



Diagnostic de la Fièvre Aphteuse au Laboratoire National de Référence en France:méthodes actuelles et perspectives de développement

Kamila K. Gorna, Anthony Relmy, Aurore Romey, Margot Carocci, Sandra Blaise-Boisseau, Stéphan Zientara, Labib Bakkali

► To cite this version:

Kamila K. Gorna, Anthony Relmy, Aurore Romey, Margot Carocci, Sandra Blaise-Boisseau, et al.. Diagnostic de la Fièvre Aphteuse au Laboratoire National de Référence en France:méthodes actuelles et perspectives de développement. XIIIèmes Journées francophones de Virologie, Apr 2011, Paris, France. 2011. hal-02806662

HAL Id: hal-02806662

<https://hal.inrae.fr/hal-02806662>

Submitted on 6 Jun 2020

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.

Diagnostic de la Fièvre Aphteuse au Laboratoire National de Référence en France: méthodes actuelles et perspectives de développement

Gorna K., Relmy A., Romey A., Carocci M., Blaise-Boisseau S., Zientara S., L. Bakkali-Kassimi
UMR1161 Virologie (Anses,Inra,Enva) LSA 23-25 Avenue du Général de Gaulle 94706 Maisons-Alfort, France

La fièvre aphteuse (FA) est une maladie animale virale très contagieuse affectant les artiodactyles domestiques et sauvages, principalement les bovins, porcins, ovins et caprins. Elle présente une distribution mondiale et est inscrite sur la liste des maladies animales infectieuses de l’Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE). Le virus responsable est le FMDV (Foot and Mouth Disease Virus). Actuellement la France est indemne de FA mais les épizooties de 2001 en Angleterre et de 2010 au Japon ainsi que l’apparition de foyers en Bulgarie depuis janvier 2011 démontrent que cette maladie reste une menace importante dans le domaine de la santé animale pour les pays indemnes. En cas d’épizootie, la FA peut engendrer des pertes économiques considérables du fait de l’embargo commercial et de l’abattage obligatoire des animaux malades et/ou sensibles situés dans un foyer confirmé, ainsi qu’à proximité. Le Laboratoire de Santé Animale de Maisons-Alfort est Laboratoire National de Référence en charge du diagnostic de la fièvre aphteuse ainsi que de la maladie vésiculeuse du porc (MVP) et de la Stomatite Vésiculeuse (SV) qui provoquent des signes cliniques similaires à ceux de la Fièvre Aphteuse. Le but de cette présentation est de résumer les méthodes de diagnostic de la FA existantes au LNR. Ces techniques permettent une détection rapide du virus en cas d’alerte et la réalisation d’enquêtes sérologiques en cas d’épizootie. En parallèle, le Laboratoire développe de nouvelles méthodes d’analyses pour l’amélioration des outils de diagnostic.

Virus de la Fièvre Aphteuse

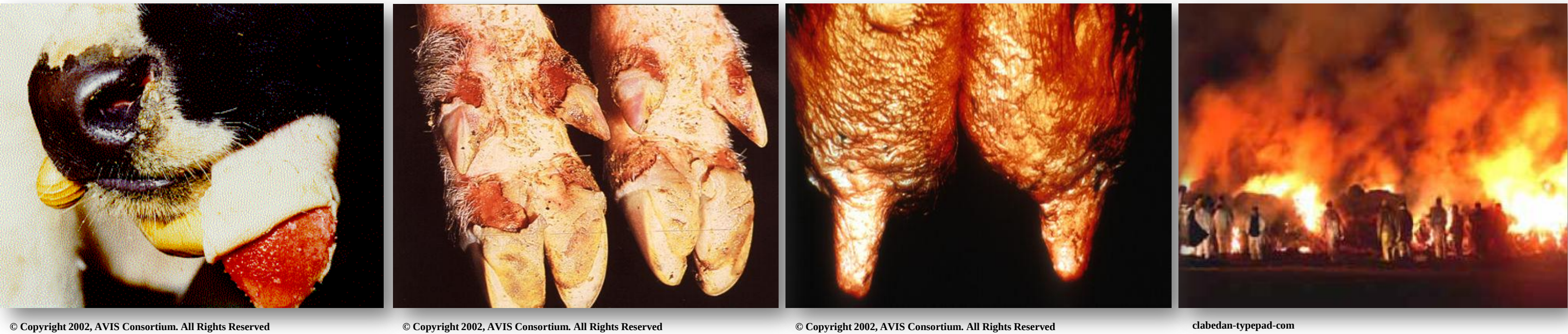
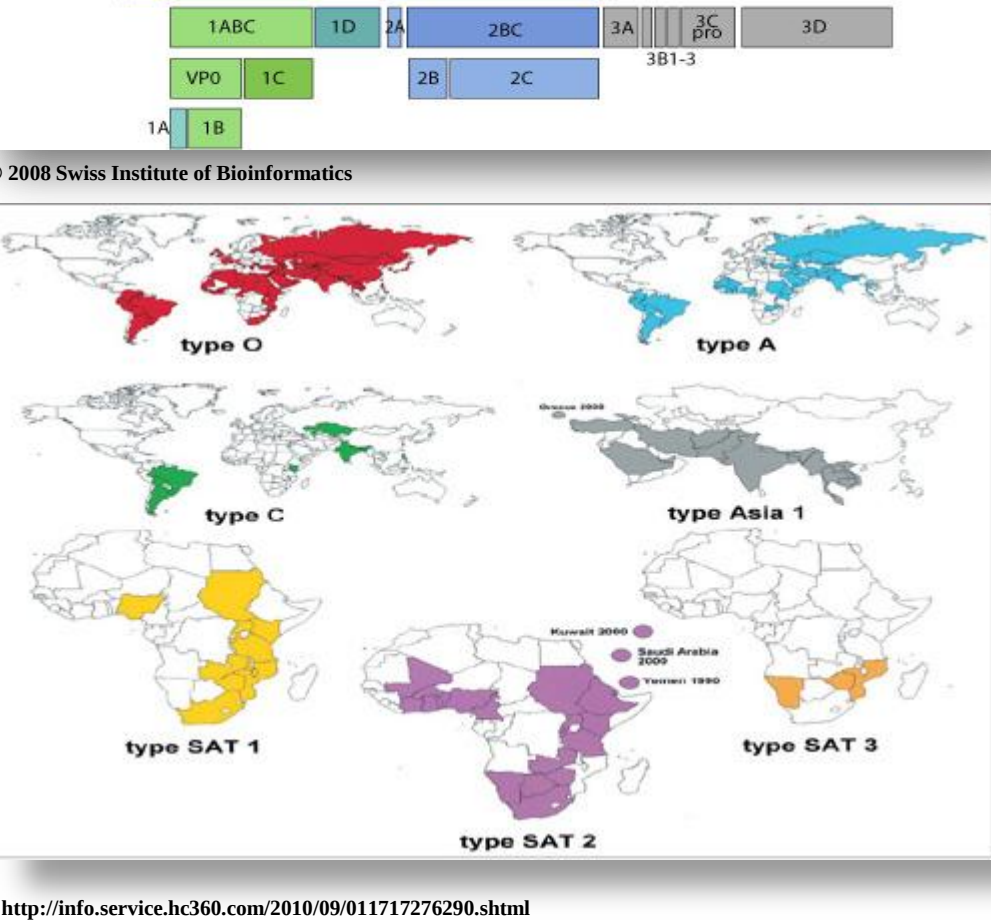
- Famille des Picornaviridea
- Genre Aphthovirus
- Virus ARN simple brin positif
- 7 Sérotypes existants
- Transmission par l’air, très contagieux.

Signes cliniques

- Fièvre, anorexie → 2-8 jours
- Formation des vésicules: naseaux, muflle, langue, gencives, fente interdigitée, talons, mamelle, rumen, cœur → 2 jours
- Rupture des vésicules, ulcérations, infections → 2-3 jours
- Nécroses → 4-5 jours
- Cicatrisation → 2-8 jours
- Boiterie, hypersalivation, chute de la production lactée
- Animaux sensibles: artiodactyles domestiques et sauvages, principalement les bovins, porcins, ovins et caprins

Impacts économiques

- Embargo
- Très forte morbidité, faible mortalité
- Abattage systématique
- Angleterre (2001) : 5M animaux abattus, Perte de 6 Milliards de livres sterling.
- Japon (2010) : 230 000 animaux dans 249 foyers, 800 millions d’euros



Enquête sérologique

Kit Priochek NSP :

Méthode de détection des anticorps dirigés contre des protéines non structurales. Permet la confirmation d’une infection.

Kit Priochek Type O :

Méthode de détection des anticorps dirigés contre des protéines structurales. Permet la détection du sérotype

ELISA SPCE :

Méthode de détection des anticorps dirigés contre les protéines Structurales . Permet la détection de tous les sérotypes séparément.

Séroneutralisation du Virus :

Méthode de détection des anticorps neutralisants dirigés contre les protéines structurales de la FA. Permet la détection de tous les sérotypes séparément.

Svanodip : Méthode de détection rapide de l’antigène (15-30 min); méthode d’orientation, permet de détecter les échantillons fortement positifs

Isolement viral : Amplification du virus sur des cellules sensibles (Type cellulaire : IBRS-2 et ZZ), permet également de différencier le virus de la FA de celui la MVP qui n’infecte pas les cellules ZZ.

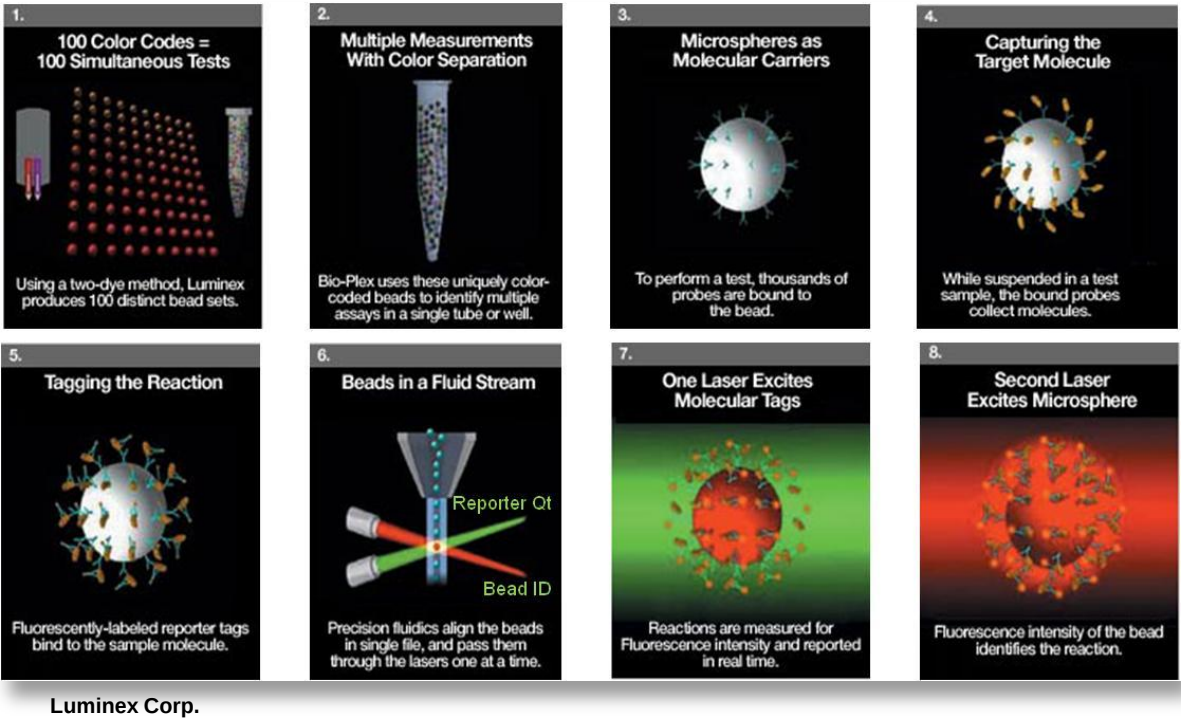
ELISA Capture : Méthode de détection de l’antigène viral et de Sérotypage du virus. ELISA sandwich indirect d’anticorps polyclonaux, Spécifique de type.

RT-PCRq : Permet de détecter le génome du virus FA. Effectué en deux étapes: une reverse transcription puis une PCR en temps-réel. Les séquences cibles sont situées au niveau de la partie 5’ UTR « IRES » et du gène codant pour la polymérase virale « 3D ». La cible contrôle codant pour un gène cellulaire est également utilisée. Le test est réalisé en simplex pour chaque cible.

Développement de nouvelles méthodes

Technologie Luminex

- Projet FMD-Disconvac:** Développement d’une méthode sérologique Multiplex fondée sur la technologie Luminex.
- Détection simultanée d’anticorps dirigés contre les virus responsables de maladies vésiculeuses et contre les protéines structurales et non structurales du FMDV (diagnostic différentiel).
 - Ce test devra permettre l’identification d’une infection à FMDV et également la distinction entre animaux infectés et animaux vaccinés.
 - Pour notre application, chaque type de bille sera couplé à un antigène différent puis les différents complexes bille-antigène seront mélangés dans un seul tube réactionnel. Après incubation avec le sérum à tester et un anticorps anti-espèce fluorescent, les billes seront analysées au moyen du lecteur Luminex
- Projet AnibioThreat :** Développement d’une méthode de détection moléculaire Multiplex du FMDV fondée sur la technologie Luminex.
- Typage moléculaire FMDV
 - Diagnostic différentiel (VSV, MVP, VESV)
 - Utilisation de billes pré-couplées à des séquences oligonucléotidiques pour la détection de signatures génomiques spécifiques, après RT-PCR et TSPE



RT-PCR en temps réel multiplex

- Mise au point de la méthode RT-PCR en temps réel en une étape permettant d’inclure trois cibles (IRES, 3D et B-Actine) simultanément en une réaction.
- Mise au point de la méthode RT-PCR en temps réel en une étape permettant le sérotypage du virus de la FA (principalement pour les sérotypes O, A et Asia)
- Mise au point de la méthode RT-PCR multiplex en temps-réel pour le virus de la FA et le virus de MVP (diagnostic différentiel)

