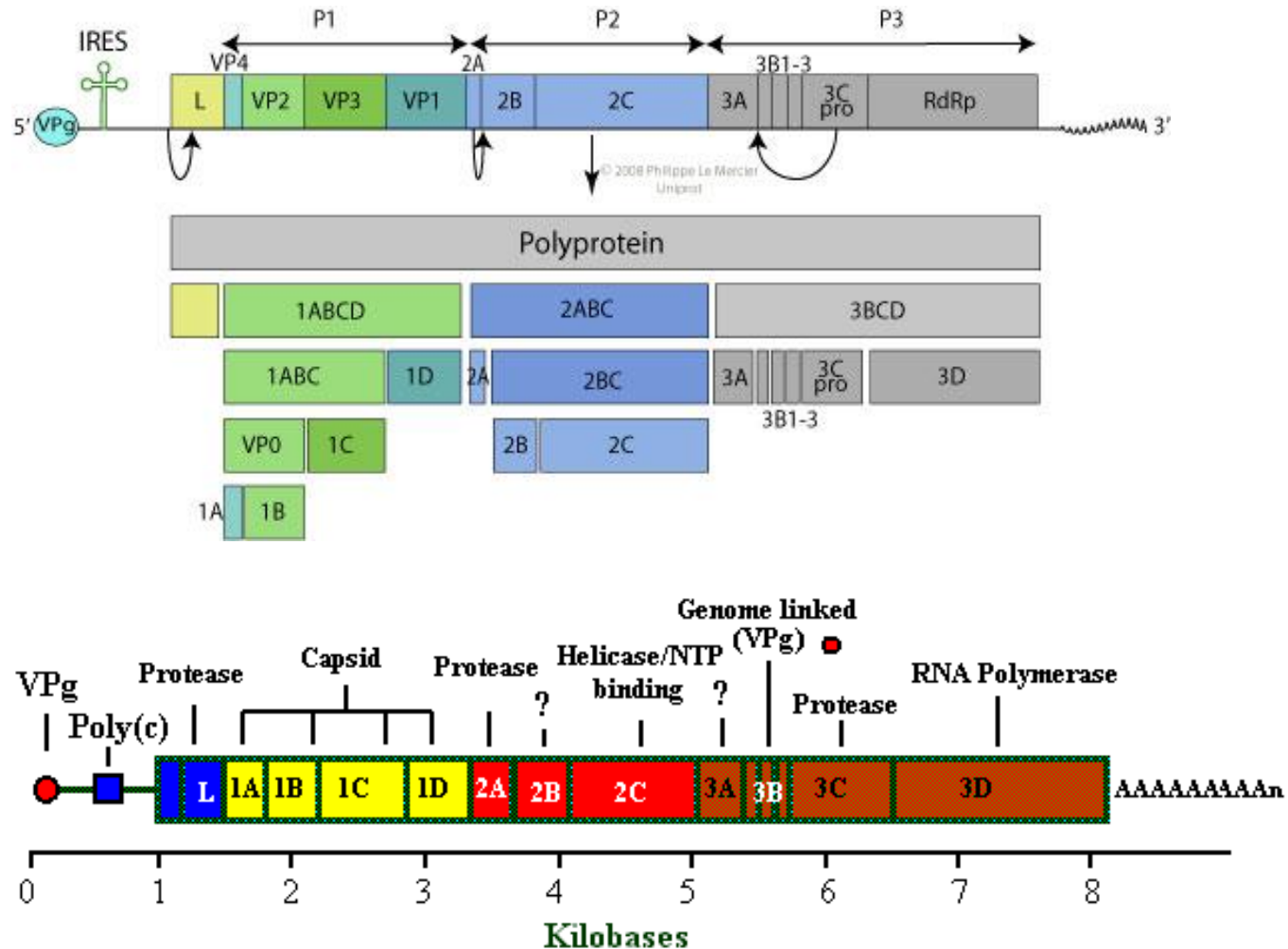
Acide labile (inactivé pH < 6-6.8 ou pH > 9, stable à pH 7.2-7.6)



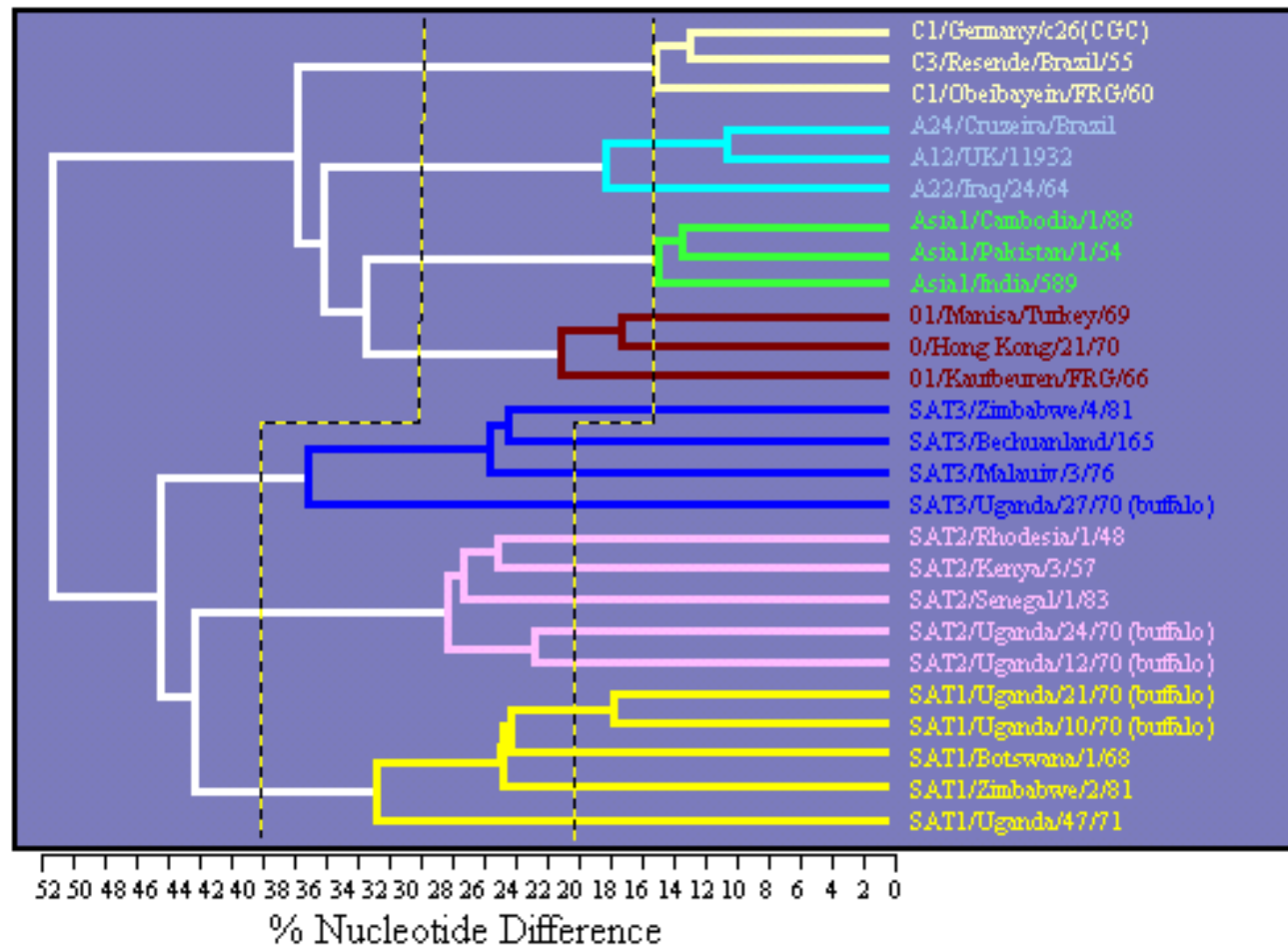
Wellcome Images

GENOME

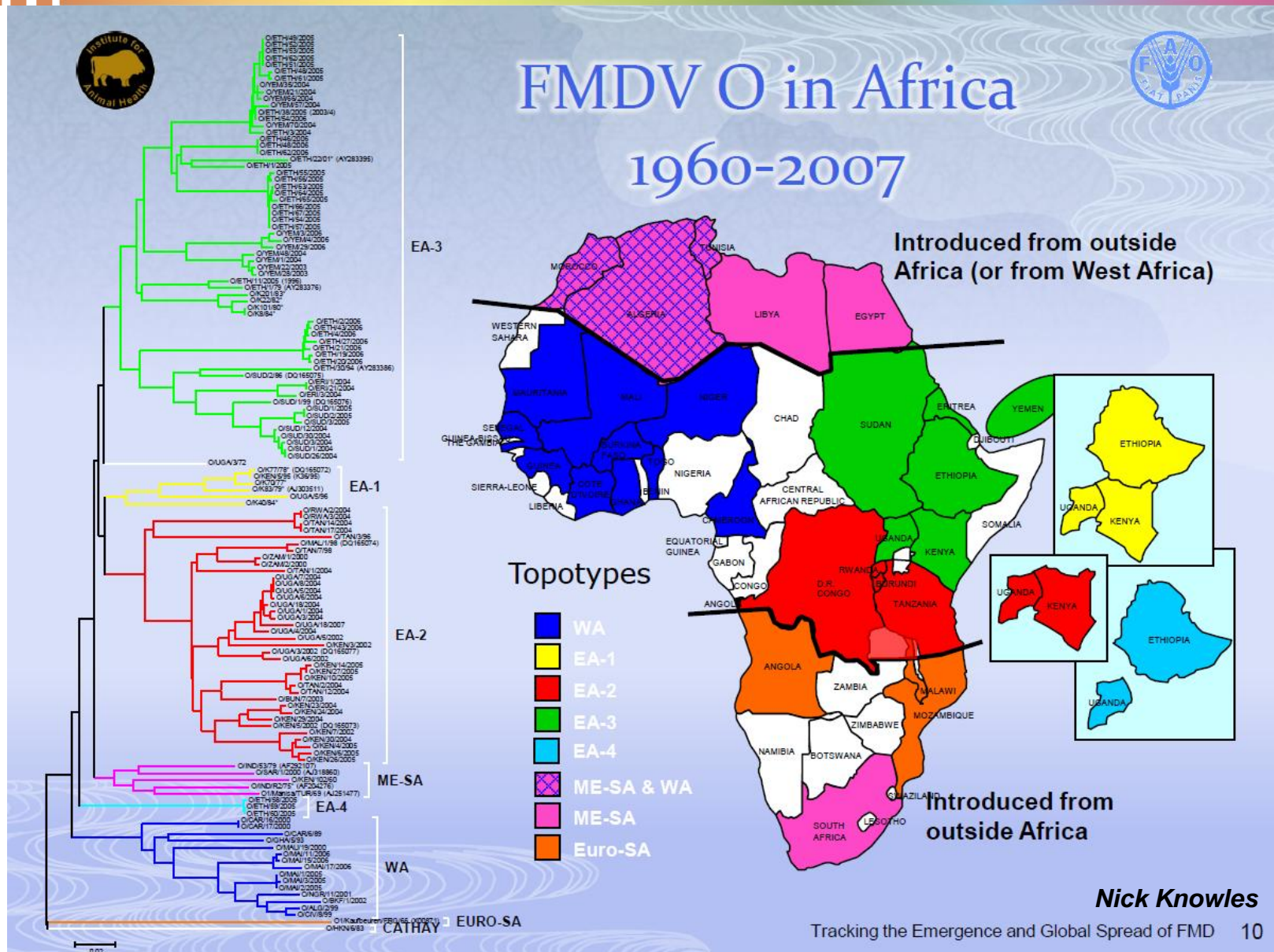
ARN simple brin de polarité positive, ~8,5 kb



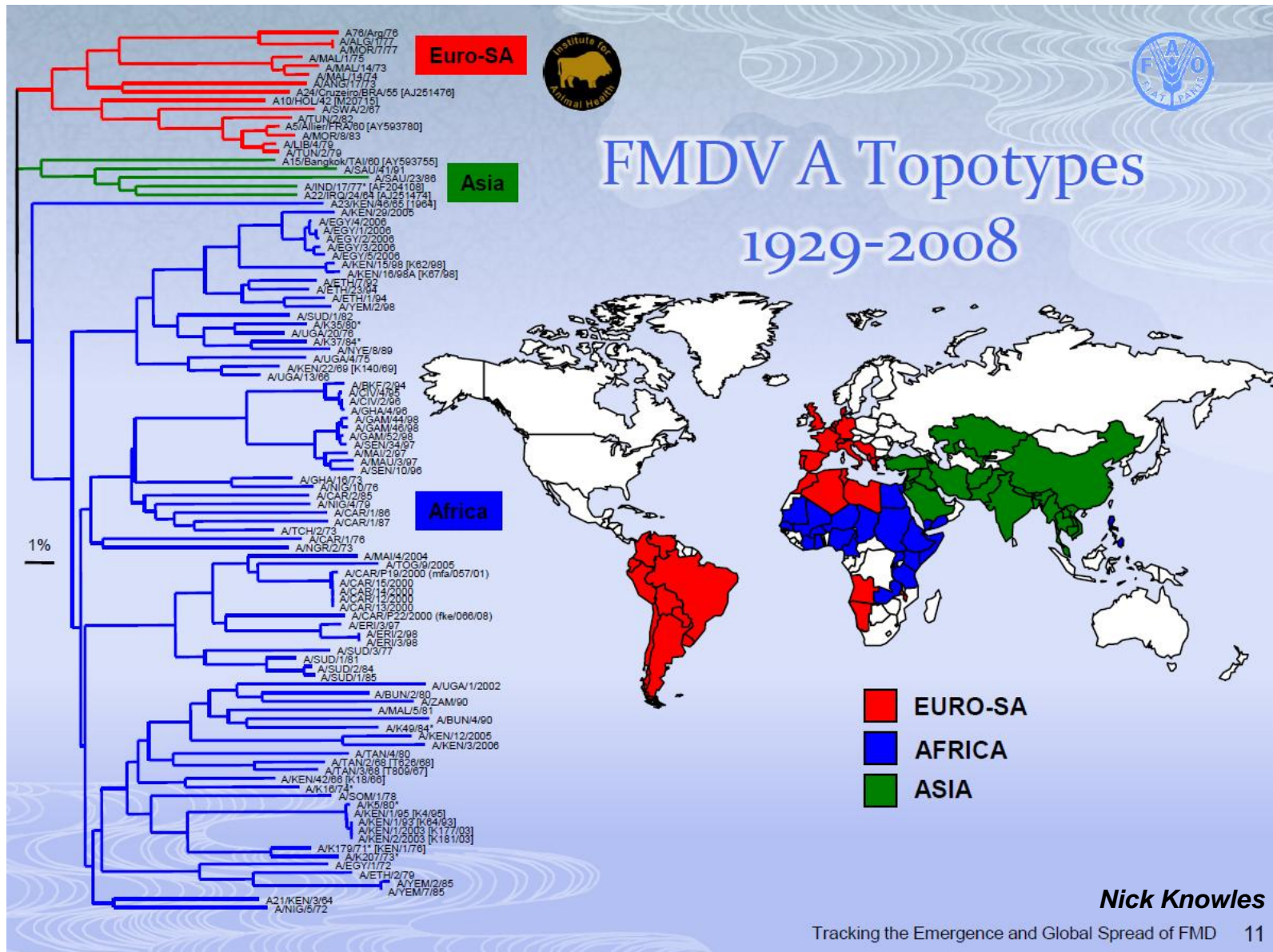
Relations génétiques entre les sept sérotypes de FMDV



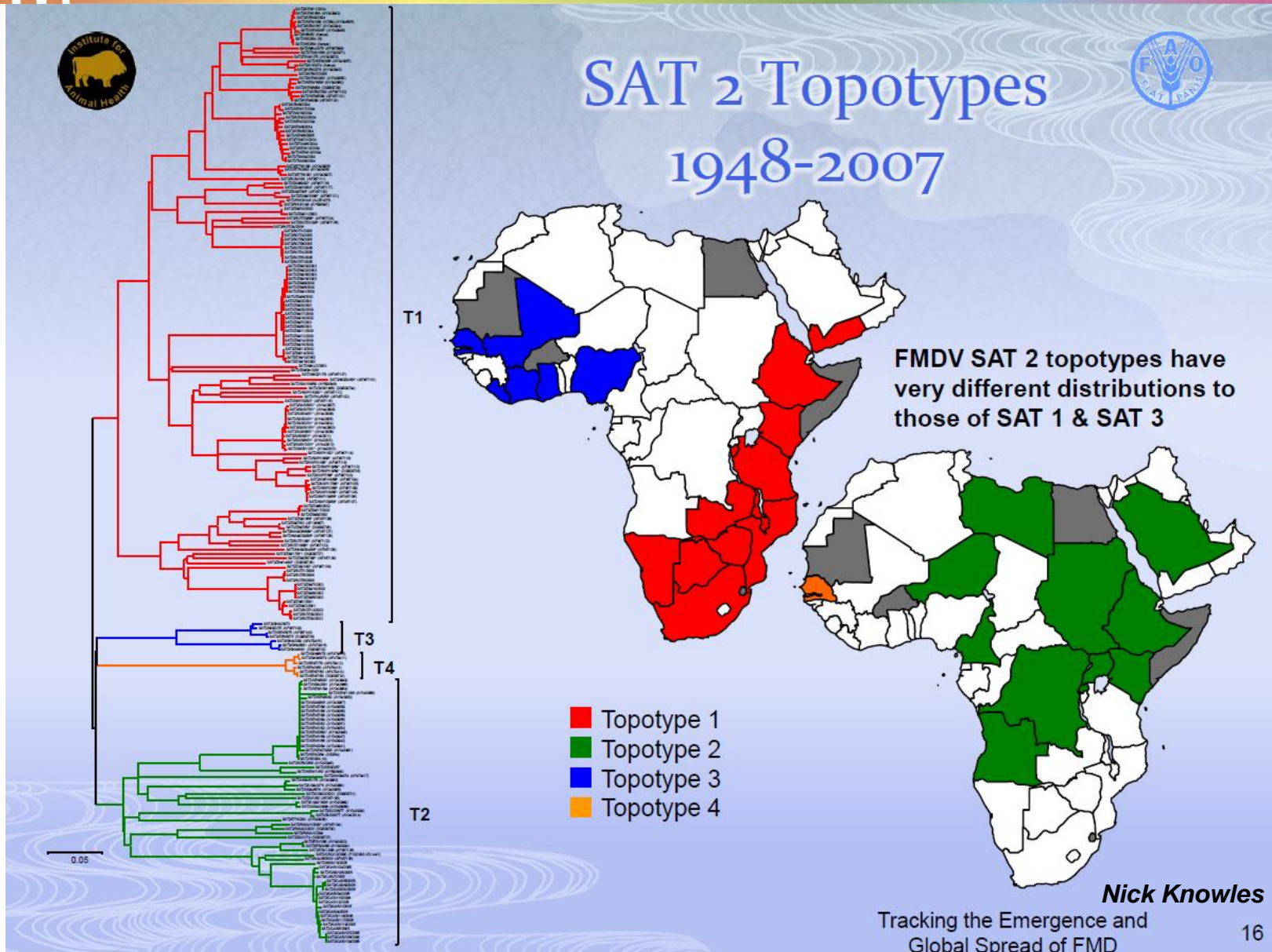
TOPOTYPES Type O



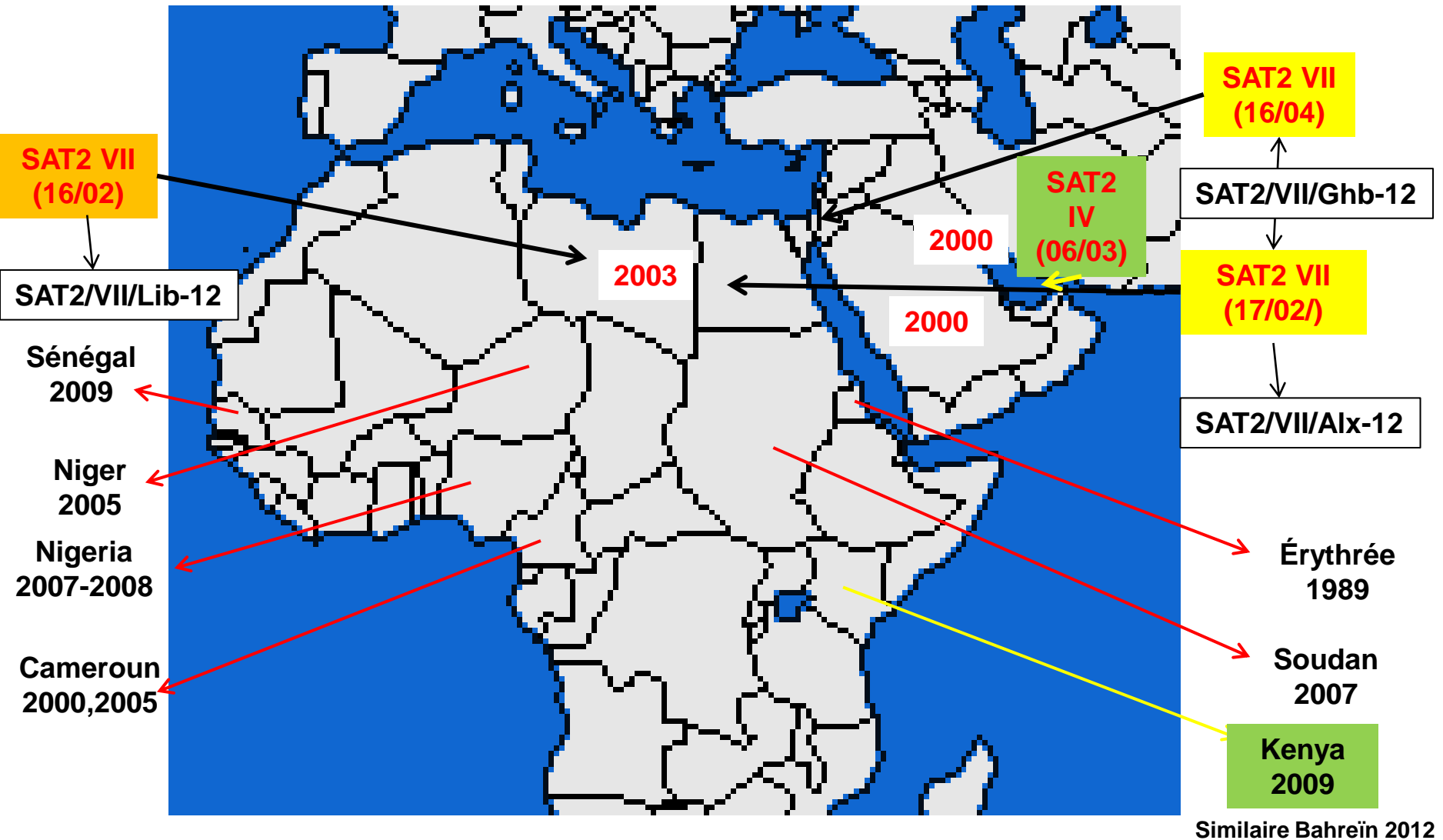
TOPOTYPES Type A



TOPOTYPES Type SAT2

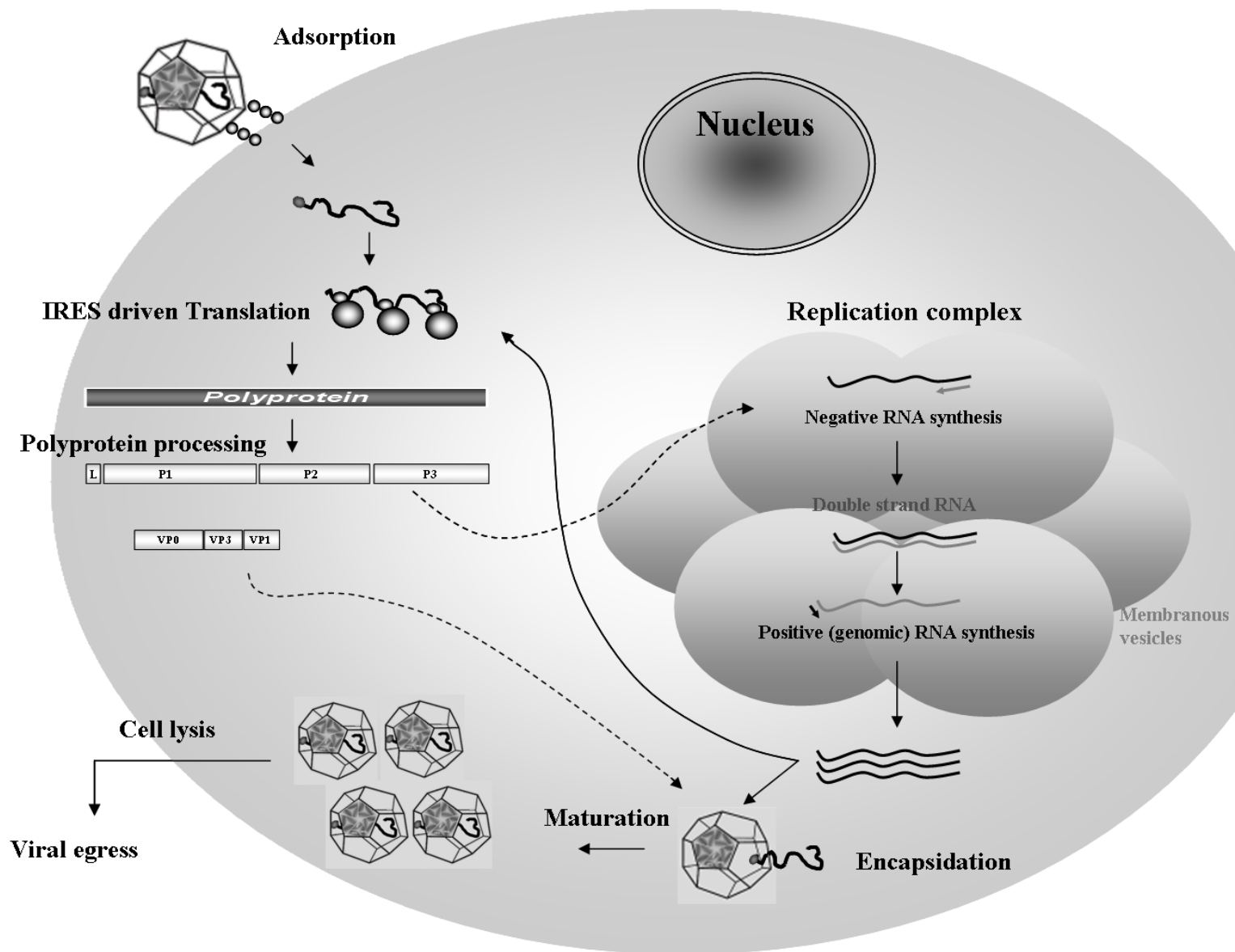


Situation SAT2 actuelle



Source <http://www.promedmail.org> 07/05/2012

Cycle Viral



STABILITE DU VIRUS

- **pH:** inactivé < 6.8 pH >11.

Optimal: pH: 7.2 à 7.6

pH

2

Survie

1 min

4

2 min

5.5

30 min

5.8

18 h

11

2 h

12

2.5 min

13

2.5 min

- **Température**

4

Survie

1 année

22

8-10 semaines

37

10 jours

56

<30 min

STABILITE DU VIRUS

Environnement

Dépend du pH, température, humidité et concentration initiale

- Jusqu'à 20 semaines dans le foin/paille ou jusqu'à 4 semaines sur les poils de la vache à 18-20C
- 14 jours dans les selles sèches, 39 jours dans les urines et jusqu'à 6 mois dans le lisier en hiver
- 3 jours dans le sol en été et 28 jours en automne

STABILITE DU VIRUS

Viande

- Inactivation dans la viande de carcasses soumise au processus normal d'acidification post-abattage.
- Conserve son infectiosité pendant de longues périodes dans les ganglions lymphatiques congelés ou réfrigérés, la moelle osseuse, et dans les caillots sanguins résiduels et pour des périodes plus courtes dans les abats.
- Peut rester viable pendant de longues périodes dans différents produits de viande salée ou marinée non traitée par acidification.

STABILITE DU VIRUS

Lait

- Peut être présent et rester viable pendant de longues périodes dans le lait non pasteurisé. Il peut aussi rester longtemps viables dans les produits laitiers qui n'ont pas été correctement pasteurisé, y compris la caséine et certains fromages.
- Dans le lait et les produits laitiers, le virion est protégé et peut survivre à des températures de 70°C pendant 15 secondes et un pH de 4,6.
- Chauffage du lait contaminé à T° entre 100°C et 138°C pendant 2-3 secondes n'inactive pas l'infection, mais aucun virus ne peut être détecté par inoculation à l'animal, après traitement à 148 ° C pendant 2-3 secondes.

STABILITE DU VIRUS

Semence

Il peut survivre presque indéfiniment dans la semence congelée et conservée pour l'insémination artificielle

DESINFECTANTS

Inactivé par:

- **Hydroxyde de sodium (2%)**
- **Carbonate de sodium (4%)**
- **Acide citrique (0.2%)**
- **Acide acétique (2%)**
- **Hypochlorite de sodium (3%)**
- **Peroxymonosulfate de potassium/chlorure de sodium (1%)**
- **Dioxyde de chlore**
- **Formaldehyde (4%)**

CONTRÔLE DE LA FIÈVRE APHTEUSE

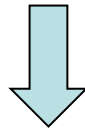
Protection de la santé animale est basée sur un système double:

- Mesures de prévention basées sur surveillance et protection des fermes,
- Lutte contre la maladie avec des plans d'urgence en cas de crise.

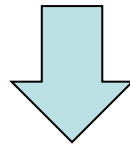
CONTRÔLE DE LA FIÈVRE APHTEUSE

Objectifs

- Empêcher le virus d'entrée sur le territoire
- Détecter et diagnostiquer rapidement la maladie
- Mettre en place rapidement les mesures de lutte et gestion des foyers

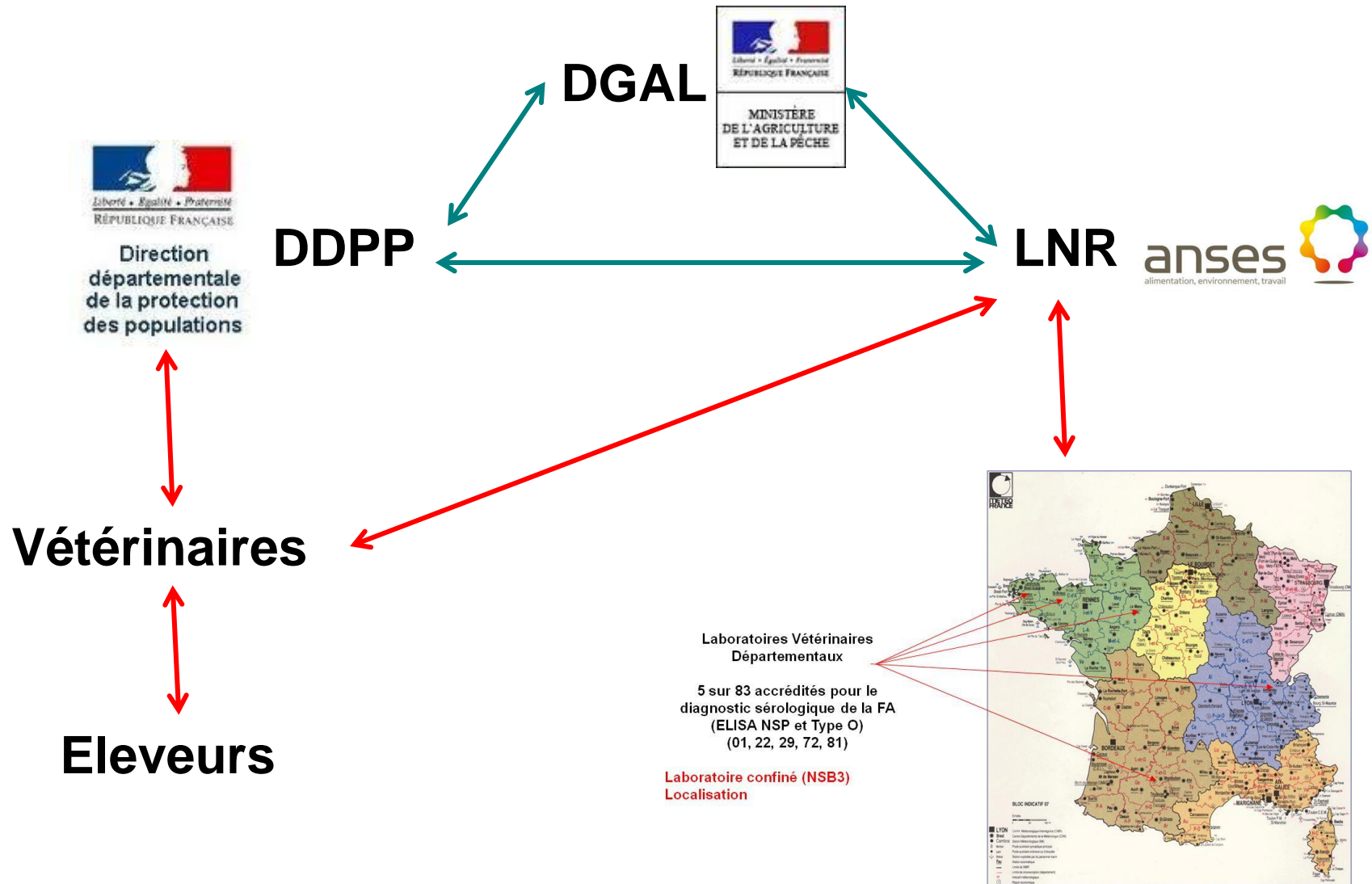


Plusieurs acteurs: éleveurs, vétérinaire, services vétérinaires, laboratoires d'analyse, autorités sanitaires, services douaniers



- Réseau de surveillance et de contrôle
- Actions collectives et coordonnées
- Actualisation et maintien du système (compétences, efficacité et réactivité doivent être renforcées et entretenues régulièrement)

Dispositif français de lutte contre la fièvre aphteuse



DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE APHTEUSE

Basé sur les données épidémiologiques et cliniques

- Hautement contagieuse
- Fièvre: température rectale jusqu'à 41° C
- Animal triste, déprimé et anorexique
- Baisse de la production de lait chez les vaches laitières
- Ecoulement nasal (séreux et devient muco-purulent)
- Formation des vésicules
 - ✓ Bouche 📍 +/- salivation
(examen: gencive, gencives, la langue, cavité buccale et les narines)
 - ✓ Pieds 📍 +/- boiterie
(examen: y compris la bande coronaire, l'espace interdigital, les bulbes de talon)
 - ✓ Glandes mammaires
- Mortalité chez les animaux jeunes en raison d'une myocardite suraiguë

DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

Difficile avec d'autres maladies vésiculeuses:

- **Stomatitis Vesicular (VS)**
Bovins, chevaux et porcs induite par un rhabdovirus (2 sérotypes IND et NJ). Présente sur le continent américain. Homme sensible (zoonose), syndrome fébrile.
- **Maladie Vésiculeuse du porc (SVD)**
Porcs, induite par un enterovirus. Vésicules principalement sur les pieds, mais parfois sur le museau et d'autres sites. Des foyers ont eu lieu en Europe (Portugal and Italie) et en Asie.
- **Exanthème vésiculeux (VE)**
Porcs, induite par un calicivirus. Vésicules sur museau, pieds et muqueuse buccale occasionnellement diarrhée, avortement et agalaxie. A eu lieu aux USA de 1932-1956.



Diagnostic de laboratoire

DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

	FMD	SVD	VE	VS
Bovins	+	-	-	+
Porcs	+	+	+	+
Ovins/Caprins	+	-	-	Rare
Chevaux	-	-	-	+
Humains	Très rare	Rare	-	+

DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

- **Bovin:**

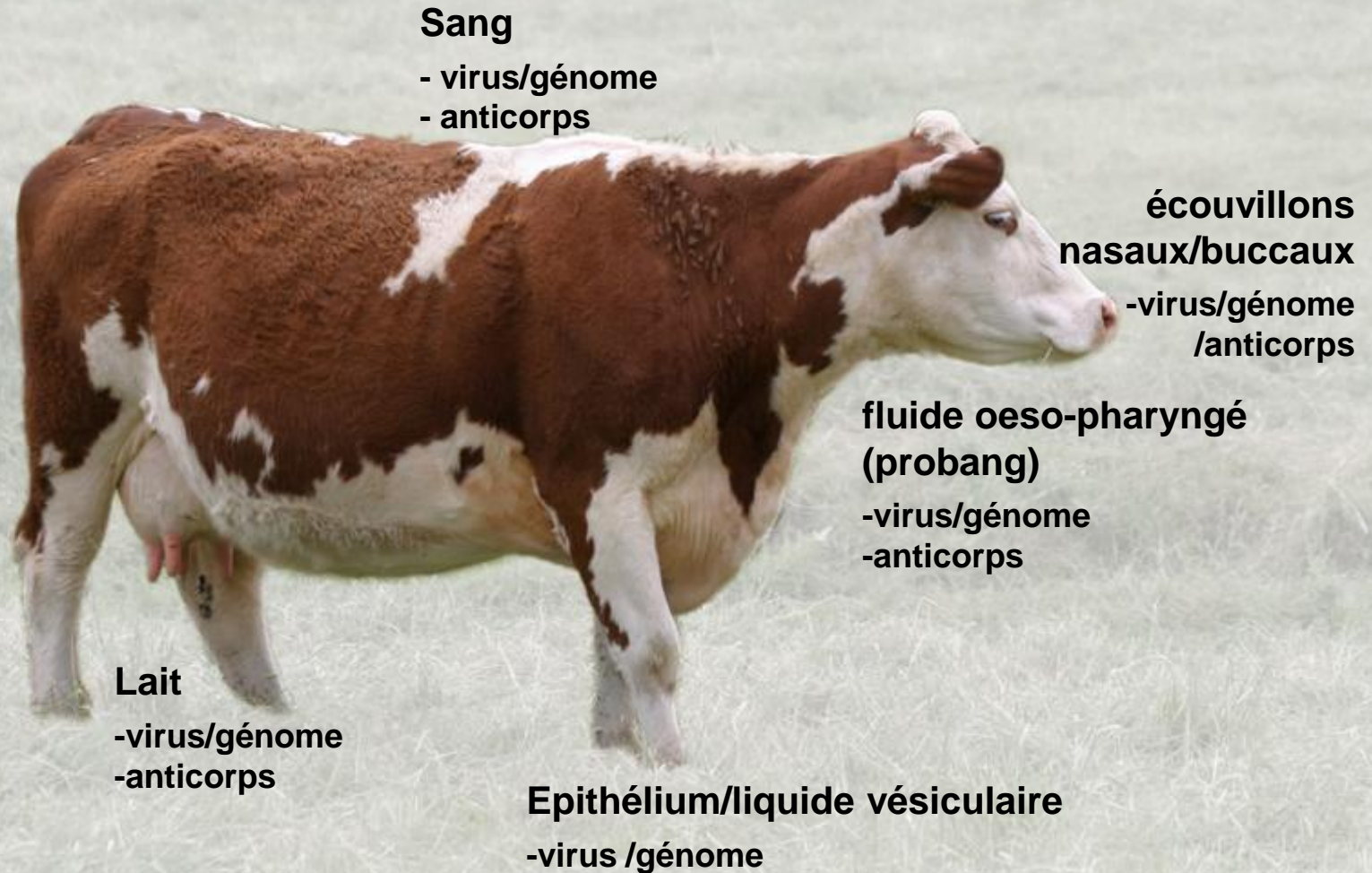
- Maladie des muqueuses → ulcération
- Rhinotrachéite bovine infectieuse → ulcération
- Peste bovine → mortalité massive
- Stomatite papuleuse (parapox) → papules
- Fièvre catharale maligne → ganglions, kératite
- « Bovine mamillitis » → trayons seulement
- Actinobacillose → nodules

- **Porcin:**

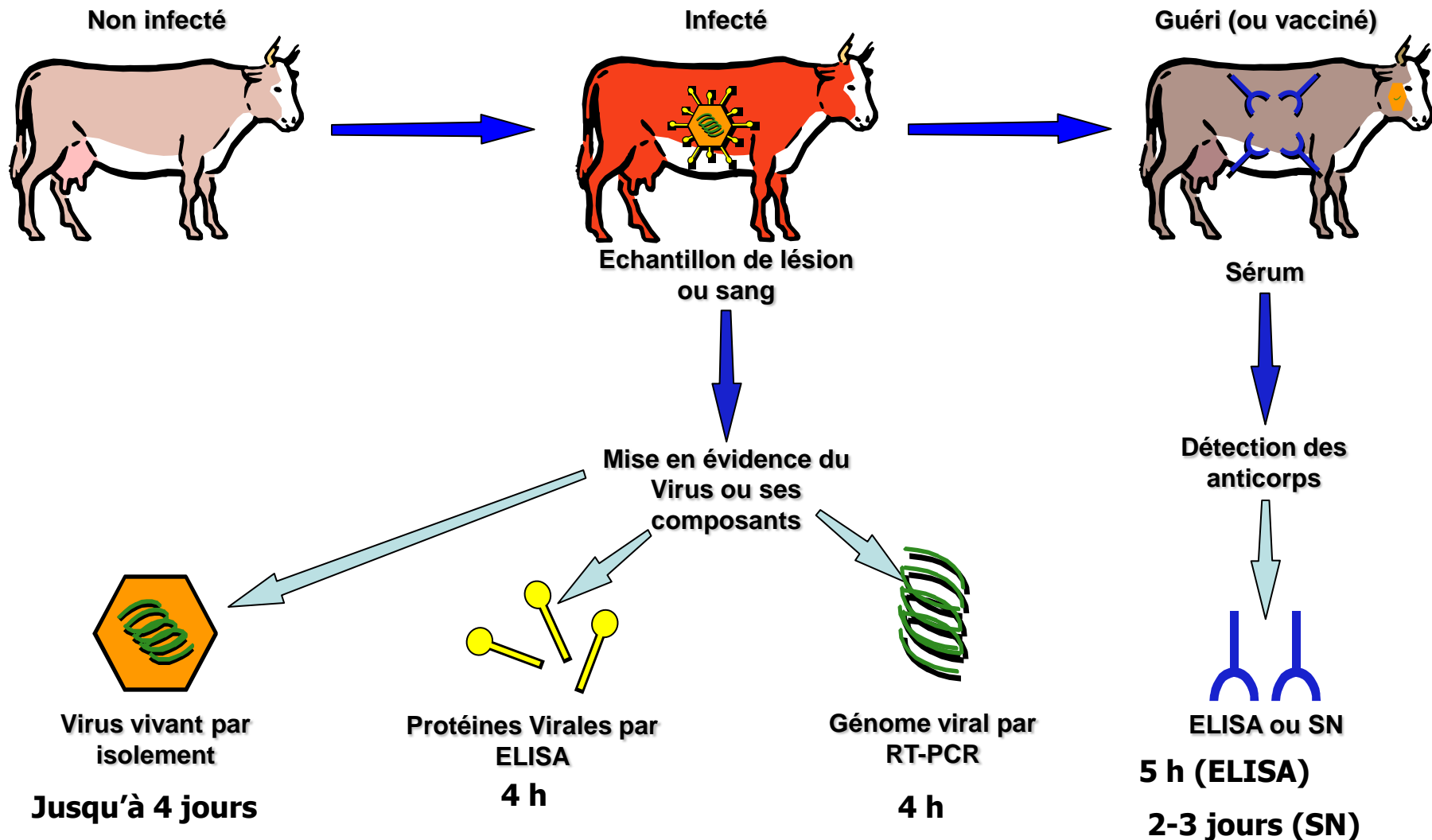
- Nécrobacillose (*Fusobacterium necrophorum*) → essentiellement sur les pieds

- Confirmation du diagnostic clinique
(mais sans s'y substituer)
- La qualité du diagnostic dépend de la qualité des prélèvements adressés pour analyses.
- Requiert une information épidémiologique complète pour pouvoir interpréter les résultats d'analyse.

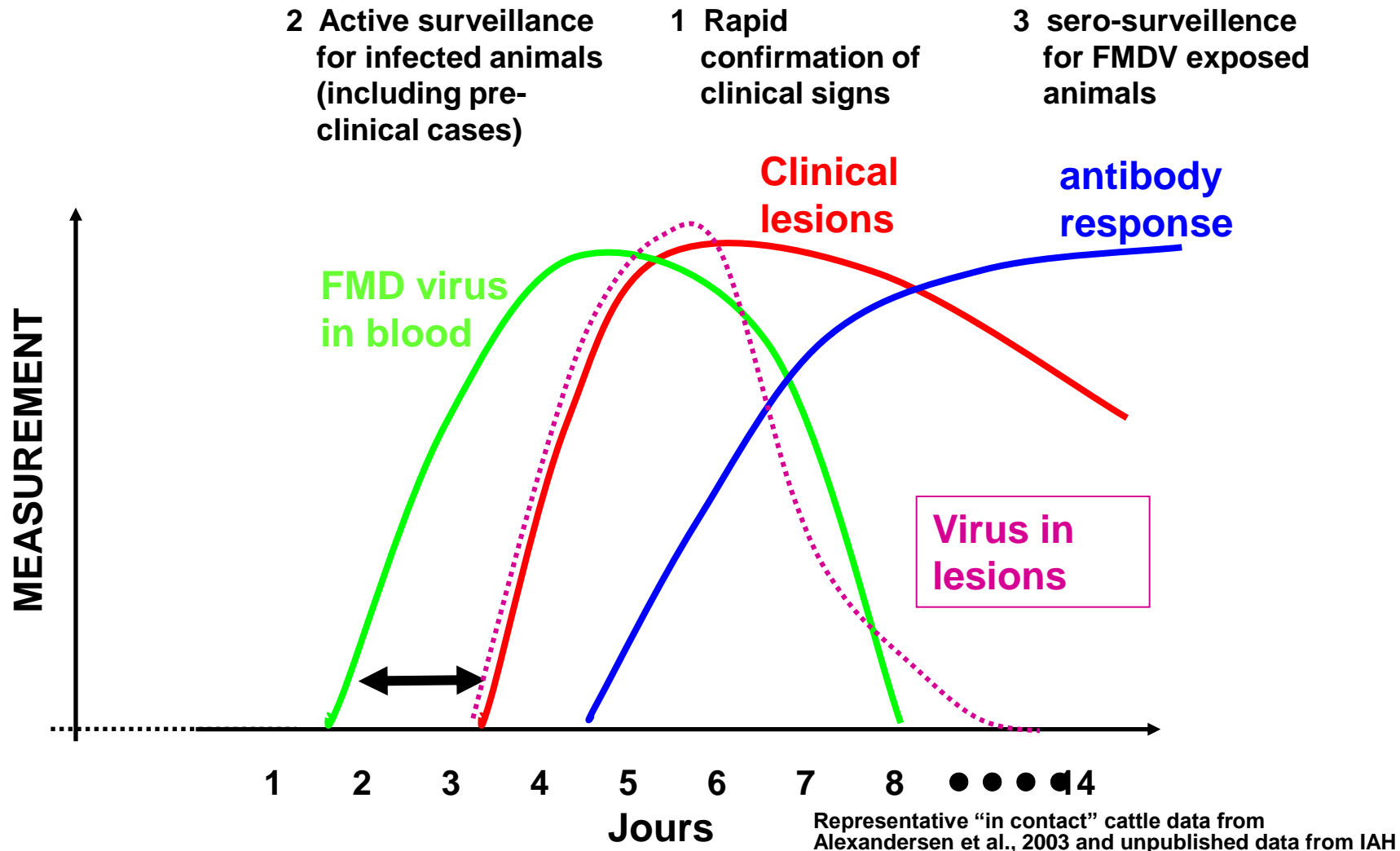
Prélèvements pour le diagnostic de la Fièvre aphteuse



Prélèvements pour le diagnostic de la Fièvre aphteuse



Fenêtre de détection par les différentes méthodes



Méthodes de diagnostic virologique

Suspicion

→ confirmer ou infirmer l'infection pour prise de décision

En cas de foyer

→ détecter et typer rapidement le FMDV pour mettre en place les mesures adéquates

Durant une épizootie → détecter rapidement toute nouvelle introduction et changement de la souche qui circule

Méthodes de diagnostic virologique

Isolement viral



BTY cells before infection with FMD virus.



Complete destruction (CPE) of the epithelial cell population is apparent after infection with FMD virus.

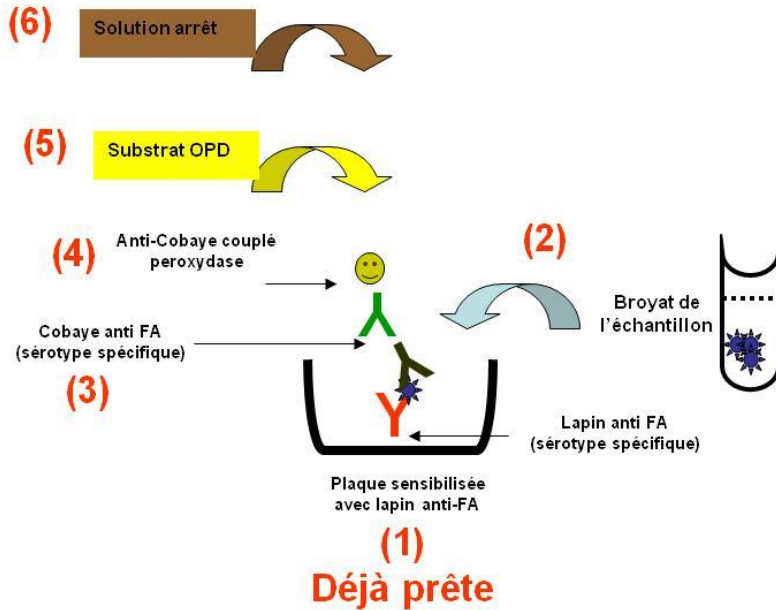
Cellules primaires de thyroïdes de veau et/ou lignée de cellule fœtales de langue de chèvre (ZZ-R, CCLV-RIE 127)

Et

Cellules de rein de porc en lignée continue (lignée IBRS2)

Méthodes de diagnostic virologique

ELISA Ag



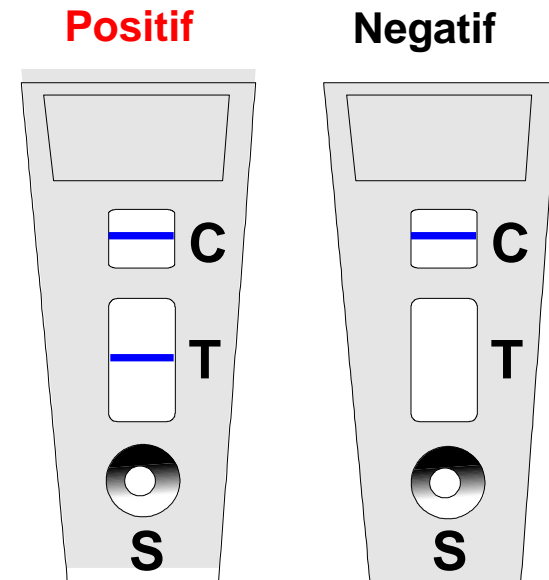
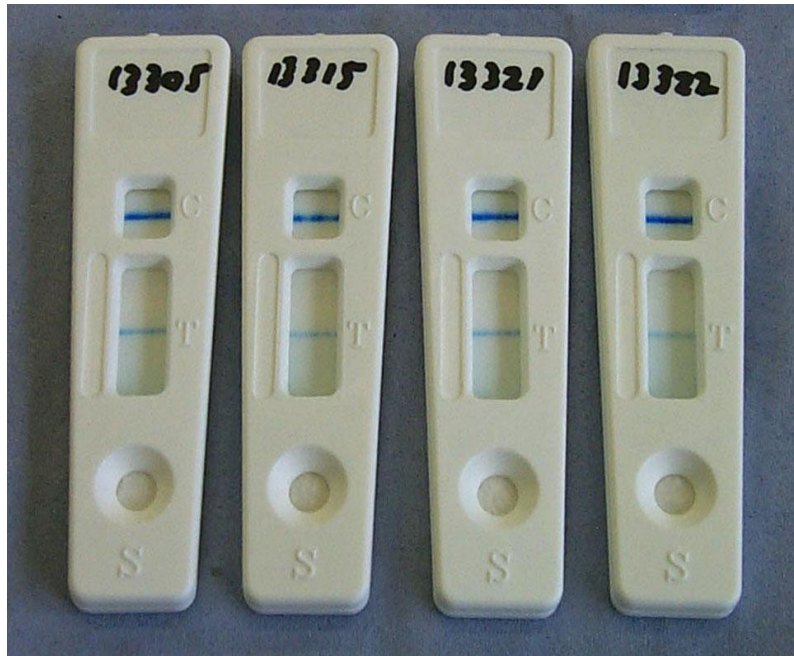
Controls Sample 1 Sample 2

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
O	A	Orange	Brown	Yellow	White	Orange	Orange	Orange	White	White	White	White	White
A	B	Orange	Brown	Yellow	White	White	White	White	White	White	White	White	White
C	C	Orange	Brown	Yellow	White	White	White	White	White	White	White	White	White
SAT1	D	Orange	Brown	Yellow	White	White	White	White	White	White	White	White	White
SAT2	E	Orange	Brown	Yellow	White	White	White	White	White	White	White	White	White
SAT3	F	Orange	Brown	Yellow	White	White	White	White	White	White	White	White	White
ASIA1	G	Orange	Brown	Yellow	White	White	White	White	White	White	White	White	White
SVD	H	Orange	Brown	Yellow	White	White	White	White	White	White	White	White	White

Méthodes de diagnostic virologique

Immunodétection sur bandelette

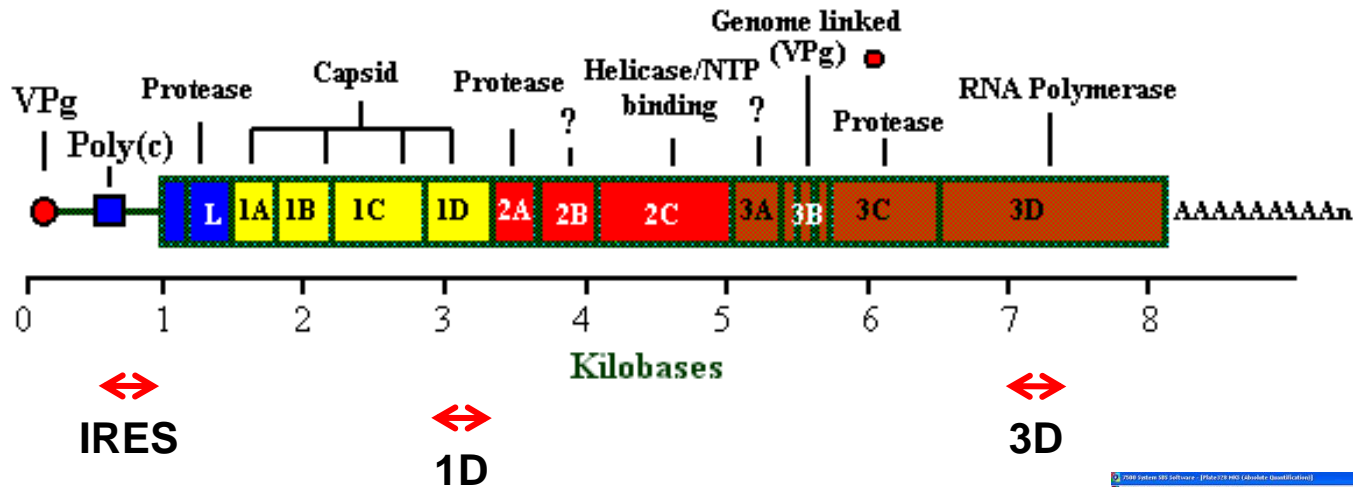
(Lateral Flow Immunoassay)



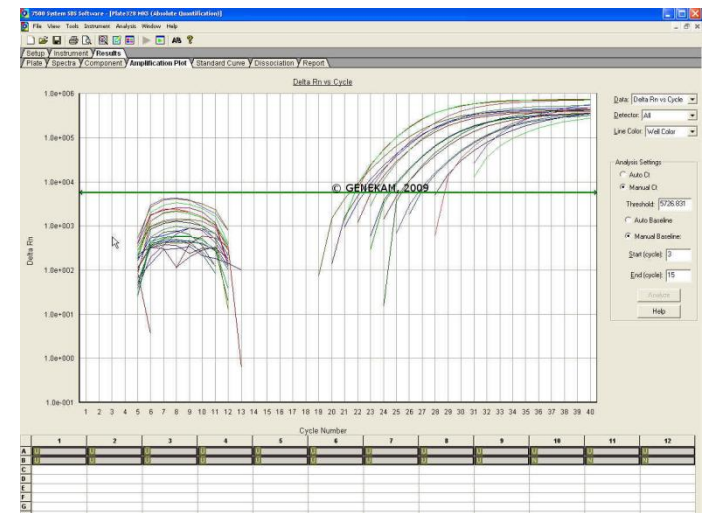
Test rapide: 30mn mais moins sensible et moins spécifique.

Méthodes de diagnostic virologique

RT-PCR en temps réel

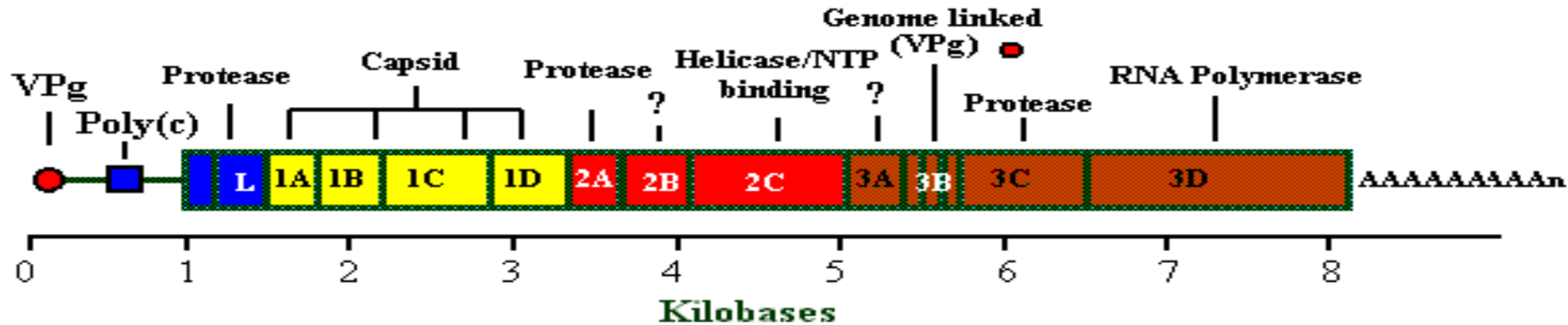


Diagnostic Pan-FA Typage

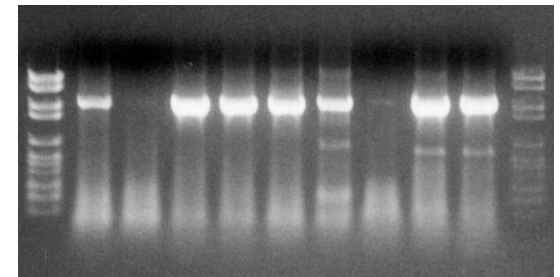


Méthodes de diagnostic virologique

RT-PCR classique



- Diagnostic Pan-FA
- Typage
- Séquençage



Méthodes de diagnostic sérologique

- 1- Certification lors d'import ou d'export**
- 2- Confirmer des cas suspects**
- 3- Confirmer l'absence d'infection**
- 4- Démontrer l'efficacité de la vaccination**

Méthodes de diagnostic sérologique

Détection des anticorps contre les protéines structurales

- Anticorps contre les protéines de la capsid
- Anticorps induits suite vaccination ou infection
- Relativement sérotype spécifiques
- Anticorps apparaissent environ 5 jours après infection

- 
- Séroneutralisation
 - ELISA de compétition en phase solide
 - ELISA bloquante en phase liquide
 - ELISA PrioCHECK Type O

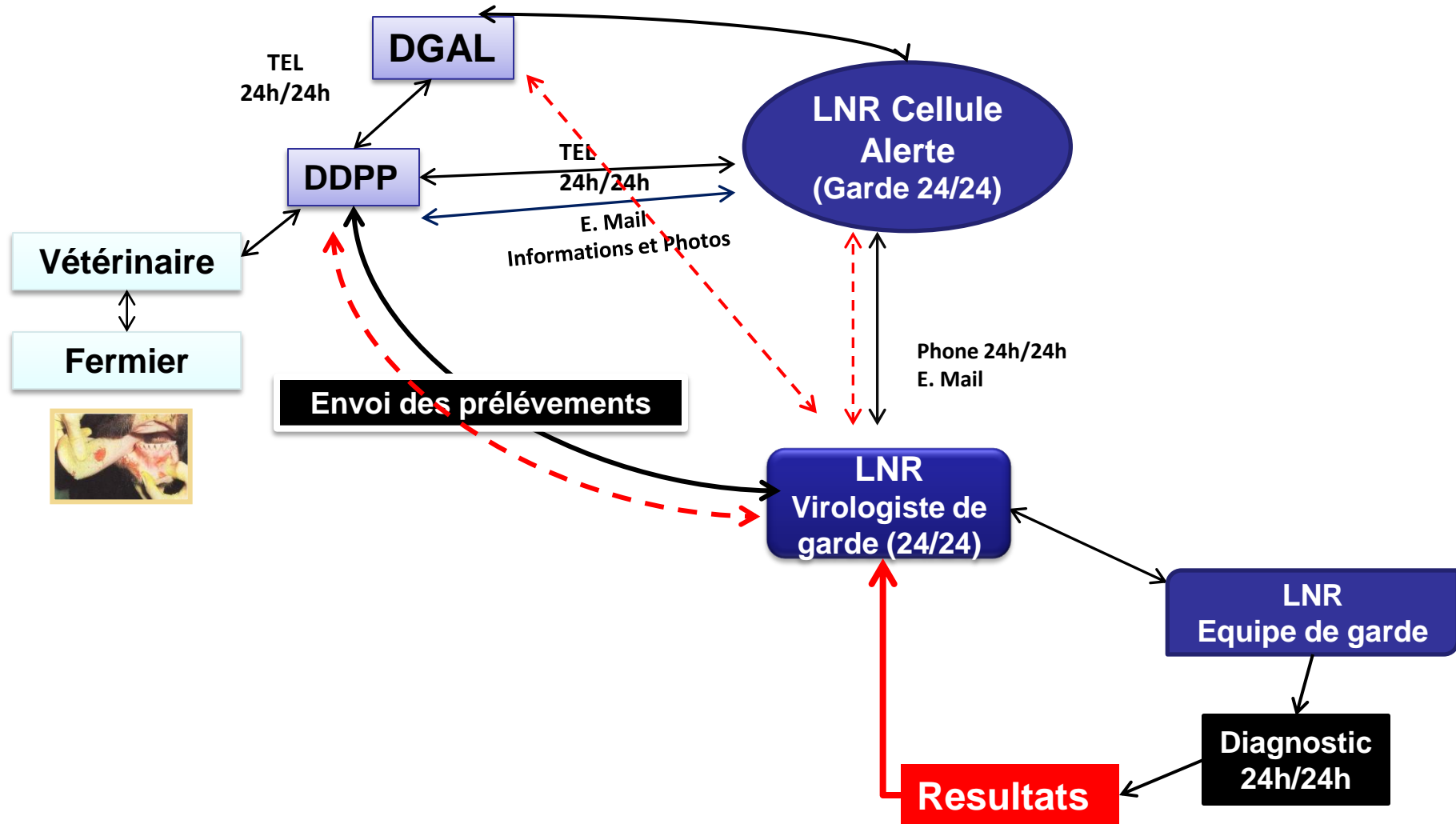


Méthodes de diagnostic sérologique

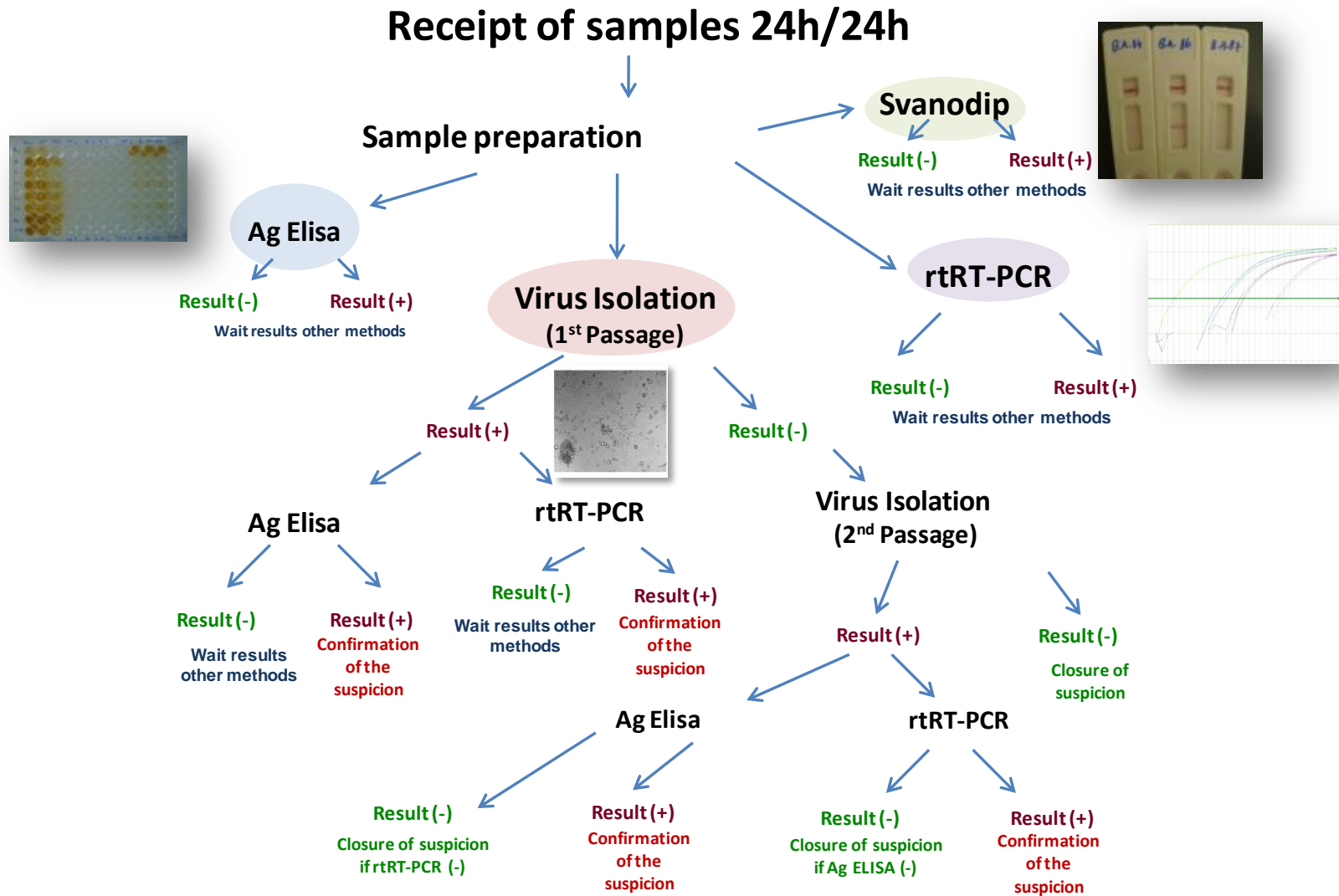
Détection des anticorps contre les protéines non-structurales

- Anticorps contre les protéines impliquées dans la réplication du virus
- Anticorps induits suite à une infection et non une vaccination avec vaccin purifié (peuvent être induits par vaccination multiple)
- Pas spécifique d'un sérotype
- Plusieurs kit commerciaux existent, certains spécifiques de l'espèce d'autres non:
 - PrioCHEK FMDV NS (Ceditest)
 - SVANOVIR FMDV 3ABC-Ab
 - Bommeli
 - UBI
- Anticorps apparaissent environ 7j après infection, généralement dans les 3-4 jours d'apparition de lésions
- Réponse NSP peut être réduite et retardée en cas d'infection subclinique ou légère
- Utilisé pour la sérosurveillance

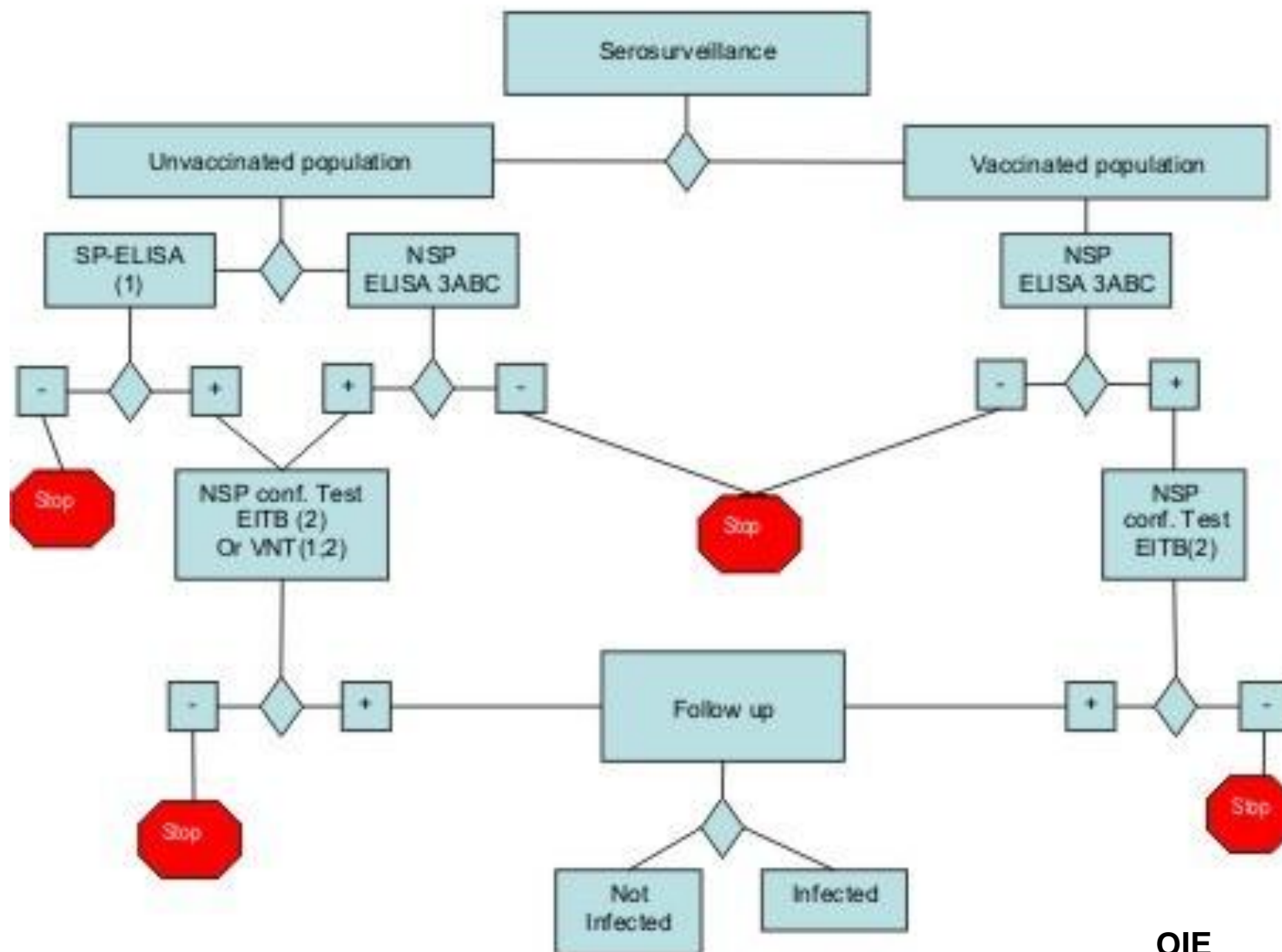
Système d'alerte FA en France



Arbre de décision lors d'une suspicion



Arbre de décision lors de serosurveillance



OIE

Exemple de traitement d'une suspicion

Scénario

Dimanche 06/02/2011, vers 18h, la cellule alerte a reçu un appel de la DDPP des Pyrénées-Orientales pour une suspicion de la FA dans un élevage constitué de 100 bovins. L'épidémiologiste de garde a confirmé la suspicion et a contacté le virologiste de garde à 20h. Celui-ci a contacté immédiatement la DDPP pour organiser l'envoi des prélèvements. La DDPP a prélevé 3 lambeaux d'épithélium à partir d'aphtes observés chez les bovins et les a expédié par route le soir même. Les prélèvements sont arrivés au laboratoire lundi 07/02/2011 à 9h du matin et pris en charge immédiatement par l'équipe.

Traitement des échantillons

Lambeaux d'épithélium/Date et heure de début de traitement : 9H15

lèvement	Conditionnement/poids		Poids utilisé	Volume de dilution	Surnageant après centrifugation	Surnageant utilisé	Surnageant stocké
	Sec	Milieu de transport					
	NA	pH : 7,5	0,77g	1/5 + 3,08 ml	NA	2650µl	1350µl
	NA	pH : 7,5	1,05g	1/5 + 4,2 ml	NA	2650µl	430µl
	NA	pH : 7,2	0,50g	1/5 + 2ml	NA	2650µl	0

Heure de fin de traitement : 10h25

Date et Heure de fin de traitement : 07/02/11 à 10h25

Exemple de traitement d'une suspicion

Echantillon (10h25)

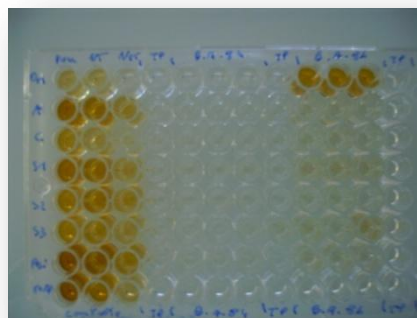
LFD (Svanodip)(début 10h25)



10h35 **S1 (+)**

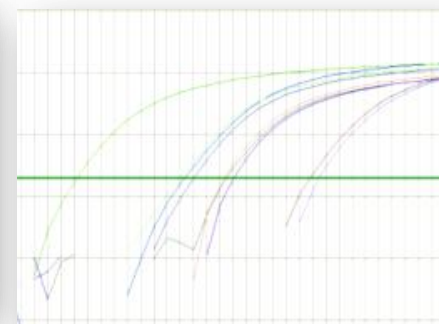
10h55 S2 douteux et S3 (-)

Ag ELISA (début 10h45)



14h30 **S1 (+) type O**,
S2 et S3 (-)

rtRT-PCR (début 10h45)



15h30 **les 3 éch (+)**

Isolement viral (début 11h)

	IRES	3D
S1	25,28	29,02
S2	35,44	28,26
S3	34,77	28,41

Equipe Biopic



**Labib
Bakkali Kassimi**



**Sandra
Blaise Boisseau**



**Anthony
Relmy**



**Kamila
Gorna**



**Aurore
Romey**



**Lela Kopliku
Thésarde**

**Aude Allemandou
Chargée de Projet
CDD 24 mois**



**Annabelle GARNIER
CDD 12 mois**