

## Lectures

### I

## FIÈVRE APHTEUSE: ANCIENS DÉFIS – NOUVELLES SOLUTIONS

par

P.-P. PASTORET, membre titulaire, et coll. (\*)

### INTRODUCTION

La fièvre aphteuse est une maladie d'origine virale extrêmement contagieuse qui affecte les ruminants. Les signes cliniques sont ceux d'une maladie fébrile aiguë qui s'accompagne de l'apparition de vésicules épithéliales au niveau de la bouche, des pieds, et du pis chez les vaches laitières.

Les pertes qui résultent d'un épisode de fièvre aphteuse sont principalement dues à une chute de production et aux conséquences d'un foyer au niveau du commerce international des animaux et de leurs produits.

Le dernier épisode de fièvre aphteuse en Grande-Bretagne et dans d'autres pays de l'Union européenne a eu des répercussions désastreuses, non seulement dans le secteur de l'élevage, mais plus encore dans d'autres secteurs comme le tourisme.

Depuis l'arrêt généralisé de la politique de vaccination préventive systématique dans l'Union européenne en 1991, les populations d'animaux réceptifs sont devenues pleinement sensibles (STROBBE, 1992). Les animaux, même vaccinés préventivement, peuvent rester porteurs asymptomatiques de virus sauvage après infection et excréter du virus à bas bruit.

L'extrême contagiosité de l'infection et l'existence éventuelle de porteurs asymptomatiques ont conduit les autorités sanitaires à pratiquer une politique d'abattage systématique «stamping out» lors de l'apparition d'un foyer. Cet abattage concerne également les animaux qui auraient été vaccinés en périphérie du foyer afin d'éviter son extension («ring vaccination»).

L'opinion publique est cependant de plus en plus hostile à ce type de mesures qui peuvent entraîner le massacre, parfois inutile, de millions d'animaux (Pastoret, 2005). L'attitude des autorités sanitaires a dès lors évolué au point d'admettre la mise en œuvre d'une politique de vaccination en situation d'urgence qui évite l'abattage des animaux vaccinés (vaccination for life).

Elle nécessite d'améliorer les outils disponibles comme les vaccins et les méthodes de diagnostic. Des vaccins dits «marqués» sont actuellement développés, assortis d'un

(\*) D. MACKAY

test de diagnostic compagnon qui permet de différencier les animaux simplement vaccinés des animaux infectés, qu'ils aient ou non été préalablement vaccinés.

Un autre objectif est de développer des outils de confirmation du diagnostic à la ferme (pen-side diagnosis) afin de pouvoir intervenir plus précocement pour éteindre le foyer.

La présente contribution se propose de décrire très succinctement l'évolution des mesures en matière de lutte contre la fièvre aphteuse.

## LE VIRUS RESPONSABLE

L'agent responsable de la fièvre aphteuse est un virus à ARN monocaténaire de polarité positive du genre *Aphthovirus* de la famille des *Picornaviridae*. La structure tridimensionnelle de la particule virale a été déterminée (Acharya *et al.*, 1989). La particule, non enveloppée, possède une symétrie icosaédrique et un diamètre externe d'approximativement vingt-huit nanomètres. Elle est constituée de soixante copies de chacune des quatre protéines de structure (VP1-4) dont la quatrième n'est pas exposée à sa surface. Chaque particule infectieuse contient un brin d'ARN qui, lors de la multiplication, est initialement traduit en une seule polyprotéine avant clivage.

Le virus aphteux se décline en sept sérotypes distincts (FMDV type A, Asia 1, C, O, SAT1, SAT2, SAT3). Ces sérotypes ont été initialement définis par l'absence de protection croisée; cette variation antigénique est tributaire de la protéine VP1, immunogène majeur. Le taux de mutation de l'ARN du virus aphteux est extrêmement élevé, ce qui conduit à la génération de populations de quasi-espèces. Il existe en conséquence de nombreux variants antigéniques au sein de chaque sérotype.

Le virus de la fièvre aphteuse se transmet très facilement, particulièrement chez les bovins, où, expérimentalement, dix doses infectieuses en culture de cellules suffisent à transmettre l'infection. Le virus aphteux est cependant sensible aux pH acides. Le virus aphteux n'est qu'exceptionnellement transmissible à l'homme.

## LES VACCINS MARQUÉS

Les vaccins développés pour lutter contre la fièvre aphteuse étaient obligatoirement inactivés par souci de sécurité et principalement utilisés dans le cadre de campagnes de vaccination systématique. Les qualités requises pour ce type de vaccins diffèrent de celles actuellement requises dans le cadre d'une politique de vaccination d'urgence (emergency vaccination). Idéalement, ces derniers devraient conférer le plus rapidement possible une protection solide, stérile et de longue durée, tout en autorisant ultérieurement un diagnostic sérologique différentiel entre animaux vaccinés et infectés.

Une autre particularité de ces vaccins est d'être antigéniquement le plus proche possible de la souche de virus sauvage impliquée dans l'épizootie tout en conférant un spectre de protection très étendu; un des scénarios envisagés lors d'une épizootie résultant d'un acte d'agroterrorisme est l'existence de plusieurs sérotypes différents

au cours d'une même épi-  
géographiquement distincts.

Ensuite les vaccins devrai-  
épisode européen a montré le n-  
de la maladie sont relativement

Enfin les vaccins seront c-  
d'antigènes concentrés stockés

Afin de mieux répondre  
d'évaluation des médicaments  
EMEA/CVMP/775/02 – Position  
mouth disease».

Les firmes productrices de  
des vaccins inactivés hautem-  
utilisé, dès lors qu'un animal v-  
structurales d'information vir-  
comme ayant été infecté par u-

Durant la multiplication vir-  
que les protéines structurales d-  
d'une polyprotéine qui correspo-  
l'occasion de s'immuniser à  
qu'envers les protéines structu-

Les protéines NSP ne sont évi-  
virale et ne sont pas contenues  
la production de vaccins inac-  
l'élaboration des antigènes co-  
manière que les vaccins ne co-

Dans l'état actuel de la tech-  
de certifier l'absence d'infecti-

## LES RÉCEPTEURS DU VI- ASYMPTOMATIQUES

La protéine VP1 du virus a  
reconnaître les récepteurs cell-  
sommet de cette boucle se situ-  
famille des intégrines. Comm-  
également les motifs héparan-

La connaissance des récept-  
l'étude fine de la pathogéni-  
asymptomatique. Les animaux  
du virus pendant plus de vingt-h-

ciers les animaux simplement  
préalablement vaccinés.

mination du diagnostic à la ferme  
précocement pour éteindre le

succinctement l'évolution des

virus à ARN monocaténaire de  
*Picornaviridae*. La structure  
cylindrique (Acharya *et al.*, 1989). La  
structure est constituée de soixante copies de  
la protéine VP1, immunogène  
et un diamètre externe  
de 28 nm. La quatrième n'est pas exposée  
à l'extérieur. Un brin d'ARN qui, lors de la  
multiplication, est libéré par la  
protéine avant clivage.

types (FMDV type A, Asia 1, C, O,  
différents par l'absence de protection  
contre la protéine VP1, immunogène  
et extrêmement élevé, ce qui  
est très important. Il existe en conséquence de  
différents types.

particulièrement chez les  
en culture de cellules suffisent  
à être sensible aux pH acides. Le  
virus est sensible à l'homme.

aphteuse étaient obligatoirement  
utilisés dans le cadre de campagnes  
de vaccination. Ce type de vaccins diffèrent  
de la vaccination d'urgence  
qui confère le plus rapidement  
la protection en autorisant ultérieurement  
des animaux vaccinés et infectés.

généologiquement le plus proche  
de l'épizootie tout en conférant  
la protection envisagée lors d'une épizootie  
de plusieurs sérotypes différents

au cours d'une même épizootie, provenant de plusieurs foyers primaires  
géographiquement distincts.

Ensuite les vaccins devraient être adaptés à chaque espèce réceptive; le récent  
épisode européen a montré le rôle que pouvait jouer le mouton où les signes cliniques  
de la maladie sont relativement frustes.

Enfin les vaccins seront conditionnés, le plus rapidement possible, au départ  
d'antigènes concentrés stockés dans des banques et congelés dans de l'azote liquide.

Afin de mieux répondre à certaines de ces exigences, l'agence européenne  
d'évaluation des médicaments (EMA) vient de produire un nouvel avis intitulé:  
EMA/CVMP/775/02 – Position «paper on requirements for vaccines against foot-and-  
mouth disease».

Les firmes productrices de vaccins ont également réagi et produisent actuellement  
des vaccins inactivés hautement purifiés. Lorsqu'un vaccin hautement purifié est  
utilisé, dès lors qu'un animal vacciné réagit sérologiquement envers les protéines non-  
structurales d'information virale (NSP) dans un test de type ELISA, il est considéré  
comme ayant été infecté par un virus sauvage.

Durant la multiplication virale, les protéines NSP sont synthétisées au même niveau  
que les protéines structurales du fait que les protéines individuelles résultent du clivage  
d'une polyprotéine qui correspond à l'ensemble du génome viral. Les animaux ont donc  
l'occasion de s'immuniser à l'égard des protéines non-structurales au même titre  
qu'envers les protéines structurales.

Les protéines NSP ne sont évidemment produites que lors d'une phase de multiplication  
virale et ne sont pas contenues dans les particules virales extracellulaires utilisées pour  
la production de vaccins inactivés purifiés. Pour éliminer les protéines NSP durant  
l'élaboration des antigènes concentrés, ils sont soumis à une étape de purification de  
manière que les vaccins ne contiennent plus de NSP après formulation.

Dans l'état actuel de la technologie, les tests de diagnostics compagnons permettent  
de certifier l'absence d'infection au niveau du troupeau.

### LES RÉCEPTEURS DU VIRUS APHTEUX ET LES PORTEURS ASYMPTOMATIQUES

La protéine VP1 du virus aphteux possède une boucle qui lui sert de ligand pour  
reconnaître les récepteurs cellulaires correspondants chez les espèces réceptives. Au  
sommet de cette boucle se situe un motif conservé qui reconnaît des molécules de la  
famille des intégrines. Comme beaucoup d'autres virus, le virus aphteux reconnaît  
également les motifs héparan sulfate.

La connaissance des récepteurs du virus aphteux est de première importance dans  
l'étude fine de la pathogénie de l'infection et pour la clarification du portage  
asymptomatique. Les animaux porteurs asymptomatiques se définissent par la persistance  
du virus pendant plus de vingt-huit jours après l'infection, bien que seulement à de faibles

taux et par intermittence. La durée de persistance varie selon les espèces de quatre mois chez la chèvre à plus de cinq ans chez le buffle africain *Syncerus caffer*, porteur des sérotypes SATs.

Les animaux vaccinés peuvent également devenir porteurs au niveau du pharynx et particulièrement du voile du palais. Le rôle épidémiologique des porteurs reste toutefois controversé; ils sont cependant considérés comme une menace pour le commerce international des animaux.

## CONCLUSIONS

La fièvre aphteuse qui n'est qu'exceptionnellement transmise à l'homme constitue cependant une maladie réémergente pour les animaux du fait de la globalisation et des menaces d'agroterrorisme. Certains ont émis le souhait d'éradiquer cette maladie à l'exemple de la variole humaine. Cet objectif paraît cependant irréaliste du fait de l'existence d'un réservoir sauvage en Afrique, le buffle africain, qui peut rester porteur asymptomatique pendant de très longues périodes. Il paraît plus réaliste d'éliminer l'infection de vastes territoires.

Cet objectif pourrait bientôt être atteint sans nécessairement faire appel aux mesures d'abattage systématique qui prévalaient jusqu'à présent. Le développement de vaccins marqués autorisant une politique de «vaccination pour la vie» est une étape essentielle dans cette direction.

## RÉSUMÉ

L'épisode récent de fièvre aphteuse en Grande-Bretagne a provoqué une crise au niveau de l'Union européenne, avec des conséquences pour de nombreux secteurs d'activité en dehors de celui du seul élevage. Cette crise s'est déroulée dans un contexte nouveau par rapport aux épisodes précédents. L'opinion publique est de plus en plus opposée aux mesures de simple prophylaxie sanitaire appliquées même en cas de vaccination préalable. Actuellement, les autorités sanitaires tendent à mettre sur pied une politique de «vaccination pour la vie» qui vise à ne plus rendre obligatoire l'abattage des animaux après vaccination lors d'un foyer de fièvre aphteuse. Ce changement de politique nécessite une amélioration des outils disponibles en matière de vaccination et de diagnostic.

Il n'est cependant pas envisagé de revenir à la politique de vaccination préventive systématique qui prévalait en Europe continentale il y a une quinzaine d'années et qui a abouti à l'élimination de l'infection. Si la vaccination est appliquée, elle le sera dans des situations d'urgence; les vaccins, obligatoirement inactivés, devront rapidement conférer une protection solide envers le ou les sérotypes impliqués dans l'épizootie chez l'ensemble des espèces sensibles. L'existence de plusieurs sérotypes au cours d'une même épizootie est l'un des scénarios envisagés en cas d'agroterrorisme.

Un autre problème est celui posé par l'existence de porteurs asymptomatiques de virus sauvage même après vaccination antérieure. Pour pallier cet inconvénient, des vaccins dits «marqués» associés à un test de diagnostic compagnon sont actuellement développés; ils visent à permettre de différencier les animaux simplement vaccinés des animaux infectés qu'ils aient ou non été préalablement vaccinés. Il s'agit actuellement de vaccins inactivés hautement purifiés; le test de diagnostic compagnon est basé sur la détection d'anticorps dirigés contre les protéines non structurales d'origine virale, anticorps absents chez les animaux simplement vaccinés. Cette méthodologie tient compte du fait que la multiplication du virus aphteux implique la synthèse d'une polyprotéine qui sera ensuite clivée. Dans l'état actuel de la technologie, la certification de l'absence d'infection n'est malheureusement réalisable qu'à l'échelle du troupeau et non à l'état individuel.

D'autres recherches portent actuellement sur l'animal afin de mieux comprendre la pathogénèse de l'infection et les mécanismes qui conduisent à la génération de porteurs.

The recent outbreak of foot-and-mouth disease in the European Union with deleterious consequences has concerned about stamping out measles in animals. Presently the trend is to «vaccinate» animals. It is not foreseen nevertheless to control outbreaks; it will confer quickly a strong (sterile) protection. These antibodies should not be detected. It allows to certify the absence of infection.

It is not foreseen nevertheless to control outbreaks; it will confer quickly a strong (sterile) protection. These antibodies should not be detected. It allows to certify the absence of infection.

Another feature of foot-and-mouth disease is the existence of asymptomatic carriers after infection even in previously vaccinated animals. To palliate this inconvenience, «marked» vaccines associated with a companion diagnostic test are currently being developed; they aim to allow differentiation of simply vaccinated animals from infected animals.

These vaccines are presently highly purified; the companion diagnostic test is based upon the detection of specific antibodies against non structural proteins of viral origin, antibodies which are absent in simply vaccinated animals. This methodology takes account of the fact that foot-and-mouth disease virus multiplication implies the synthesis of a polyprotein which will be subsequently cleaved. It allows to certify the absence of infection.

Another research trend is to identify the mechanisms which lead to the generation of carriers after infection.

1. ACHARYA R., FRY E., STUART D., *Foot-and-mouth disease virus as a diagnostic marker*, *Arch. Virol.*, 142, 1102-1105 (2001).
2. BARANOWSKI E., RUIZ-JARABO C.M., *Foot-and-mouth disease virus as a diagnostic marker*, *Arch. Virol.*, 142, 1102-1105 (2001).
3. DECLERCQ K., *La vaccination contre la fièvre aphteuse*, *Ann. Méd. Vét.*, 136, 155-160 (2002).
4. DEDIEGO M., BROCCHI E., MACKAY D., *Foot-and-mouth disease virus as a diagnostic marker*, *Arch. Virol.*, 142, 2021-2033 (1997).
5. DOMINGO E., ESCARMIS C., MARTI G., *Foot-and-mouth disease virus populations are quasi-species*, *Arch. Virol.*, 142, 2021-2033 (1997).
6. BODET B., VICARI M., *Foot-and-mouth disease virus as a diagnostic marker*, *Ann. Méd. Vét.*, 136, 155-160 (2002).
7. JACKSON T., ELLARD F.M., GHAZALI A., STUART D.I., NEWMAN J.W., *Foot-and-mouth disease virus requires binding to a specific receptor*, *Arch. Virol.*, 142, 2021-2033 (1997).
8. LOMBARD M., *Constitution d'une base de données antiaphteuses*, *Ann. Méd. Vét.*, 136, 155-160 (2002).

D'autres recherches portent actuellement sur l'identification du ou des récepteurs du virus aphteux chez l'animal afin de mieux comprendre la pathogénie de l'infection et de mieux cerner les circonstances qui conduisent à la génération de porteurs asymptomatiques.

## SUMMARY

The recent outbreak of foot-and-mouth disease in United Kingdom provoked a crisis in the European Union with deleterious consequences not only for livestock industry. Public opinion is more and more concerned about stamping out measures used to control the disease even with previously vaccinated animals. Presently the trend is to «vaccinate for life». This policy change requires to improve vaccines and diagnostic tools.

It is not foreseen nevertheless to come back to a generalized vaccination of cattle as it was the case previously in continental Europe, despite its efficacy. According to the new policy, it will only be emergency vaccination to control outbreaks; it will compulsorily use inactivated vaccines. The vaccines will have to confer quickly a strong (sterile) protection against several serotypes during the same outbreak. Several serotypes could be involved in case of agroterrorism.

Another feature of foot-and-mouth virus infection is the generation of asymptomatic carriers of wild virus after infection even in previously vaccinated animals. In order to get round this problem, so-called «marker vaccines» associated with a companion diagnostic test are developed: it aims to be able to differentiate simply vaccinated animals from infected ones, whether they were previously vaccinated or not.

These vaccines are presently highly purified inactivated vaccines and the companion diagnostic test is based upon the detection of specific antibodies directed against virus-induced non-structural proteins. These antibodies should not be detected in simply vaccinated animals. This technology takes into account the fact that foot-and-mouth disease virus multiplication implies the synthesis of a polyprotein subsequently cleaved. It allows to certify the absence of infection at a herd level not yet at an individual level.

Another research trend is to identify virus receptors in animals in order to better understand the pathogenesis of the infection and the reasons why some animals become asymptomatic carriers of wild virus after infection.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ACHARYA R., FRY E., STUART D., FOX G., ROWLANDS D., BROWN F., *The three-dimensional structure of foot-and-mouth disease virus at 2.9Å resolution*, Nature, 337, 709-716 (1989).
2. BARANOWSKI E., RUIZ-JARABO C.M., DOMINGO E., *Evolution of cell recognition by viruses*, Science, 292, 1102-1105 (2001).
3. DECLERCQ K., *La vaccination comme outil de lutte contre la fièvre aphteuse*, Ann. Méd. Vét., 146, 155-160 (2002).
4. DEDIEGO M., BROCCHI E., MACKAY D., deSIMONE F., *The non-structural polyprotein 3ABC of foot-and-mouth disease virus as a diagnostic antigen ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle*, Arch. Virol., 142, 2021-2033 (1997).
5. DOMINGO E., ESCARMIS C., MARTINEZ M.A., MARTINEZ-SALAS E., MATEU M.G., *Foot-and-mouth disease virus populations are quasispecies*, Curr. Top. Microbiol. Immunol., 176, 33-47 (1992).
6. BODET B., VICARI M., *Foot-and-mouth disease: control strategies. Symposium proceedings*, Editors, Lyon, France, 2-5 June (2002).
7. JACKSON T., ELLARD F.M., GHAZALEH R.A., BROOKES S.M., BLAKEMORE W.E., CORTEYN A.H., STUART D.L., NEWMAN J.W., KING A.M., *Efficient infection of cells in culture by type O foot-and-mouth disease virus requires binding to cell surface heparan sulphate*, J. Virol., 70, 5282-5287 (1996).
8. LOMBARD M., *Constitution d'une banque d'antigènes congelés et préparation d'urgence de vaccins antiaphteux*, Ann. Méd. Vét., 136, 523-524 (1992).

9. PASTORET P.P., *The place of Marker vaccines in control and eradication of animal diseases – aspects of comparative interest*, Dev. Biol. Basel, Karger, 121, 181-188 (2005).
10. PASTORET P.P., MACKAY D., *Regulatory considerations for emergency use of vaccines in the European Union*, Dev. Biol. Basel, Karger, 114, 53-58 (2003).
11. SALT J.S., *The carrier state in foot-and-mouth disease – an immunological review*, Br. Vet. J., 149, 207-223 (1993).
12. SALT J.S., PASTORET P.P., BLANCOU J., VANNIER P., VERSCHUEREN C., *Vaccination against foot-and-mouth disease*. In *Veterinary vaccinology*, Editors, Amsterdam, Lausanne, New-York, Oxford, Shannon, Tokyo, Elsevier, 853 pages (1997).
13. STROBBE R., *Diminution de l'immunité du cheptel bovin belge après l'arrêt de la vaccination antiaphteuse et conditions d'une vaccination d'urgence*, Ann. Méd. Vét., 136, 513-519 (1992).
14. The Royal Society. Royal Society infectious disease in livestock inquiry – Follow-up review, Policy document 25/04, December (2004).

(Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory – United Kingdom).

\*  
\* \*

### Discussion

*M. A. Burny.* – Comment peut-on par exemple prévoir qu'un virus philippin va arriver en Europe?

*M. P.-P. Pastoret.* – Si l'on vaccine, ce sera obligatoirement en situation d'urgence, à l'aide d'un vaccin adapté à la souche de virus responsable du foyer. D'autre part, l'épidémiologie moléculaire peut être utilisée de manière prédictive, si l'on surveille les zones où l'infection règne de manière endémique.

*M. M. Goldman.* – Vous avez fait allusion à un projet d'envergure qui vise à analyser les réponses des lymphocytes T vis-à-vis du virus. Quels sont les rôles respectifs des anticorps et des lymphocytes T dans la protection contre l'infection?

*M. P.-P. Pastoret.* – La réponse humorale spécifique participe à la protection; les vaccins actuellement disponibles, tous inactivés, favorisent ce type de réponse.

*M. J.-F. Beckers.* – Félicitations pour ton exposé très clair et très intéressant... Félicitations aussi pour ton rôle très important dans la lutte contre les maladies animales, en particulier celles du bétail... Y a-t-il à l'heure actuelle des études et des recherches sur le développement de vaccins recombinants comme cela a été réalisé pour lutter contre la rage avec succès...? Où en est-on aujourd'hui?

*M. P.-P. Pastoret.* – Toutes les approches possibles sont actuellement envisagées; ce qui semble définitivement exclu, c'est l'approche de vaccins peptidiques.

\*  
\* \*

Les démences sont des affections souvent dégénératives ou vasculaires. Les affections inflammatoires peuvent aussi provoquer des démences temporales, des «maladies à corps étrangers» (qui touchent moins spécifiquement les neurones sous-corticaux). C'est essentiellement la maladie d'Alzheimer qui sera discutée ici.

### La maladie d'Alzheimer

Selon les critères internationaux (DSM-IV), le diagnostic de maladie d'Alzheimer nécessite l'absence de mémoire et d'au moins une autre fonction cognitive être observé par rapport au niveau attendu pour l'âge de la démence. Il faut exclure d'abord un état confusionnel. Le diagnostic est confirmé dans 85 % des cas lorsqu'il est associé à des lésions qui augmentent nettement avec l'âge.

La maladie d'Alzheimer est une affection chronique qui n'est ni guérie ni prévenue mais ralentie par des médicaments symptomatiques, essentiellement des anticholinestérasiques et des neuroprotecteurs susceptibles de ralentir la progression de la maladie, mais qui n'est certainement pas guérie dans cette affection. Les molécules actuellement en cours d'essais cliniques, visent à réduire l'impact de la maladie sur les neurones corticaux via des mécanismes qui jusqu'à présent ne revendiquent un effet sur la maladie que dans la plupart des médicaments que nous utilisons pour améliorer la perfusion cérébrale.

(\*) Invité par le Bureau en vertu de l'article 17 de la loi du 12 juillet 1985.