

Généralités sur la fièvre aphteuse (FA)

Historique

Les écrits les plus anciens, décrivant fort probablement la fièvre aphteuse (FA) ont été proposés par Hieronymus Fracastorius en 1546 à Venise (Italie). En effet, cet auteur a décrit cette maladie comme étant hautement contagieuse et ne touchant que le bétail. Les animaux atteints avaient des aphtes dans la cavité buccale et sur les pieds (Fracastorius 1546 cité par Tekleghiorghis 2014). En 1897, Loeffler et Frosch ont mis en évidence le virus responsable de la fièvre aphteuse (Loeffler et Frosch 1898). Pendant de nombreuses années après sa découverte, la recherche sur le virus de la fièvre aphteuse (FMDV) a été limitée par l'absence d'un modèle animal expérimental approprié pour étudier la maladie. Par la suite, en 1920 un modèle animal expérimental pour l'étude de la fièvre aphteuse a été établi par Waldmann et Pape en utilisant le cobaye (Waldmann et Pape 1920). En 1922, un nouveau progrès a été réalisé lorsque Vallée et Carré ont démontré qu'il existait différents types antigéniques du virus de la fièvre aphteuse (sérotypes) suggérant la possibilité que le même animal soit infecté successivement (Vallée et Carré 1922). Ils ont ainsi découvert 2 sérotypes nommés en fonction de leur origine, O (pour Oise, un département du Nord de la France) et A (pour Allemagne). Quatre ans plus tard, en 1926, Waldmann et Trautwein ont découvert en Allemagne un troisième type antigénique qu'ils ont appelé C (Waldmann et Trautwein 1926). Ainsi, les trois premiers sérotypes sont devenus connus, nommés par accord international, Vallée O, Vallée A et Waldmann C et plus tard simplement O, A et C.

Deux nouveaux sérotypes ont été identifiés en 1948 dans des échantillons prélevés au Bechuanaland (Botswana) et en Rhodésie du Nord (Zambie). Des tests rétrospectifs sur des échantillons de Rhodésie du Sud (Zimbabwe) des années 1930 ont permis de détecter ces deux nouveaux sérotypes ainsi qu'un troisième nouveau sérotype. Ces nouveaux sérotypes ont été nommés SAT (Southern African Territories) 1 à 3 (abrégés en SAT 1, SAT 2 et SAT 3) (Brooksby 1958).

Le septième sérotype, désigné Asia1, a été identifié pour la première fois au début des années 1950, lorsque des virus ont été isolés en Inde en 1951 et 1952 (Dhanda, Gopalakrishnan, et Dhillon 1957) et au Pakistan en 1954 (Brooksby et Rogers 1957).

Par conséquent, actuellement 7 sérotypes ont été décrits, immunologiquement distincts du virus de la fièvre aphteuse, puisqu'il n'y a pas de protection croisée entre ces sérotypes (Brooksby 1982). De plus, pour chaque sérotype, il existe plusieurs sous-types génétiques et antigéniques avec différents degrés de virulence (Fontaine, Mackowiak, et Roumiantzeff 1968; Kitching et al. 1989; Pereira 1976; Rweyemamu 1984; Toma 2003; Vallée et Carré 1922).

Le développement de techniques permettant la croissance du virus *in vitro* a été crucial pour la production à grande échelle de vaccins et pour le dosage précis de l'infectiosité du virus (titre viral). De 1926 à 1936, ce sont les travaux de Vallée, Carré et Rinjard (action du formol sur le virus provenant de l'épithélium lingual de bovin infecté) (Vallée, Carré, et Rinjard 1926), puis ceux de Schmidt (adsorbabilité du virus de la fièvre aphteuse sur hydroxyde d'aluminium) (Schmidt 1936) et ceux de Waldmann et Köbe, qui ont permis d'obtenir le premier vaccin contre la fièvre aphteuse : un virus formolé, adsorbé sur hydroxyde d'aluminium et chauffé (Waldman et Köbe 1938). Depuis que Maitland et Maitland (1931) et Hecke (1930, 1931) ont signalé le succès de la culture du virus de la fièvre aphteuse dans des tissus embryonnaires de cobayes, un certain nombre de méthodes *in vitro* de propagation du virus ont été étudiées en vue de remplacer l'animal vivant comme source du virus dans la production de vaccins, c'est le cas notamment de la méthode décrite par Frenkel en 1947, dans laquelle le tissu épithélial de la langue du bovin est utilisé (Frenkel 1947). C'est sur cette base que se sont développés les programmes de vaccination initiés en Europe dans les années 1950 (Barteling et Vreeswijk 1991; Henderson et Galloway 1953).

Avec certaines améliorations, le virus est produit par culture sur cellules de reins de hamster (BHK-21) pendant 24 heures. Après filtration, il subit une double inactivation par l'éthylèneimine binaire. Une concentration et une purification par chromatographie permettent l'obtention d'une suspension antigénique concentrée, purifiée et stockée à -100°C en vapeurs d'azote (Barteling 2002; Toma, Dufour, et Rivière 2018).

De plus, il est utilisé les lignées cellulaires telles que les cellules BHK-21 et cellules de reins du porc (IBRS-2), en flacons stationnaires, en flacons roulants ou, mieux, sur des microsoutports (billes microscopiques, supports sephadex de 100 microns), ce qui constitue une nouvelle modalité de culture. Les cellules adaptées à la culture en masse dite en suspension (BHK-21 principalement) permettent l'utilisation de bioréacteurs de 3000 à 5000

litres. Ces techniques de production du virus aphteux sur lignées cellulaires dispensent des opérations de récolte et de transport des épithéliums linguaux. Elles sont actuellement aussi largement employées pour la production de vaccins que la méthode Frenkel (Toma, Dufour, et Rivière 2018).

1.2. Répartition géographique et importance économique

1.2.1. Répartition géographique

La fièvre aphteuse a une large distribution dans le monde. La distribution des 7 sérotypes du virus de la fièvre aphteuse varie dans l'espace et dans le temps. En conséquence, l'OIE/FAO, ainsi que le laboratoire mondial de référence pour la fièvre aphteuse (WRLFMD) à Pirbright en Angleterre, fournissent régulièrement des rapports sur la présence de la maladie dans le monde entier et les souches circulantes associées. Selon le sérotype et les sous-types circulant, les régions enzootiques ont été subdivisées en 7 pools de virus (Figure 1) (WRL-FMD 2016).

Les pools de virus ont été définis par l'OIE/FAO et ces pools sont souvent le résultat de similitudes écologiques, d'échanges de bétail communs et de traditions culturelles (Brito et al. 2017). Chacun de ces pools contient au moins deux sérotypes de virus, et comme la circulation des virus se fait principalement à l'intérieur de ces réservoirs régionaux, des souches ont évolué, qui sont spécifiques à la région et qui souvent (dans le cas des virus de type A et SAT) nécessitent des vaccins adaptés (Paton, Sumption, et Charleston 2009).

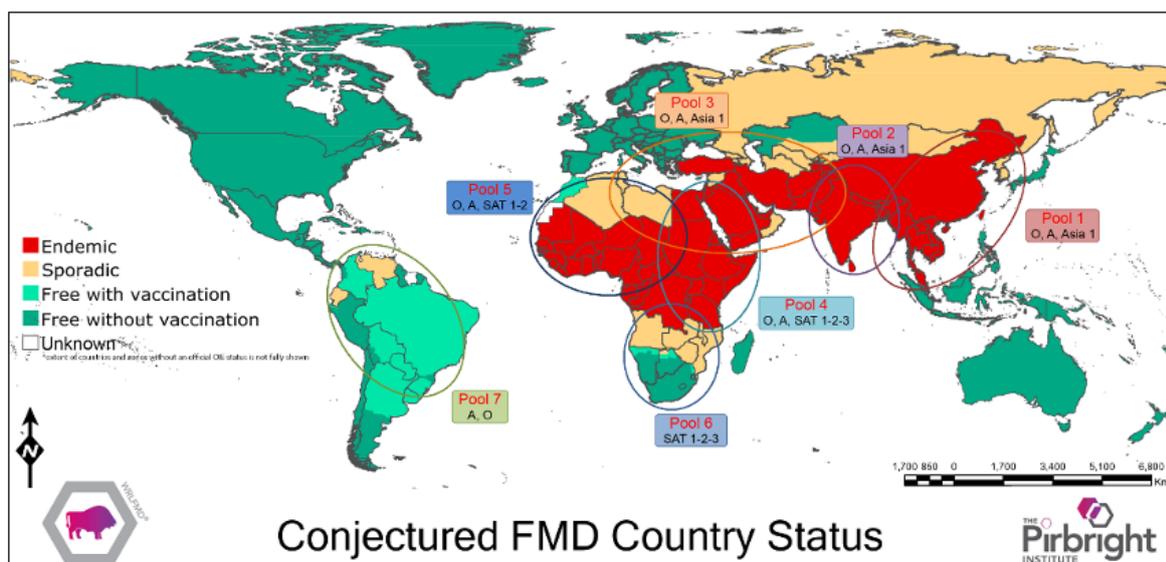


Figure 1 : Répartition mondiale des sérotypes du virus de la fièvre aphteuse
Source : (WRL-FMD 2016)

L'incidence cumulative des sérotypes de fièvre aphteuse montrait que cinq des sept sérotypes de la fièvre aphteuse (O, A, SAT 1, SAT 2, SAT 3) se trouvaient en Afrique, tandis que l'Asie avait quatre sérotypes (O, A, Asia1) et l'Amérique du Sud avait seulement trois sérotypes (O, A) (WRL-FMD 2016).

Par conséquent, les sérotypes A et O du virus de la fièvre aphteuse ont la répartition la plus large en Afrique, en Asie et en Amérique du Sud. Le sérotype O est le virus de la fièvre aphteuse le plus répandu dans le monde et, à l'intérieur de ce sérotype, il existe certaines souches à dissémination transcontinentale. C'est le cas de la souche PanAsia (au sein du topotype O/ME-SA) qui s'est répandue de 1990 à 2003 en Asie, en Europe et en Afrique du Sud (Knowles et al. 2005; Mason et al. 2003; Sangare et al. 2001). En outre, le sérotype O du virus de la fièvre aphteuse comprend un lignage particulier (Ind-2001d dans le topotype ME-SA : Middle East-South Asia) qui est normalement dans le sous-continent indien mais a récemment provoqué des foyers au Moyen-Orient et en Afrique du Nord (Bachanek-Bankowska et al. 2016; Knowles et al. 2016; Valdazo-González, Knowles, et King 2014).

Les derniers foyers de fièvre aphteuse dus au sérotype C ont été signalés en 2004 sur une île d'Amazonie au Brésil (Sumption et al. 2007) et au Kenya (Sangula et al. 2011). Le sérotype Asia1 est aujourd'hui généralement confiné à l'Asie. Cependant, deux incursions de ce sérotype ont eu lieu en Grèce, l'une en 1984 et l'autre en 2000 (Jamal et Belsham 2013). De plus, des disséminations périodiques du sérotype Asia1 ont été signalées à l'Ouest dans le Moyen-Orient, et au Nord et à l'Est dans les anciennes républiques soviétiques (comme le Kirghizistan, le Tadjikistan, l'Ouzbékistan) et la Chine (Valarcher et al. 2009). Les trois sérotypes du SAT sont normalement limités à l'Afrique Subsaharienne. Cependant, il y a eu quelques foyers dus aux virus SAT1 en Grèce en 1962 (WRL-FMD 2016). En outre, des foyers dus au sérotype SAT2 ont été signalés au Moyen-Orient et récemment dans des pays d'Afrique du Nord, à savoir l'Égypte et la Libye (Ahmed et al. 2012; Elhaig et Elsheery 2014; El-Shehawy et al. 2014; Valdazo-González et al. 2012; WRL-FMD 2016).

Bien que la FA puisse se manifester sporadiquement dans des zones généralement indemnes, la maladie reste enzootique dans plusieurs régions d'Asie, dans la plupart des pays d'Afrique et du Moyen-Orient. En Amérique latine, de nombreux pays ont appliqué le zonage et sont reconnus indemnes de fièvre aphteuse avec ou sans vaccination c'est les cas par exemple de l'Argentine, du Pérou, du Brésil et de la Colombie (OIE 2016). Cependant, en juillet 2017,

une épizootie de la FA a été signalée en Colombie. Les foyers détectés étaient dû au sérotype O (Fao 2017).

1.2.2. Importance économique

La fièvre aphteuse a des conséquences économiques considérables. Son impact économique peut être divisé en deux composantes : (i) les pertes directes dues à la réduction de la production (viande, lait et avortements) et (ii) les pertes indirectes dues aux coûts de la lutte contre la fièvre aphteuse (c'est-à-dire dépeuplement et mesures d'embargo commercial notamment). Il a été estimé en 2013 que l'impact économique annuel de la fièvre aphteuse en terme de pertes de production visibles et de coûts de vaccination dans toutes les régions enzootiques se situe entre 6,5 et 21 milliards de dollars US (Knight-Jones et Rushton 2013).

L'épidémie dévastatrice survenue en 2001 au Royaume-Uni s'est propagée en France et aux Pays-Bas. Le Royaume-Uni à lui seul a été contraint d'abattre environ 4 millions d'animaux infectés ou en contact. Le coût de cette épidémie a été estimé à plus de 29 milliards de dollars US (Knight-Jones et Rushton 2013; Knowles et al. 2001; Samuel et Knowles 2001). Cependant, en Afrique Subsaharienne, il est difficile d'évaluer les pertes causées par la fièvre aphteuse, en particulier les pertes indirectes, en raison de la complexité des systèmes de production (Domenech 2011).

1.3. Etiologie de la maladie

1.3.1. Taxonomie

Le virus de la FA appartient à la famille *Picornaviridae*. C'est un virus à ARN simple brin, non enveloppé de polarité positive qui possède une capsid de forme icosaédrique d'environ 30nm de diamètre et un génome de l'ordre de 8500 nt (nucléotides) (Rueckert 1996). Cette famille des *Picornaviridae* se compose actuellement de 94 espèces regroupées en 40 genres (King et al. 2018). Sept nouveaux genres de *Picornavirus* ont été proposés au Comité International sur la taxonomie des virus en anglais « International Committee on Taxonomy of Viruses » (ICTV), portant le total à 47 genres. En outre, 16 nouvelles espèces ont également été proposées, ce qui porte le total à 110 (Adams et al. 2017; King et al. 2018; Zell et al. 2017).

Les virus de cette famille causent des maladies pour l'homme et les animaux. Le genre *Aphthovirus*, auquel appartient le virus de la fièvre aphteuse, contient quatre espèces : le virus

de la rhinite bovine A (BRAV), le virus de la rhinite bovine B (BRBV), le virus de la rhinite équine A (ERAV) et le virus de la fièvre aphteuse. Le nom du genre est dérivé du mot grec *aphtha* qui signifie « vésicules dans la bouche » et fait référence aux lésions vésiculaires que le virus provoque chez les animaux artiodactyles (Brooksby 1982; Melnick 1983).

1.3.2. Structure de la capsidie et organisation du génome viral

1.3.2.1. Structure de la capsidie

La capsidie du virus de la fièvre aphteuse a été cristallisée et sa structure a été analysée aux rayons X. Elle est composée de 60 protomères formés chacun de 4 polypeptides appelés chacun « Viral Protein » VP1 à VP4 arrangés en quantité équimoléculaire. L'unité de base de la capsidie est le protomère constitué d'un exemplaire de chacune des protéines VP1, VP2, VP3 et VP4, organisées selon une symétrie icosaédrique (Acharya et al. 1989).

Les VP1, VP2 et VP3 ont un poids moléculaire sensiblement identique de 24000 Daltons (Da) et se trouvent exposées à la surface de la capsidie, avec les extrémités N-terminales de VP1 et VP3 plus ou moins hydrophobes, imbriquées et enfouies vers l'intérieur. VP1 et VP2 sont également associées par des liaisons disulfures, au moins pour le sérotype O, et on retrouve également des dimères de VP3 maintenus aussi par des liaisons disulfures. Une face de l'icosaèdre est donc constituée par 3 molécules de chacun des peptides majeurs (Figure 2). La protéine VP4, de poids moléculaire 8000, possédant un groupement myristilé à son extrémité N-terminale est la seule protéine virale à être modifiée après la traduction. VP4 est complètement à l'intérieur de la capsidie, au contact de l'ARN. Elle peut être considérée comme l'extension N-terminale de VP2 (Goodwin et al. 2009; Grigera, Vasquez, et Palmenberg 1985).

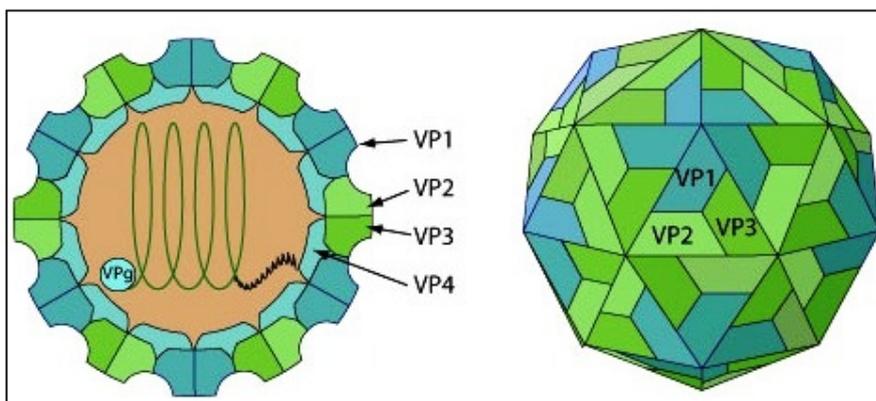


Figure 2 : Structure de la capsidie icosaédrique du virus

Source : (ViralZone 2008)

La VP1 est la protéine la plus antigénique. Au niveau de cette protéine, il existe une région extrêmement exposée et mobile, la boucle G-H qui joue un rôle central dans l'antigénicité et dans la fixation aux récepteurs cellulaires. Cette boucle G-H facilite la fixation aux récepteurs cellulaires du virus de la FA via le motif conservé RGD (Logan et al. 1993).

1.3.2.2. Organisation du génome viral

Le génome du virus de la fièvre aphteuse se compose d'une molécule d'ARN simple brin positif d'environ 8,5 kb (kilobases) de longueur. Cette molécule d'ARN est liée en 5' de façon covalente à une petite protéine de 24 acides aminés, la VPg (viral genome linked protein). Le génome viral code pour une seule grande protéine précurseur ou polyprotéine de l'ordre de 2 332 acides aminés. Cette polyprotéine subira plusieurs clivages pour donner naissance aux protéines fonctionnelles. Elle n'est presque jamais observée car les clivages se font parallèlement à sa synthèse. Le génome du virus de la fièvre aphteuse peut être représenté schématiquement par une ligne continue, divisé en trois parties : (i) la région non codante 5'NTR (Non Translated Region) (1200 nucléotides), (ii) la région codant pour la polyprotéine (6996 nucléotides) et (iii) la région 3' non codante (3'NTR) (90 nucléotides) suivie d'une séquence de polyAdénilylation de longueur variable (Figure 3).

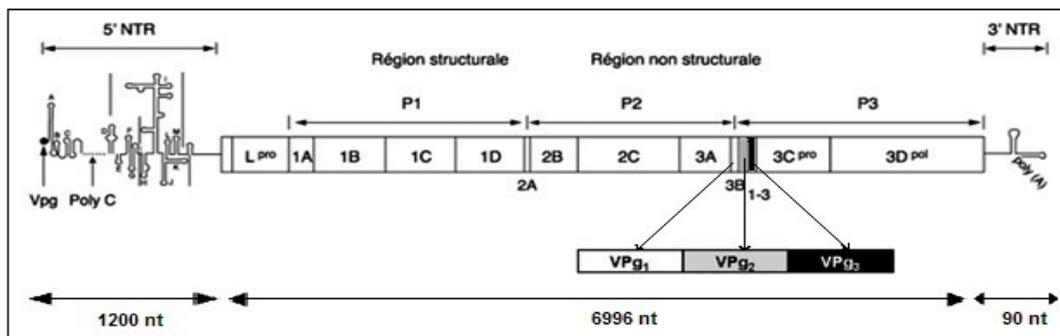


Figure 3 : Structure du génome du virus de la fièvre aphteuse

Source : (adaptée de Kim et Remond 2000).

Légende : *VPg* : protéine virale liée au génome ; *L^{pro}* et *3C^{pro}* : protéases L et 3C ; *3D^{pol}* : polymérase 3D. Les régions traduites sont représentées par des rectangles et les barres verticales correspondent aux sites de clivage des protéases.

Les polyprotéines (P1-2A, P2 et P3) sont respectivement les précurseurs des protéines structurales de la capsid, des protéines non structurales 2BC et 3ABCD. La protéine 3B correspond à la protéine VPg, elle est codée en trois exemplaires (3 régions 3B, similaires mais non identiques ; cas unique et particulier du FMDV au sein des *Picornaviridae*) bien que le virus soit viable avec un seul « gène » de cette protéine. Cette protéine VPg se lie de façon

covalente à chaque molécule d'ARN par une liaison phosphodiester entre l'acide uridylique terminal et une tyrosine toujours présente en position 3 dans la protéine (Falk, Sobrino, et Beck 1992). La protéine VPg est essentielle à la réplication virale. Tous les ARN viraux nouvellement synthétisés y sont liés tandis que les ARNm cellulaires (ARN messenger) en sont dépourvus ; elle est probablement excisée par une enzyme cellulaire (Ambros et Baltimore 1980; Kim et Remond 2000).

i) La région non codante 5'NTR représentant plus de 10 % du génome, possède une structure secondaire en forme de boucles ayant un rôle indispensable dans la traduction, la réplication et l'encapsidation de l'ARN viral. La première partie de l'extrémité 5' est appelée le fragment S et mesure environ 400 nucléotides de long. Ensuite, vient un fragment polyribocytidylate (poly C) de longueur variable généralement de 100 à 170 nucléotides (Kim et Remond 2000). Le rôle de cette séquence polyC, non indispensable à la réplication, activatrice des protéines kinases cellulaires et hautement toxique pour les cellules procaryotes, est inconnu mais on peut supposer avec Edgington (1995) que ses interactions avec les protéines kinases, première ligne de défense des cellules eucaryotes, soit en définitive favorables au virus (Edgington 1995). La longueur du polyC n'a aucun effet sur la virulence du FMDV comme cela a été longtemps supposé (Rieder et al. 1993). Juste après le fragment polyC, se trouvent des pseudo-nœuds (pseudoknots) dont la fonction est inconnue (Clarke et al. 1987). Enfin, la dernière structure secondaire avant la région codante est le site de fixation des ribosomes ou IRES (*Internal Ribosome Entry Site*) initiant la traduction composé d'environ 435 nucléotides (Belsham et Brangwyn 1990; Ohlmann et Jackson 1999). L'IRES sert à la fixation du ribosome et à l'initiation de la synthèse des protéines d'une manière coiffe-indépendant. Il contient une région riche en pyrimidines juste avant le premier codon AUG (Grubman et Baxt 2004).

ii) La région codante est la partie principale du génome du virus. Elle est un seul grand gène représentant l'essentiel du génome et codant pour une polyprotéine de 2332 acides aminés (pour le sérotype O) (Forss et al. 1984). Cette polyprotéine est très instable car elle est clivée au cours de sa synthèse en polypeptides précurseurs (L^{pro} , P1, P2 et P3) qui sont traduits et transformés en différentes protéines structurales et non structurales par les protéases virales (L^{pro} , 2A, et $3C^{pro}$) (Rueckert 1996). La protéine L^{pro} est une cystéine papaïne-like (uniquement chez les aphtovirus), elle représente la protéine leader, où deux sites d'initiation de la traduction (codons AUG) ont été identifiés : espacés de 84 nucléotides. En

raison de cette initiation de la traduction alternative, il existe deux formes de protéase leader : Lab d'environ 200 acides aminés et Lb d'environ 170 acides aminés (Belsham 2013; Burroughs et al. 1984; Sangar et al. 1988).

La polyprotéine (P1) située près de l'extrémité 5' du génome viral, correspond aux protéines structurales alors que les polyprotéines P2 et P3 correspondent aux protéases et aux protéines impliquées dans la réplication virale et l'inhibition de la synthèse cellulaire (Figure 4). Cette polyprotéine P1 est le précurseur des protéines de capsid 1ABCD connues sous les noms de VP4, VP2, VP3 et VP1. Le précurseur intermédiaire P1 est traité à l'aide de la protéinase virale 3C^{pro} pour produire VP0, VP1 et VP3 qui s'assemblent pour former des particules de capsid vides. Le virion mature est produit après encapsidation de l'ARN et clivage de VP0 en VP2 et VP4. Les régions P2 (2A, 2B, 2C) et P3 (3A, 3B, 3C, 3C, 3D) codent pour les protéines non structurales impliquées dans la réplication de l'ARN viral (Belsham 2013; Porter 1993; Rueckert 1996; Spall, Shanks, et Lomonossoff 1997). La protéine 2A est réduite à un oligopeptide de 19 acides aminés qui présente la propriété de s'autocliner à son extrémité C terminale, comme la protéase L (Donnelly et al. 1997).

La maturation de la polyprotéine est séquentielle ; les événements primaires de clivage font intervenir la protéase L et la protéase 2A, ces 2 oligopeptides participant ponctuellement à la maturation. Ils présentent en effet la propriété de s'autocliner à leur extrémité C-terminale. La protéase L clive à la jonction L/1A et la protéase 2A dissocie les précurseurs LP12A et 2B2CP3. Tous les autres clivages pour générer les protéines de capsid VP0, VP1 et VP3, sont réalisés par la protéase 3C ou son précurseur 3CD. Toutefois, la maturation de VP0 en VP2 et VP4 relève d'un autre mécanisme mal déterminé (Kim et Remond 2000).

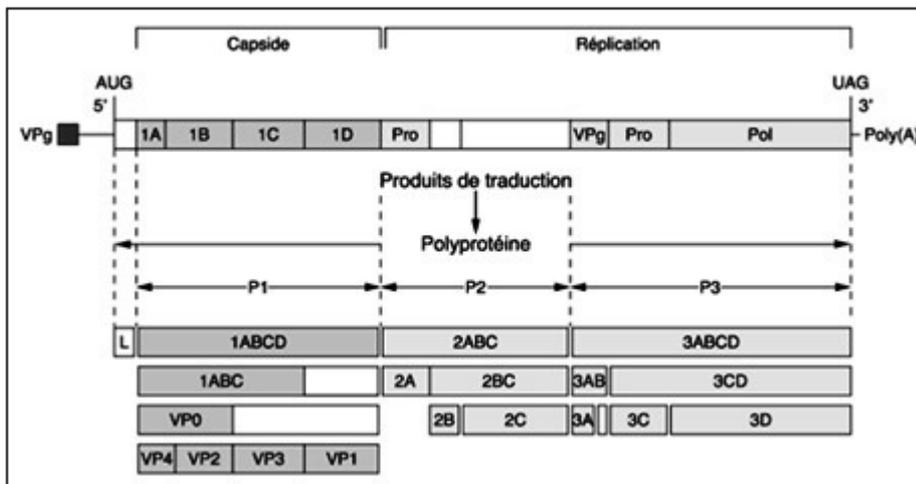


Figure 4 : Organisation génétique et expression des protéines virales
Source : (Kim et Remond 2000).

iii) La région 3'NTR non codante a une longueur d'environ 90 nucléotides. Elle contient une petite séquence qui forme une structure en tige-boucle et se termine par une séquence poly A de longueur variable. Cette région est susceptible d'être un site d'interaction avec des protéines virales et des protéines de l'hôte pour la réplication du génome viral (Grubman et Baxt 2004).

1.3.3. Propriétés biologiques du virus

1.3.3.1. Variation génétique

Le virus de la fièvre aphteuse existe en sept sérotypes distincts qui peuvent être subdivisés en un grand nombre de sous-types. Cette diversité s'exprime principalement dans la région génomique codant pour les protéines structurales conduisant à plus de 30% d'échanges d'acides aminés dans les protéines de la capsidie entre les sérotypes, alors que les protéines non structurales diffèrent seulement de 2 à 7% (Domingo et al. 2003). Les virus sont soumis à une forte dérive génétique avec un taux de mutation allant jusqu'à 3% d'échanges de base par an dans la région génomique codant pour les protéines structurales (Beck 1988; Beck et Strohmaier 1987). En raison de l'absence d'activité de relecture-réparation par la réplicase virale (absence de mécanismes de contrôle des erreurs de réplication), la réplication du génome virale est très sujette aux erreurs (Holland et al. 1982). Les taux de mutation élevés donnent lieu à des populations composées de virus génétiquement apparentés mais non identiques, appelés quasi-espèces.

Bien que le taux d'erreur de l'ARN-polymérase des virus aphteux soit peu influencé par la région génétique copiée, la fixation de mutations dans le génome du virus de la fièvre aphteuse n'est pas homogène. Il existe par exemple une différence significative dans le taux de fixation de mutations entre les régions 1D (codant pour la VP1) et 3D (codant pour l'ARN-polymérase). Cette différence répond à l'accumulation de mutations dans un spectre déterminé par les conditions du milieu de multiplication du virus. La fixation des mutations répond à la fois à des événements aléatoires et à des mécanismes de sélection. L'événement aléatoire peut être l'infection d'un animal avec un ou plusieurs virus et la reconstitution d'une quasi-espèce chez cet animal. La sélection positive sera particulièrement évidente dans une population immunisée où les modifications antigéniques donnent un avantage sélectif à un virus. Enfin, la sélection négative éliminera les génomes mutants porteurs de mutations délétères (Thiry, Baranowski, et Domingo 2001).

Un taux important de mutations dans les régions codant pour les protéines structurales a été rapporté durant des épizooties de fièvre aphteuse (Martinez et al. 1988; Sobrino et al. 1986). Ce taux de mutations peut atteindre des valeurs aussi élevées que 7×10^{-2} substitutions par site et par an, lors d'infections persistantes chez les bovins (Gebauer et al. 1988).

Des études menées sur des virus de type SAT 1 et SAT 2 ont estimé les changements nucléotidiques à 1,64 % par an, pour la région codant pour la VP1 (Vosloo et al. 1996). Plusieurs expériences menées *in vivo* font état de la production des virus de la FA très variables isolés à partir d'animaux au cours d'études d'infection. Ces observations peuvent avoir été influencées par des facteurs moléculaires et/ou des pressions sélectives indirectement induites par les méthodologies de laboratoire (Carrillo et al. 1998; Martinez et al. 1988). Récemment, une étude menée pendant l'épidémie de 2001 au Royaume-Uni a démontré que les changements nucléotidiques se produisent dans l'ensemble du génome à un taux de $2,26 \times 10^{-5}$ substitutions nucléotidiques par site et par jour. Par conséquent, les données obtenues à partir de foyers comme l'épidémie de 2001 appuient les observations expérimentales, démontrant le rôle des pressions sélectives liées à l'hôte sur la variabilité et l'évolution du virus de la fièvre aphteuse (Cottam et al. 2006).

Des études génomiques comparatives utilisant des séquences intégrales représentatives des sept sérotypes ont permis d'identifier des régions génomiques hautement conservées, indiquant des contraintes fonctionnelles de variabilité ainsi que des motifs non définis ayant

une signification biologique probable (Carrillo et al. 2005). Au moins 64 % de tous les sites du génome du virus de la fièvre aphteuse sont susceptibles d'être substitués, y compris les substitutions compensatoires. Il est important de préciser que la plupart des résidus "variant" ou substituables dans le génome du virus de la fièvre aphteuse subissent une mutation en réponse aux effets nuisibles produits par des mutations ailleurs dans le génome. Par conséquent, de nouveaux variants du virus de la fièvre aphteuse apparaissent continuellement après chaque cycle de réplication. La génération de nouveaux variants est considérée comme l'un des problèmes majeurs dans la lutte contre la fièvre aphteuse par la vaccination (Carrillo 2012).

1.3.3.2. Variation antigénique

Le concept de variation antigénique découle de l'observation de Vallée et Carré 1922 selon laquelle un animal qui s'est remis d'une infection par le virus de la fièvre aphteuse peut être réinfecté et développer des signes cliniques. La variation génétique observée dans le génome viral de la fièvre aphteuse est le résultat d'un processus d'évolution virale incluant la réplication de l'ARN viral qui est sujette aux erreurs en raison de l'absence d'une activité de relecture dans l'ARN polymérase codée par la région 3D (Domingo et al. 1990). Ainsi, le virus de la fièvre aphteuse possède une grande capacité de variation et d'adaptation qui se manifeste par l'existence de sept sérotypes différents (O, A, C, SAT1, SAT2, SAT3 et Asia 1) et de multiples sous-types ou variants antigéniques (Domingo et al. 1990). L'utilisation d'anticorps monoclonaux neutralisants a permis de calculer le nombre de variants antigéniques présents dans une même population. En culture cellulaire, la fréquence d'isolement de ces mutants d'échappement varie entre 4×10^{-5} et 8×10^{-3} (Martinez et al. 1988; Martínez et al. 1997).

Des études génétiques, immunochimiques et structurales ont permis de caractériser la structure antigénique du virus de la fièvre aphteuse et de comprendre les mécanismes par lesquels le virus échappe à la neutralisation (Mateu 1995). Le virus possède trois sites antigéniques importants, notamment le site antigénique A (site majeur chez le sérotype C) qui est composé de plusieurs épitopes linéaires situés sur la boucle G-H de la protéine VP1 ; le site antigénique C situé en région carboxy-terminale de la protéine VP1 et le site antigénique D qui est discontinu et formé de plusieurs résidus des protéines VP1, VP2 et VP3. Fortement liés à la structure de la capsid, les sites antigéniques du virus se retrouvent aussi très exposés en surface, ce qui est déjà plus conventionnel. La technique de choix qui a permis la

localisation des épitopes est le séquençage des variants résistants à la neutralisation par des anticorps monoclonaux et la comparaison des séquences avec celle de la souche parentale pour localiser les mutations (Kim et Remond 2000).

Outre l'absence de protection croisée entre les 7 sérotypes du virus de la fièvre aphteuse, l'une des implications inquiétantes de la variation antigénique est le fait que la vaccination avec un variant antigénique d'un sérotype donné ne protège pas nécessairement un animal de l'infection par un virus différent du même sérotype (Brooksby 1982; Cartwright, Chapman, et Sharpe 1982). La variation antigénique constitue de fait un obstacle majeur pour le contrôle de la fièvre aphteuse (Sobrino et al. 2001).

Les progrès réalisés dans la compréhension des différences génétiques qui sous-tendent les variations antigéniques observées ont joué un rôle majeur dans l'épidémiologie de la fièvre aphteuse. De nos jours, le séquençage des nucléotides est couramment utilisé pour identifier les relations génétiques entre les différents isolats et les souches historiques. Cependant, la co-circulation de différents types de virus de la fièvre aphteuse est une réalité dans la plupart des régions endémiques, ce qui représente une complication sérieuse dans l'épidémiologie du virus de la fièvre aphteuse (Ayelet et al. 2009; Balinda et al. 2010; Ludi et al. 2016). Par conséquent, compte tenu de la dérive antigénique continue en situation enzootique, la sélection des souches vaccinales doit toujours être mise en œuvre avec beaucoup d'attention.

1.3.4. Propriétés physicochimiques

1.3.4.1. Comportement vis-à-vis des agents physiques

Il est généralement admis qu'une température supérieure à 50°C inactive progressivement le virus de la fièvre aphteuse et que les températures atteintes par la pasteurisation (61 à 63°C) pendant 30 minutes ont le même effet. Il faut aussi noter que le virus est plus sensible à la chaleur humide (résiste 30 minutes à 65°C) qu'à la chaleur sèche (2h30 à 70°C). Après congélation allant de -30° à -70°C, le virus conserve son pouvoir pathogène pendant des années. Lorsqu'il est exposé aux rayons du soleil surtout en couche mince, le virus est facilement détruit, mais lorsqu'il est contenu dans des fragments de tissus ou dans divers matériaux contaminés (poils, aliments, matériel divers), il peut rester infectant pendant plusieurs semaines, dans les conditions moyennes de l'étable ou de la ferme (Holveck 2002).

L'humidité relative est un facteur essentiel de la survie du virus : elle doit être supérieure à 55%. Dans ce cas, le virus en aérosol reste infectieux à 20°C comme s'il était dans un milieu de culture (Holveck 2002). Le virus de la fièvre aphteuse est stable entre pH 7 et 9 à 4°C et -20°C. Ce virus est sensible aux pH acides et inactivé à pH 6. Cependant, dans le lait et les produits laitiers, le virion est protégé et peut survivre à 70° C pendant 15 secondes à un pH de 4,6. Dans la viande, il peut survivre pendant de longues périodes dans la moelle osseuse et les ganglions lymphatiques réfrigérés ou congelés (McKercher et Callis 1983). La taille des gouttelettes en aérosol joue également un rôle dans la survie ou le dessèchement du virus. En effet, une taille de gouttelettes d'aérosol de 0,5 à 0,7 µm est optimale pour une survie plus longue du virus dans l'air alors que les aérosols plus petits sèchent. En outre, dans des conditions sèches, le virus survit également plus longtemps dans les protéines, par exemple dans les fragments épithéliaux (Donaldson 1987; Donaldson et al. 1987; Sellers, Lacey, et Donaldson 1983).

1.3.4.2. Comportement vis-à-vis des agents chimiques

Le virus de la fièvre aphteuse en raison de l'absence de l'enveloppe, présente une résistance remarquable aux solvants tels que l'alcool à 70°, l'éther, le chloroforme et le crésol. Cependant il est détruit en moins d'une minute par des solutions telles que l'hydroxyde de sodium à 2% ou l'hydroxyde de potassium à 2%, l'acide citrique à 0,2% et le carbonate de sodium anhydre à 4%. Ces solutions sont utilisées comme des désinfectants efficaces pour les objets contaminés par la fièvre aphteuse (Harada et al. 2015; Hong et al. 2015).

Dans des conditions acides, les particules du virus de la fièvre aphteuse sont perturbées en sous-unités pentamériques composées de cinq copies de chacune des protéines de structure du virus (VP1-3) avec libération de la protéine de capsid interne (VP4) et de l'ARN. En effet, le virus est sensible notamment à l'acide acétique à 2%, à l'acide citrique à 0,2% et le formol à 0,5% (agent d'inactivation utilisé dans la préparation des vaccins). Il est aussi sensible aux oxydants tels que les hypochlorites (eau de javel 1/10^{ème}), mais ces derniers sont d'utilisation plus limitée en raison de leur inactivation rapide en présence de matières organiques (Hong et al. 2015; Newman, Rowlands, et Brown 1973). La différence la plus importante, en terme de propriétés physico-chimiques, entre les virus membres de la famille des *Picornaviridae* est leur stabilité en fonction du pH (Pereira 1981).

1.4. Signes cliniques

La période d'incubation de la fièvre aphteuse est variable et dépend de l'hôte (âge, espèce, race et statut immunitaire), de l'environnement, de la voie d'exposition, de la dose d'exposition, des conditions d'élevage et de la souche virale. Il a été estimé qu'après l'infection par le virus de la fièvre aphteuse, la période d'incubation moyenne chez les ovins et les caprins est de 3 à 8 jours ; de 2 à 9 jours chez les porcins et de 2 à 14 jours chez les bovins (Grubman et Baxt 2004). La période d'incubation peut être aussi courte que 18 heures pour les souches adaptées à l'hôte chez les porcins, surtout en contact direct intense (Kitching et Alexandersen 2002). Cette période d'incubation peut toutefois atteindre 21 jours chez les animaux possédant un certain degré d'immunité. Car il a été observé de longues périodes d'incubation semblables dans les situations endémiques ou dans les régions où est pratiquée la vaccination (Holveck 2002). La fièvre aphteuse peut être bénigne voire inapparente chez les petits ruminants ou d'expression plus sévère à grave chez les bovins ou les porcins (Kitching 2002).

- **Chez les bovins**, après une hyperthermie initiale d'environ 40°C, pendant un ou deux jours, un nombre variable de vésicules se développent sur la langue, le palais dur, le coussinet dentaire, les lèvres, les gencives, le muflle, la bande coronaire et l'espace interdigité. Ces signes cliniques s'accompagnent d'un état d'abattement, de tremblement, d'inappétence, de rumination irrégulière avec chute de la production lactée voire son tarissement (Brooksby 1982; Kitching 2002; Woodbury 1995).

Des vésicules peuvent également être observées sur les trayons, en particulier chez les vaches en lactation. Les jeunes veaux peuvent mourir avant l'apparition des vésicules en raison de la prédilection du virus pour envahir et détruire les cellules du muscle cardiaque en développement (Kitching 2002). Une fois l'infection établie dans les troupeaux de bovins, la morbidité peut approcher les 100 % (Salt, Samuel, et Kitching 1996; Woodbury 1995).

En effet, la localisation buccale (stomatite aphteuse) se traduit par des signes fonctionnels de ptyalisme abondant lié à l'inflammation de la muqueuse buccale, la salive s'écoule des commissures labiales en longs filets. L'animal a du mal à prendre les aliments et pour tenter de soulager la douleur envahissant sa cavité buccale, il présente des mouvements de mâchonnement à vide et fait entendre des bruits de succion. L'examen de la bouche

permet de constater la présence d'aphtes précédée d'une décoloration locale de l'épithélium, dont la partie superficielle se soulève sous la pression de l'accumulation sous-jacente de « lymphes aphteuses » très riche en virus (Holveck 2002).

L'atteinte podale se caractérise par des manifestations de douleur à l'appui : piétinement en stabulation, boiteries en déplacement. Cela devient évident sur simple palpation. Quelles que soient les muqueuses affectées, les aphtes et les vésicules évoluent toujours avec la rupture de l'épithélium qui se détache en lambeau. La phase terminale survient en 8 à 10 jours en l'absence de complications. Les lésions aphteuses cicatrisent sous un enduit de fibrine dans la bouche, sous une croûte sur les trayons ou les pieds. Il y a un retour progressif des fonctions digestives et l'hyperthermie s'estompe (Holveck 2002). De plus, il a été démontré que chez les bovins, les vaches gravides peuvent avorter (Radostits et al. 2006).

- **Chez les ovins et les caprins**, les signes cliniques sont similaires à ceux observés chez les bovins, mais les signes fonctionnels et locaux sont toujours plus discrets et peuvent se résumer, souvent chez les caprins, à une atteinte buccale pouvant passer inaperçue. Ces infections souvent subcliniques dans cette espèce rendent la détection des foyers beaucoup plus difficiles. Chez les ovins, les boiteries dominent (souvent un seul membre est atteint) mais une atteinte buccale est toujours présente (Coetzer, Thomson, et Tustin 1994). Chez les animaux boiteux, il peut y avoir des vésicules ou de l'érosion sur la bande coronaire ou dans l'espace interdigité. Les avortements sont plus fréquents que chez les bovins ; là encore, les agneaux et les chevreaux à la mamelle sont les victimes de l'atteinte de leur mère. L'agalaxie est typique chez les brebis et les chèvres en période de lactation (Arzt et al. 2011; Kitching et Hughes 2002).
- **Chez les porcins**, les manifestations cliniques répondent au même schéma que chez les autres espèces (bovine, caprine et ovine), mais la localisation buccale peut être ignorée en raison de sa discrétion et/ou des difficultés d'examen de la bouche. Les lésions buccales ne sont pas trop fréquentes et lorsqu'elles surviennent, elles sont plus petites et de plus courte durée que chez les bovins et ont tendance à être une lésion de type " sèche " ; il n'y a pas de bave (Holveck 2002).

La fièvre aphteuse chez le porc est surtout caractérisée par les difficultés à la marche. En effet, la localisation podale peut être, en apparence exclusive : elle demeure toujours très

prononcée et douloureuse. L'atteinte inflammatoire des couronnes et des coussinets plantaires se poursuit par un large décollement et une rupture rapide de ces tissus. Une éruption vésiculeuse peut aussi apparaître sur les faces postérieures des métatarses et des métacarpes suite aux pressions et irritations provoquées par le décubitus. Le porc atteint de la fièvre aphteuse évite l'appui, reste volontier couché. S'il est forcé de se déplacer, il semble marcher sur des aiguilles. A un stade plus avancé, l'importance des délabrements, pouvant aller jusqu'à l'exongulation, le condamne au décubitus prolongé et à la faim (Kitching et Alexandersen 2002).

Les truies peuvent avorter et les porcelets peuvent mourir sans présenter aucun signe clinique (Coetzer, Thomson, et Tustin 1994; Kitching et Alexandersen 2002; Radostits et al. 2006).

1.5. Pathogénie

La pathogénie de la fièvre aphteuse est complexe. Il existe actuellement de nombreuses lacunes dans le niveau de compréhension de ce phénomène. En effet, le virus pénètre dans l'organisme le plus souvent par les voies respiratoires. Le principal site de multiplication virale est la muqueuse du pharynx, du palais mou et de la partie antérieure de l'œsophage. Le virus envahit la région et des vésicules se forment. Ensuite, leur éclatement est à l'origine de la propagation du virus (Arzt et al. 2011).

Après 24 à 48 heures, le virus passe dans sang *via* le système lymphatique pendant la phase fébrile de l'infection (le taux de virus peut à ce moment atteindre 10 000 unités par ml) et se dirige vers les organes et les tissus cibles où il y a production de vésicules secondaires. Il arrive également que le virus soit introduit en un lieu où les vésicules primaires ne peuvent se former ; l'injection du virus par intramusculaire (IM) par exemple, lui permet de gagner le sang et d'être transporté aux lieux d'élection où il induit l'apparition de vésicules (Holveck 2002).

Le virus aphteux est épithéliotrope, toute l'épaisseur de l'épiderme est concernée. La vésicule prend naissance dans la couche profonde, au niveau du corps muqueux de Malpighi. L'assise cellulaire germinative en renouvellement constant est le siège de la multiplication du virus (Arzt, Pacheco, et Rodriguez 2010).

La formation de vésicules, la lyse cellulaire et l'inflammation significative se produisent aux sites de réplication secondaires (muqueuse buccale, peau de l'espace interdигité, peau des trayons et le cœur) mais pas dans l'épithélium du site de réplication primaire (Arzt, Pacheco, et Rodriguez 2010; Zhang et Alexandersen 2004). Les cellules qui favorisent la réplication virale sont situées dans la couche basale de l'épithélium naso-pharyngé. Cependant, le mécanisme par lequel la réplication virale se produit dans l'épithélium naso-pharyngé sans causer de lyse cellulaire est inconnu ; on ne sait pas non plus pourquoi le virus peut être facilement cultivé à partir de prélèvements pharyngés (obtenus à l'aide de Probang cups) qui, chez les animaux récemment infectés, peuvent contenir pourtant des taux élevés d'anticorps (principalement IgA) dirigés contre le virus infectieux (Arzt et al. 2011; Stenfeldt et al. 2015).

La surface des vésicules ainsi formées est constituée par la couche cornée de l'épiderme, la base reposant sur le derme qui est épargné. Les lésions atteignent jusqu'à 2 à 3 cm de diamètre et leur coalescence donne les aphtes caractéristiques de la maladie. Le titre infectieux du virus peut atteindre 10 millions d'unités par gramme de tissu. Fragiles en raison de la minceur de leur calotte, les aphtes s'excorient pour laisser place à de larges zones érodées rosées, hémorragiques et entourées de lambeaux d'épithélium plus ou moins nécrosés. En l'absence d'infections surajoutées, la couche germinative régénère rapidement l'épiderme et amène la cicatrisation. Toutefois, une perte de la pigmentation au niveau des tissus colorés est observée (Holveck 2002; Röhrer 1969).

Le virus aphteux possède également à côté des propriétés électivement épithéliotropes, un myotropisme certain. Chez les jeunes animaux, la dégénérescence parenchymateuse avec nécrose du myocarde se manifeste par des taches gris-clair ou jaunâtres, qui ont donné au cœur touché le nom de « cœur tigré » (Röhrer 1969).

Les aphtes sont les points les plus riches en virus, leurs parois restent virulentes jusqu'au quatrième jour suivant leur rupture. La virulence de la salive est maximale lorsque les aphtes éclatent. Le virus est également retrouvé dans le mucus nasal et les larmes. Du fait de la déglutition, les virus sont présents en quantité variable mais généralement plus faible dans les excréments (Holveck 2002; Toma, Dufour, et Rivière 2018). Le virus trouvé dans les urines est d'origine sanguine : la virurie suit à peu près la même évolution que la virémie (Holveck 2002).

Par ailleurs, la virémie qui précède l'éruption générale favorise le passage du virus dans le lait. En effet, lors de la rupture des vésicules développées sur les trayons, la lymphe aphteuse se mélange à la tétée du jeune ou au produit de la traite. Le virus y garde son pouvoir infectieux d'autant que le lait des animaux infectés a un pH plus élevé (7-7,5) que celui provenant des vaches saines (6,6). Le virus disparaît tout de même en 5 à 7 jours. Le virus est également présent dans les eaux fœtales, l'avorton, le placenta et les sécrétions génitales lors d'avortement aphteux (Toma, Dufour, et Rivière 2018).

L'excrétion et la diffusion du virus dans l'organisme se produisent dès la phase d'incubation (dès 48 heures après la contamination). Ainsi, l'excrétion croît donc régulièrement pendant 2 à 3 jours pour atteindre un sommet avant de diminuer (une dizaine de jours après la contamination) (Murphy et al. 1999). Cette régression s'effectue avec la baisse de la concentration virale dans les tissus et liquides biologiques ainsi qu'avec la cicatrisation des vésicules et se poursuit parallèlement à l'installation de la réponse immune (Röhler 1969).

1.6. Épidémiologie de la fièvre aphteuse

1.6.1. Espèces sensibles

Les espèces domestiques et sauvages les plus sensibles appartiennent à l'ordre des Artiodactyles. Parmi les espèces domestiques, les bovins dont les buffles d'eau (*Bubalus bubalis*), les porcins, les ovins et les caprins sont les principales espèces sensibles à la fièvre aphteuse. Au sein des camélidés, le chameau de Bactriane (*Camelus bactrianus*) (chameau à deux bosses) est sensible à la fièvre aphteuse et développe des lésions graves, tandis que le dromadaire (*Camelus dromedarius*) (chameau à une bosse) est résistant à l'infection (Thomson 1995).

De même, de nombreux animaux sauvages, tels que le buffle d'Afrique (*Syncerus caffer*), le chamois (*Rupicapra rupicapra*), la girafe (*Giraffa camelopardalis*), le gnou (*Connochaetes taurinus*), le phacochère (*Phacochoerus aethiopicus*), les koudous (*Tragelaphus strepsicornis*), l'Impala (*Aepyceros melampus*) et plusieurs espèces des cerfs, d'antilopes et des gazelles peuvent être infectées par le virus de la fièvre aphteuse. En dehors des artiodactyles, plusieurs cas cliniques ont été signalés chez des éléphants d'Asie en captivité (*Elephas maximus*), mais il y a peu de descriptions de virus de la fièvre aphteuse chez les éléphants d'Afrique (*Loxodonta africana*), et cette dernière espèce n'est pas considérée comme sensible dans des conditions naturelles en Afrique australe (Ayebazibwe et al. 2010;

Bronsvoort et al. 2008; Bruckner et al. 2002; Thomson 1995; Thomson et al. 2013; Vosloo et al. 2002; Ward, Laffan, et Highfield 2007; Weaver et al. 2013).

La fièvre aphteuse n'est pas une zoonose et seuls quelques rares cas d'infection potentielle de l'homme par le virus aphteux ont été décrits (Bauer 1997; Berríos 2007; Capella 2001; Simmons et Feldman 2001). Lorsque l'infection de l'homme par le virus de la fièvre aphteuse se produit, les résultats n'ont que des conséquences légères et transitoires (Bauer 1997). Par conséquent, l'infection humaine ne joue pas de rôle significatif dans l'épidémiologie naturelle de la fièvre aphteuse. Cependant, les personnes jouent souvent un rôle important dans le transfert passif du virus des animaux infectés ou des surfaces contaminées aux animaux sensibles (Sellers, Donaldson, et Herniman 1970). Il est par conséquent important d'en tenir compte dans les programmes de contrôle et les mesures de biosécurité (Alexandersen et Mowat 2005).

Sur le plan expérimental, d'autres espèces peuvent être infectées, notamment les souris, les rats, les cobayes, les lapins, les poulets et les œufs embryonnaires de poulets, mais cela nécessite souvent une transmission artificielle du virus, et l'infection de ces espèces n'a pas été impliquée dans la propagation significative de la fièvre aphteuse (Mahy 2004). Par ailleurs, il a été démontré que l'ours aussi peut être infecté de manière artificielle (Officer et al. 2014).

1.6.2. Mode de transmission

La FA est très contagieuse et plusieurs voies d'infection et d'excrétion du virus de la maladie ont été décrites. Le mode le plus courante de transmission du virus de la fièvre aphteuse est le contact direct entre un animal infecté et un animal sensible (Kitching, Hutber, et Thrusfield 2005). En effet, les animaux malades représentent naturellement la source d'infection la plus redoutée. Tous ne sont pas égaux face à la multiplication virale. Par exemple les porcs excrètent 1000 fois plus de virus que les bovins. Ainsi, les porcs constituent de véritables « usines à virus ». De plus les porcins sont concentrés en grand nombre dans des porcheries jouant alors le rôle de « soufflet à virus ». Les bovins sont d'ailleurs l'espèce la plus sensible, vraisemblablement parce que leur capacité respiratoire est supérieure à celle des porcins et des ovins. Cependant, le porc est considéré comme le multiplicateur du virus de la fièvre aphteuse, le bovin le révélateur de sa présence et les petits ruminants les introducteurs/disséminateurs du virus dans les territoires indemnes.

Le mouvement des animaux infectés est considéré comme le facteur le plus important dans la propagation du virus de la FA (Bronsvort et al. 2004; Di Nardo, Knowles, et Paton 2011), en particulier chez les animaux présentant des signes discrets ou aucun signe clinique de maladie (Barnett et al. 1989; Charleston et al. 2011; Mansley et al. 2003).

Le virus de la fièvre aphteuse peut également être transmis indirectement par une variété d'objets inanimés, y compris le personnel de l'alimentation animale, le matériel agricole, les aires de détention du bétail, les véhicules de transport qui ont été contaminés par des excréments animaux et des sécrétions contaminées telles que la salive, le lait, les fèces et l'urine (Brooksby 1982; Grubman et Baxt 2004; Woodbury 1995).

Il a été prouvé que le lait cru infectieux peut jouer un rôle important dans la propagation de la fièvre aphteuse. En effet, les vaches, les chèvres et les brebis excrètent le virus dans leur lait pendant plusieurs jours avant que les signes cliniques de la maladie ne deviennent apparents (Kitching et al. 2007).

Les virus libérés peuvent également survivre dans le sang sec et l'épithélium défragménté dans l'environnement pendant des périodes de temps variables selon les conditions météorologiques (Kitching et al. 2007). La congélation immédiate des carcasses améliore la conservation du virus infectieux vivant et les foyers transfrontières ont été attribués à cette manière de procéder, par le biais du commerce de la viande. Le personnel manipulant des animaux infectés peut être contaminé sur les mains, les vêtements ou dans les voies nasales par le virus vivant de la fièvre aphteuse et transmettre mécaniquement le virus aux animaux sensibles par contact direct. Une personne en contact avec des animaux infectés peut servir de source d'infection pendant 24 heures après l'infection (Kitching et al. 2007). Il a été démontré qu'à l'instar de l'homme, les animaux de compagnie comme les chiens, les chats et les oiseaux peuvent transmettre la maladie mécaniquement (Radostits et al. 2006; Woodbury 1995).

Par ailleurs, un autre mode de transmission du virus de la fièvre aphteuse est l'aérosol respiratoire. En effet, le virus peut se répliquer principalement dans les voies respiratoires des animaux et qu'une grande quantité de particules virales sont excrétées de cette zone, bien que le virus puisse se produire dans toutes les sécrétions et excréments des animaux infectés pendant la phase aiguë de l'infection (Geering, Penrith, et Nyakahuma 2013; Kitching et al. 2007; Woodbury 1995). En effet, la transmission du virus de la fièvre aphteuse par diffusion en aérosol peut se produire sur des distances considérables, en particulier dans les régions

tempérées (Garner et Cannon 1995). Cependant, la transmission par aérosol est moins efficace dans des conditions environnementales chaudes et sèches, en particulier en Afrique Subsaharienne (Alexandersen, Zhang, et Donaldson 2002; Hutber et Kitching 2000).

De plus, la transmission par voie sexuelle pourrait être une voie de propagation importante pour les sérotypes SAT du virus de la FA dans les populations de buffles d'Afrique (Bastos et al. 2000).

1.6.3. Rôle des animaux porteurs

Si les malades constituent une source particulièrement abondante de virus facilement identifiable, il n'en est pas de même des porteurs dont la responsabilité dans l'entretien et la diffusion de la maladie est d'autant plus sournoise qu'ils échappent à la surveillance clinique.

En effet, les animaux porteurs du virus de la fièvre aphteuse sont d'une part les porteurs précoces (futurs malades), éliminant le virus dans les 48 heures de la fin de l'incubation, qui seront identifiés à posteriori, mais auront déjà participé à la contagion (Holveck 2002). D'autre part se sont les porteurs chroniques (anciens malades), chez qui du virus infectieux peut être isolé dans des échantillons de liquide oropharyngé plus de 28 jours après l'infection (Moonen et Schrijver 2000; Salt, Samuel, et Kitching 1996; Sutmoller, McVicar, et Cottral 1968; Sutmoller et McVicar 1972; Sutmoller et Olascoaga 2002). En effet, l'infection persistante peut survenir soit après une infection clinique ou subclinique de fièvre aphteuse, chez 15 à 50% des ruminants et indépendamment de leur statut immunitaire (vaccinés ou non) (Doel 1996; Moonen et Schrijver 2000). La durée de la persistance virale varie selon les espèces. Chez les bovins, la durée de portage est de 6 mois et plus, avec certains animaux pouvant rester porteurs asymptomatiques pendant 3,5 ans (Alexandersen, Zhang, et Donaldson 2002). Le virus infectieux ou son génome peut être détecté jusqu'à 12 mois chez les ovins (bien que la plupart semblent n'être porteurs que pendant 1 à 5 mois), jusqu'à 4 mois chez les caprins, pendant 1 an chez le buffle d'Asie (Salt 1993). Cependant, le buffle d'Afrique peut être porteur du virus de la fièvre aphteuse du sérotype SAT pendant au moins 5 ans (Condy et al. 1985; Vosloo et al. 1996).

La méconnaissance de ces porteurs chroniques après un épisode clinique pourrait participer à l'entretien et à la propagation de la maladie, d'autant que certains bovins atteints d'infection persistante n'ont pas d'anticorps monoclonaux décelables, ce qui complique leur identification. L'importance épidémiologique des animaux d'élevage porteurs chroniques du virus de la

fièvre aphteuse est incertaine et controversée (Bronsvort et al. 2006). Les animaux infectés de manière persistante par le virus ne sont pas nécessairement capables de transmettre la maladie mais la transmission est possible. Cependant dans une étude réalisée au Vietnam, dix bovins infectés de façon persistante ont été mis en contact avec des bovins naïfs pendant 6 mois pour évaluer la possibilité de transmission du virus. Des suivis mensuels par des méthodes cliniques et de laboratoires ont été effectués. Les résultats de cette étude ont montré qu'il n'y avait aucune preuve de transmission du FMDV à des animaux naïfs tout au long de la période de l'étude. De plus, il n'y a pas eu de détection d'infection ou de séroconversion du FMDV chez trois veaux nés d'animaux porteurs au cours de cette étude (Bertram et al. 2018).

En effet, les seules infections expérimentales réussies par le virus de la fièvre aphteuse étaient celles qui impliquaient des buffles africains porteurs du virus SAT, qui transmettaient le virus à d'autres buffles et sporadiquement au bétail (Bastos et al. 2000; Vosloo et al. 2002). Cependant même si le risque de transmission viral des porteurs asymptomatiques vers les espèces sensibles est estimé très faible voire rare, cette persistance virale reste un obstacle pour le contrôle de la fièvre aphteuse.

1.6.4. Rôle de la faune sauvage dans la transmission de la fièvre aphteuse

Le virus de la fièvre aphteuse peut infecter plusieurs espèces animales artiodactyles sauvages telles que le buffle d'Afrique, le gnou et le phacochère. Ces animaux sauvages jouent un rôle important dans l'épidémiologie de la maladie en Afrique (Di Nardo et al. 2015; Teklehiorghis et al. 2016). En effet, la dynamique de transmission de la fièvre aphteuse en Afrique Subsaharienne est principalement déterminée par deux cycles épidémiologiques : l'un dans lequel le virus circule entre les animaux sauvages hôtes et les animaux domestiques ; et l'autre dans lequel le virus se propage parmi les animaux domestiques, sans la participation de la faune sauvage (Ayebazibwe et al. 2010; Bastos et al. 2000; Bengis et al. 1986; Thomson 1996; Thomson, Vosloo, et Bastos 2003; Vosloo et al. 2002).

Une caractéristique spécifique de l'épidémiologie de la fièvre aphteuse en Afrique est la présence des trois sérotypes du virus de la fièvre aphteuse des territoires sud-africains (SAT 1, 2 et 3), qui sont maintenus au sein de la population des buffles d'Afrique (*Syncerus caffer*). En Afrique australe, l'implication de ces buffles africains dans l'épidémiologie de la fièvre aphteuse a fait l'objet d'études approfondies (Brito et al. 2016; Jori et al. 2016). Par conséquent, dans cette sous-région, il a été démontré que les contacts entre buffles africains et

bovins sont principalement responsables de la plupart des foyers de fièvre aphteuse chez les bovins (Brito et al. 2016; Hargreaves et al. 2004; Jori et al. 2016, 2009; Phologane et al. 2008).

Inversement, dans d'autres parties de l'Afrique, en particulier en Afrique centrale et occidentale, le rôle que jouent les populations de faune sauvage dans la dynamique de transmission de la fièvre aphteuse n'est pas bien étudié. Cependant, quelques études ont été menées récemment dans ces zones et elles ont fait état de l'implication d'animaux sauvages comme les buffles africains dans la transmission du virus de la fièvre aphteuse aux animaux domestiques (Dhikusooka et al. 2016; Antonello Di Nardo et al. 2015; Wekesa et al. 2015). En effet, il a été démontré que de multiples sérotypes du virus de la fièvre aphteuse (O, SAT1 et SAT2) circulent chez les ruminants sauvages en particulier chez les buffles d'Afrique peuplant les parcours d'Afrique centrale et de l'Ouest (Di Nardo et al. 2015). En outre, des espèces animales sauvages autres que les buffles africains dont leur rôle a également été démontré dans l'épidémiologie de la fièvre aphteuse (Anderson et al. 1993). C'est le cas de l'Impala (*Aepyceros melampus*) qui est fréquemment infecté et sert d'intermédiaire dans la transmission entre le bétail et les buffles africains. Des nombreuses études ont confirmé son rôle potentiel dans la propagation du virus de la fièvre aphteuse (Brahmbhatt et al. 2012; Hargreaves et al. 2004; Jori et al. 2009; Vosloo et al. 2009). En dehors de l'Afrique, le rôle de la faune sauvage dans la transmission du virus de la fièvre aphteuse a été étudié, mais en termes de prédiction ou de simulation par modélisation (Highfield, Ward, et Laffan 2008; Highfield et al. 2009; Ward, Laffan, et Highfield 2007). Cependant, en 2011 en Europe, des sangliers infectés en provenance de la Turquie, étaient à l'origine d'une épizootie de la fièvre aphteuse en Bulgarie après avoir été en contact avec le bétail bulgare. En effet, il a été diagnostiqué pour la première fois la fièvre aphteuse sur un sanglier abattu par des chasseurs dans la région de Bourgas, au sud-est de la Bulgarie, près de la frontière avec la Turquie (Languille et al. 2011).

1.7. Diagnostic

1.7.1. Diagnostic clinique

La suspicion de fièvre aphteuse repose sur l'identification de tous les signes cliniques décrits précédemment tels que l'hyperthermie, l'hypersalivation, la boiterie, l'apparition d'aphtes et la mortalité brutale chez les jeunes animaux, mais la confirmation par le laboratoire est

essentielle. Le diagnostic clinique est difficile en raison de l'absence de signes pathognomoniques de la maladie (Chisembele 2005; Morgan et al. 2014). En effet, il faut soupçonner la fièvre aphteuse lorsque la salivation et la boiterie surviennent simultanément chez les animaux sensibles et lorsqu'une lésion vésiculeuse est observée ou soupçonnée. Habituellement, les vésicules apparaissent dans la cavité buccale, sur les pieds et sur les glandes mammaires (Barnett et Cox 1999). Les vésicules peuvent également se produire à d'autres endroits comme les narines et les points de pression sur les membres, surtout chez les porcs. La fièvre précède souvent d'autres signes cliniques. Par conséquent, les animaux fébriles doivent être examinés avec soin. En plus de ces signes cliniques, la maladie présente une morbidité élevée qui peut atteindre 100% et dans les fermes laitières, la production laitière peut être considérablement réduite (Barasa et al. 2008). Dans certains cas extrêmes, la mort peut survenir. La mortalité par myocardite multifocale est le plus souvent observée chez 5% des jeunes animaux (Alexandersen et Mowat 2005; Arzt et al. 2011). Néanmoins, les signes cliniques ne suffisent pas à eux seuls à établir un bon diagnostic, car d'autres maladies vésiculaires, notamment la maladie vésiculeuse du porc et la stomatite vésiculeuse contagieuse, peuvent produire des signes similaires. Un diagnostic définitif et précis ne peut être établi qu'après de tests de laboratoire.

1.7.2. Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic de laboratoire de la fièvre aphteuse repose sur la mise en évidence (i) du virus infectieux, de ses protéines ou de son génome dans les tissus épithéliaux ou les liquides biologiques (diagnostic virologique et moléculaire), ou (ii) d'anticorps dirigés contre les protéines structurales et non structurales de la capsid (diagnostic sérologique). En raison de la nature hautement contagieuse du virus aphteux et de l'importance économique de la fièvre aphteuse, le diagnostic de laboratoire doit être effectué dans un laboratoire agréé qui répond spécifiquement aux exigences relatives aux agents pathogènes du groupe de confinement 3 (niveau de biosécurité 3). Il est très important que les prélèvements provenant des cas suspects soient appropriés et transportés dans les conditions de conservation adéquate ainsi que dans des conditions de sécurité conformes aux réglementations internationales (OIE 2008).

1.7.2.1 Prélèvement d'échantillons

L'échantillon idéal pour la détection du virus de la fièvre aphteuse est le liquide vésiculaire (aspiration de 2 ml à la seringue) si les vésicules ne sont pas rompues, ou bien le tissu épithélial des vésicules récemment rompues. Dans ce cas, 1 à 2 g de tissu épithélial doivent

être prélevés. L'épithélium doit être recueilli et placé dans un milieu de transport (2g de tissu déposé dans 5ml du milieu de transport du virus : glycérine tamponnée au phosphate, pH=7,2-7,6) et de préférence en présence d'antibiotiques (Holveck 2002; OIE 2008). Les échantillons doivent ensuite être envoyés sous régime du froid dans les meilleurs délais. Lorsque le tissu épithélial n'est pas disponible chez les ruminants, par exemple en phase d'incubation ou en phase de convalescence, des échantillons de liquide œsophago-pharyngien sont prélevés à l'aide d'un dispositif de type « Probang » et utilisés pour l'isolement du virus. Ces échantillons doivent être réfrigérés ou congelés immédiatement après prélèvement (OIE 2008, 2017). De plus, d'autres échantillons tels que le lait, le sang avec anticoagulant (tubes EDTA), les raclures de lésions podales, le sérum et certains échantillons post-mortem tels que les ganglions lymphatiques, la glande thyroïde, les glandes surrénales, les reins et le cœur sont également utiles pour confirmer la maladie. Les pays qui n'ont pas de laboratoire national ou régional spécialisé dans le diagnostic de la fièvre aphteuse doivent envoyer les échantillons à un laboratoire de référence de l'OIE pour la fièvre aphteuse. Dans ce cas, les échantillons doivent être soigneusement emballés, étiquetés et transmis au laboratoire par le moyen le plus rapide possible, avec un contrôle approprié de la température et dans le respect des conditions de biosécurité requises (OIE 2008).

1.7.2.2. Diagnostic sérologique

Les tests sérologiques de détection de la fièvre aphteuse sont de deux types : ceux qui détectent les anticorps dirigés contre les protéines structurales et ceux qui détectent les anticorps dirigés contre les protéines non structurales (NSP). Les anticorps dirigés contre les protéines non structurales peuvent être considérés comme des indicateurs de l'infection indépendants du statut vaccinal de l'animal (OIE 2008).

Un test ELISA (NSP-ELISA) qui détecte les anticorps dirigés contre les protéines non structurales du virus de la fièvre aphteuse peut être utilisé pour distinguer les animaux infectés et non infectés, quel que soit leur statut vaccinal, et ainsi aider les pays à prouver l'absence d'infection. Cependant, il existe des preuves expérimentales selon lesquelles certains bovins, vaccinés, puis contaminés par un virus vivant et confirmés comme étant infectés de façon persistante, peuvent ne pas être détectés dans certains tests anti-NSP, ce qui entraîne des résultats faussement négatifs (Brocchi et al. 2006). D'autre part, le manque de pureté vaccinale peut affecter la spécificité diagnostique, car la présence de protéines non structurales contaminantes dans certaines préparations vaccinales peut entraîner des erreurs de

classification chez les animaux qui ont été vaccinés à plusieurs reprises, les anticorps contre les protéines non structurales étant un signe d'accomplissement du cycle infectieux. Ainsi, des tentatives d'amélioration de ce test NSP-ELISA ont été menées et ont conduit au développement de différentes méthodes et techniques telles que les méthodes de détection des anticorps contre les polyprotéines 3AB ou 3ABC. La détection des anticorps dirigés contre les protéines non structurales 3ABC du virus de la fièvre aphteuse s'est révélée être une méthode sensible et spécifique pour différencier l'infection de la vaccination (Clavijo, Wright, et Kitching 2004). En effet, ces tests mesurent les anticorps dirigés contre les protéines structurales en utilisant des antigènes produits par des techniques recombinantes dans une variété de systèmes d'expression *in vitro*. Les anticorps dirigés contre les polyprotéines 3AB ou 3ABC sont généralement considérés comme les indicateurs les plus fiables de l'infection par la fièvre aphteuse (Bertram et al. 2018; Couacy-Hymann et al. 2006; Habiela et al. 2010; Kouato et al. 2018).

Les tests pour la détection des protéines structurales sont spécifiques du sérotype et détectent les anticorps produits par des animaux vaccinés ou infectés. Ils comprennent entre autres le test de neutralisation virale (VNT) (Golding, Hedger, et Talbot 1976), le test ELISA de compétition en phase solide (SPCE) (Chénard et al. 2003; Goris et De Clercq 2005; Mackay et al. 2001; Paiba et al. 2004), et le test ELISA de blocage en phase liquide (LPBE) (Hamblin, Barnett, et Hedger 1986). Ces tests sont plus fréquemment utilisés et sont très sensibles. Ainsi, le test VNT nécessite des installations de culture cellulaire, l'utilisation de virus vivants et prend 2 à 3 jours pour fournir des résultats. Les tests ELISA sont des tests de blocage ou de compétition qui utilisent des anticorps polyclonaux spécifiques de sérotypes. Ils sont plus rapides à réaliser et ne dépendent pas des systèmes de culture tissulaire et de l'utilisation de virus vivants. Il peut y avoir des réactions faussement positives à faible titre dans une petite proportion des sérums dans l'un ou l'autre ELISA (OIE 2008, 2017). Le test SPCE est plus spécifique mais aussi sensible que le test LPBE (Mackay et al. 2001). Une approche combinant le dépistage par ELISA et la confirmation des résultats positifs par le test de neutralisation virale minimise l'apparition de résultats faussement positifs. Des sérums de référence pour standardiser les tests sérologiques de la fièvre aphteuse pour certains sérotypes et sous-types sont disponibles au laboratoire de référence de Pirbright en Angleterre (Souley Kouato 2017).

1.7.2.3. Diagnostic virologique et moléculaire

Pour le diagnostic virologique, plusieurs types d'échantillons peuvent être utilisés pour la recherche virale notamment des fragments épithéliaux (lambeaux de parois d'aphtes), du liquide vésiculaire, du sang total et de surnageant de cultures cellulaires infectées.

Avant tout, il faut préparer certains échantillons pour la recherche virale. En effet, certains échantillons sont utilisables sans préparation, mais d'autres non, c'est les cas en particulier des lambeaux d'épithélium qui demandent d'être broyés et clarifiés et du surnageant de cultures cellulaires infectées qu'il est nécessaire de le débarrasser des débris cellulaires. La préparation des échantillons constitue une étape initiale à la réalisation des différents tests de détection du virus de la fièvre aphteuse (détection du virus, d'un antigène viral ou du génome viral) (Relmy et al. 2017).

Ensuite, l'isolement du virus est immédiatement mis en œuvre sur cellules primaires de thyroïde de veau et/ou cellules de lignée démontrées comme sensibles au virus de la FA, en priorité. En parallèle, la détection d'antigènes est réalisée par la méthode ELISA de capture et la détection du génome viral par RT-PCR en temps réel ou conventionnelle.

La figure 5 résume la procédure mise en œuvre du diagnostic virologique et moléculaire.

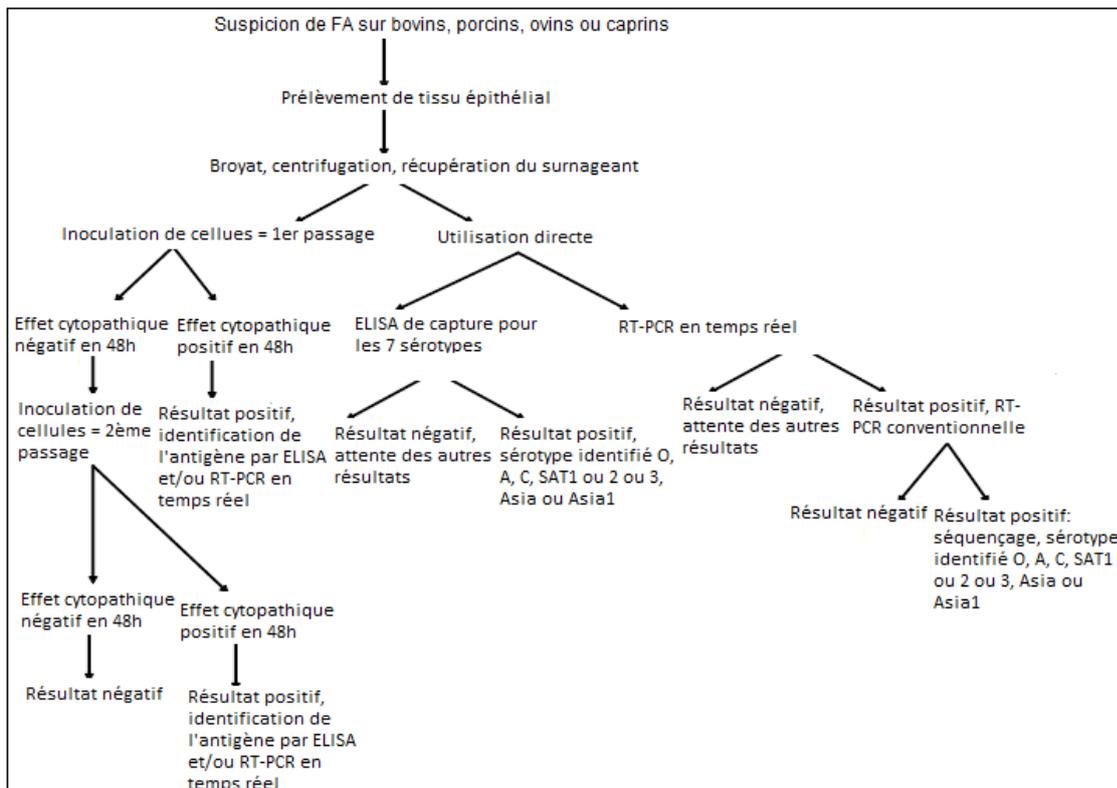


Figure 5 : Méthodes de diagnostic virologique et moléculaire

Source : (Afssa 2009)

a) Isolement viral

L'isolement du virus est effectué à partir de prélèvements par inoculation sur des cultures cellulaires. Les systèmes de culture cellulaire sensibles comprennent les cellules thyroïdiennes primaires de bovins (BTY) et les cellules fœtales ZZ-R 127 de la langue de chèvre. En effet, les cellules primaires de la thyroïde bovine (BTY) sont généralement le système de culture cellulaire le plus sensible pour la détection du virus de la fièvre aphteuse, mais elles sont difficiles à produire, en particulier pour les laboratoires qui effectuent rarement des tests de diagnostic de la fièvre aphteuse et pour ceux des pays où cette maladie est endémique qui ont des problèmes pour se procurer des glandes thyroïdes de veaux négatifs à cette maladie. La lignée cellulaire ZZ-R 127 s'est révélée être un outil sensible, rapide et pratique pour l'isolement du virus de la fièvre aphteuse et une alternative utile aux cellules BTY pour le diagnostic de cette maladie (Brehm et al. 2009).

Par ailleurs, les lignées cellulaires épithéliales établies, telles que les cellules BHK-21 (rein de hamster nouveau-né) et les cellules IBRS-2 (cellules rénales primaires de porc), peuvent également être utilisées, mais sont généralement moins sensibles que les cellules primaires pour détecter les faibles niveaux d'infectiosité. En outre, les cellules IBRS-2 peuvent être utilisées pour pouvoir différencier le virus aphteux du virus de la maladie vésiculeuse du porc (en cas de suspicion chez le porc) et de réaliser l'isolement des souches de virus aphteux qui seraient les plus adaptées aux porcins (OIE 2017). L'isolement du virus est une méthode très sensible, mais laborieuse et coûteuse et il y a un risque de dissémination du virus dans l'environnement. Il convient de noter que l'isolement du virus peut ne pas être utile pour identifier les sérotypes du virus de la fièvre aphteuse en cause dans un pays infecté (Kitching et al. 1989).

La sensibilité des cellules primaires de thyroïde de veau au virus est équivalente à celle de l'inoculation intradermique à l'animal sensible (House et House 1989). Après 48 heures, si aucun effet cytopathique (ECP) n'est observé, un second passage sera réalisé avant que le prélèvement puisse être déclaré négatif, portant le délai de réponse à 96 heures. Si un effet cytopathique est observé, l'identification du virus est alors effectuée à l'aide de la technique ELISA de capture et/ou des techniques de RT-PCR conventionnelle et RT-PCR en temps réel (OIE 2017).

b) Détection de l'antigène par ELISA de capture.

La méthode privilégiée pour la détection de l'antigène viral de la fièvre aphteuse et l'identification du sérotype viral est la méthode ELISA de capture d'antigènes (ELISA sandwich). C'est une méthode qui est réalisée vis-à-vis des sept sérotypes de virus de la fièvre aphteuse, ainsi que du virus de la maladie vésiculeuse du porc et des deux sérotypes du virus de la stomatite vésiculeuse, pour permettre un diagnostic différentiel. Ce test ELISA de capture est pratiqué soit sur le prélèvement d'aphtes, soit sur le surnageant des cultures cellulaires inoculées ayant donné un ECP (Ferris et Donaldson 1992; OIE 2017).

En effet, il s'agit d'un test indirect en sandwich dans lequel différentes rangées de plaques 96 puits sont recouvertes d'antisérums de lapin dirigés contre chacun des sept sérotypes du virus de la fièvre aphteuse. Lorsque l'échantillon d'essai est ajouté, l'antigène (s'il est présent) est piégé par les anticorps immobilisés. Des anticorps spécifiques de détection du virus de la fièvre aphteuse (issus de cobayes) sont ensuite ajoutés, qui à leur tour réagissent avec l'antigène piégé. Les anticorps de cobaye liés sont alors détectés en ajoutant des Ig anti-cochon d'Inde conjuguées à la peroxydase. Ensuite, avec l'ajout d'une solution substrat/chromogène, un produit coloré se développe, indiquant une réaction positive (OIE 2017). Les résultats sont obtenus par spectrophotométrie à une longueur d'onde appropriée (490 nm). Une valeur d'absorbance supérieure à 0,1 au-dessus du bruit de fond indique une réaction positive et permet l'identification du sérotype (Ferris et Donaldson 1992).

Les réactifs nécessaires sont fournis par le laboratoire de référence mondial OIE/FAO de Pirbright (Grande-Bretagne). Ce test permet le diagnostic et le typage du virus, à l'aide de sept antisérums spécifiques en six heures au minimum (Afssa 2009).

c) Détection du génome viral

L'acide nucléique du virus de la fièvre aphteuse (ARN simple brin) peut être détecté à l'aide de tests de réaction en chaîne de la transcription inverse de la polymérase (RT-PCR). La RT-PCR peut être utilisée pour amplifier les fragments de génome du virus de la fièvre aphteuse dans les échantillons de liquide vésiculaire, de tissu épithélial, de lait, et de liquide oesophago-pharyngé et même du sang. Il existe deux méthodes pour la détection de l'ARN génomique, il s'agit de la RT-PCR conventionnelle et la RT-PCR en temps réel (OIE 2008).

La RT-PCR conventionnelle est réalisée pour la détection Pan FA en utilisant des amorces codant respectivement pour la polymérase 3D (Laor et al. 1992), pour la partie non traduite du génome (IRES) (Reid et al. 2000). Elle est aussi réalisée pour faire le typage et le séquençage du virus en ciblant la région codant pour la protéine structurale VP1 (Amaral-Doel et al. 1993; Beck et Strohmaier 1987).

La RT-PCR en temps réel peut également être réalisée d'une part pour la détection Pan FA qui cible les deux régions génétiquement stables qui permettent la détection des sept types viraux : la séquence codant pour la polymérase 3D (Rasmussen et al. 2003) et la séquence codant pour la partie non traduite du génome (IRES) (Reid et al. 2002). D'autres part, elle est réalisée aussi pour faire le sérotypage du virus en ciblant la région codant pour la VP1.

Des progrès significatifs ont été réalisés pour améliorer les performances de ce test moléculaire. En effet, des amorces spécifiques ont été conçues pour distinguer les sept sérotypes (Vangrysperre et De Clercq 1996). L'application des techniques de biologie moléculaire, telles que l'amplification par PCR et le séquençage des nucléotides, a grandement contribué à une meilleure compréhension de l'épidémiologie de la fièvre aphteuse. Ces techniques ont permis de comparer et d'établir la phylogénie des souches du virus de la fièvre aphteuse. Dans les études épidémiologiques du virus de la fièvre aphteuse, le séquençage nucléotidique de la région codant la VP1 a été largement utilisé pour déterminer les relations entre les isolats de terrain. Dans les pays d'Afrique Subsaharienne, peu de laboratoires nationaux utilisent le diagnostic moléculaire en routine (Namatovu et al. 2015).

1.8. Épidémiologie moléculaire

L'épidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse repose sur la comparaison des différences génétiques entre les virus. Ainsi, des arbres phylogénétiques montrant la relation génomique entre le vaccin et les souches de terrain pour les sept sérotypes basés sur des séquences dérivées de la région génomique 1D (codant pour la protéine virale VP1) ont été publiés (Knowles et Samuel 2003). La comparaison de séquences entières du génome peut fournir une plus grande discrimination entre les virus étroitement apparentés et aider à recréer les voies de transmission entre les fermes à l'intérieur des foyers (Cottam et al. 2008).

Le degré de variabilité de l'espèce virale et de la région génomique analysée est donc un paramètre important de l'analyse phylogénétique. L'utilisation combinée de l'épidémiologie moléculaire et descriptive est fortement requise pour établir l'évolution temporelle et

géographique du virus de la fièvre aphteuse (Thiry, Baranowski, et Domingo 2001). Au cours des 30 dernières années, la compréhension de l'épidémiologie de la fièvre aphteuse a progressé. Cela a été possible grâce à l'application des techniques de biologie moléculaire de l'amplification de l'ARN du virus par RT-PCR, suivie du séquençage nucléotidique et de l'analyse phylogénétique (Jamal et Belsham 2018; OIE 2017)).

Dans la pratique, les isolats du virus de la fièvre aphteuse sont caractérisés par la séquence nucléotidique de la région génomique codant pour la protéine VP1. Ces isolats sont donc comparés en fonction du pourcentage de différences nucléotidiques dans cette partie restreinte du génome. L'analyse phylogénétique de la région VP1 du virus de la fièvre aphteuse a été utilisée de manière extensive pour étudier l'épidémiologie moléculaire de la maladie dans le monde entier. Ces techniques ont permis de déterminer les relations génétiques entre les différents isolats du virus de la fièvre aphteuse, la répartition géographique des lignées et des génotypes, l'établissement de topotypes liés génétiquement et géographiquement et de retracer la source du virus (Bastos et al. 2003; Sahle et al. 2007; Sangare et al. 2004; Kouato et al. 2018).

Des différences de séquence nucléotidique de 30 % à 55 % du gène VP1 ont été obtenues entre les sept sérotypes de la fièvre aphteuse, tandis que différents sous-groupes (génotypes, topotypes) ont été définis sur la base de différences de 15 % à 20 % (Knowles et Samuel 2003). Cependant, même si à l'intérieur des sérotypes du virus de la fièvre aphteuse, les topotypes restent constants dans le temps, il a été démontré que des virus appartenant à plusieurs topotypes peuvent être présents dans une région particulière (Sahle et al. 2007). Par conséquent, le concept de topotype doit être considéré avec prudence (Thiry, Baranowski, et Domingo 2001). Bien que la notion de topotype soit liée à une grande relation génétique entre isolats, il n'exclut pas que des virus d'un même topotype puissent circuler dans plusieurs régions différentes (Bachanek-Bankowska et al. 2016; Knowles et al. 2016, 2005; Valarcher et al. 2009).

1.9. Lutte contre la fièvre aphteuse

Les moyens de lutte contre la fièvre aphteuse en Afrique doivent être basés sur des cycles épidémiologiques spécifiques de la maladie. En effet, la fièvre aphteuse en Afrique Subsaharienne a deux situations distinctes mais qui se chevauchent. La première est la transmission de bétail à bétail, impliquant tous les types de virus de la fièvre aphteuse

prévalant en Afrique. La seconde est la maladie associée à la faune sauvage, en particulier les buffles africains, causée par les trois sérotypes SAT1-3 (Thomson et Bastos 1994).

En général, pour chaque maladie animale, y compris la fièvre aphteuse, le programme de contrôle et/ou d'éradication repose sur trois grands principes : i) la prévention de l'entrée de l'agent pathogène dans la zone, ii) la détection et le diagnostic précoces et iii) la mise en œuvre rapide des mesures de lutte et de gestion des foyers (Souley Kouato 2017). Cependant, le choix de la politique de lutte adoptée par un pays donné dépend de son statut au regard de la fièvre aphteuse, des risques d'incursion de la maladie et de son économie (Ahl et al. 1990).

La fièvre aphteuse étant très contagieuse, les mesures prises par un éleveur influent sur le risque de propagation de la maladie sur d'autres élevages. Une coordination à l'intérieur des pays et entre les pays est donc nécessaire pour contrôler la propagation de la fièvre aphteuse. Partant du principe que la lutte ne peut être que mondiale, l'OIE et la FAO ont lancé en 2009 un programme de contrôle progressif pour la fièvre aphteuse appelé « PCP-FMD » (Progressive Control Pathway), une offensive majeure contre la fièvre aphteuse en vue d'une lutte mondiale progressive (Sumption, Domenech, et Ferrari 2012).

Ainsi, en juin 2012, Le programme « PCP-FMD » a été adopté lors de la conférence mondiale sur la lutte contre la fièvre aphteuse à Bangkok en Thaïlande. Ce programme comprend 5 étapes de zéro à cinq (Figure 6) (Sumption, Domenech, et Ferrari 2012). Ces étapes guident la planification et la gestion des efforts visant à accroître le niveau de contrôle jusqu'au point où une demande de reconnaissance officielle de l'absence de la fièvre aphteuse est présentée à l'OIE.

Actuellement, l'OIE ne reconnaît que trois catégories de pays en ce qui concerne la fièvre aphteuse (Maree et al. 2014) :

- i) les pays non indemnes de fièvre aphteuse (stades 0-3 du PCP) ;
- ii) les pays ou zones indemnes de fièvre aphteuse pratiquant la vaccination (stade 4 du PCP) ;
- iii) les pays ou zones indemnes de fièvre aphteuse où aucune vaccination n'est effectuée (stade 5 du PCP).

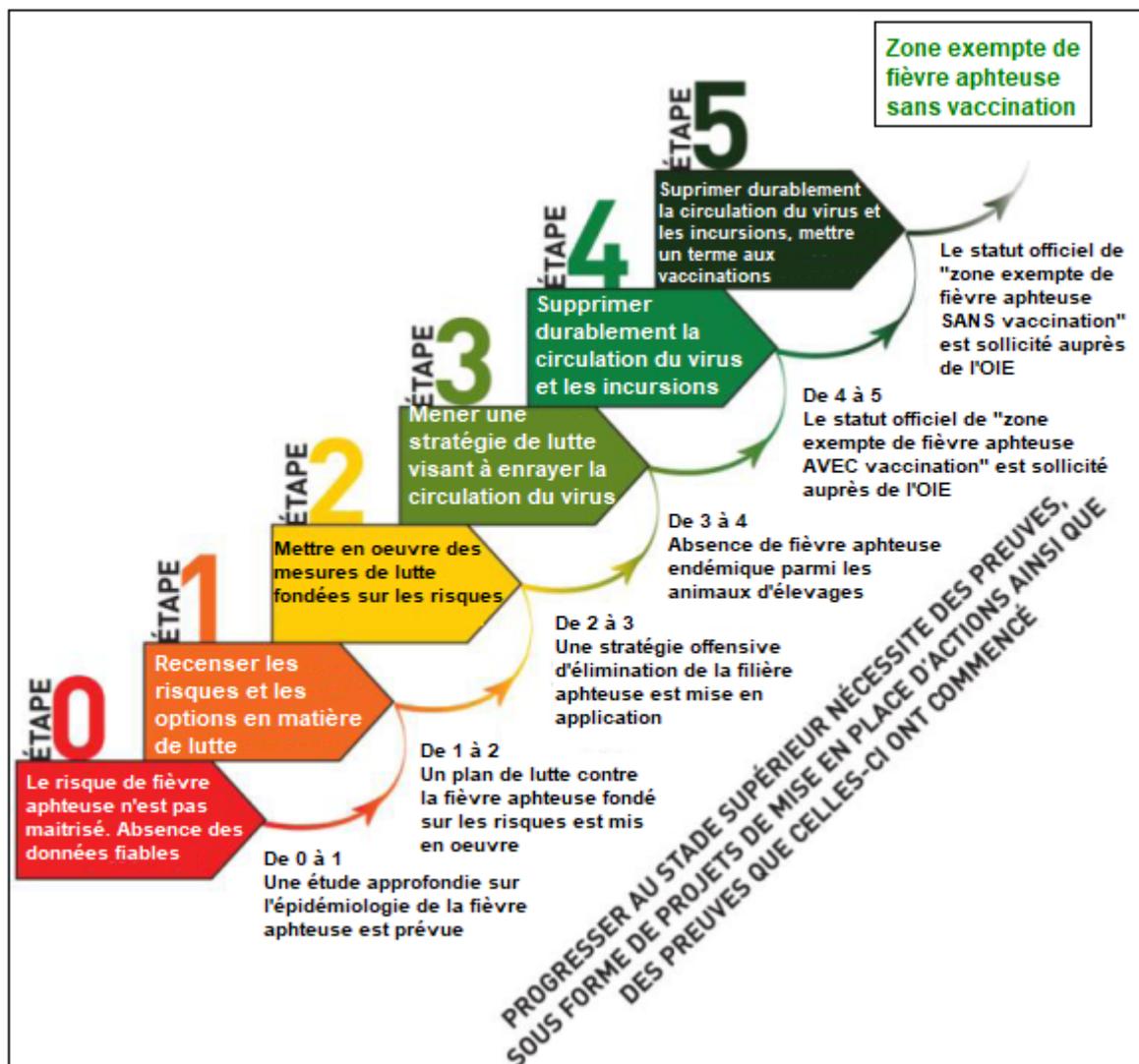


Figure 6 : Programme de contrôle progressif pour la fièvre aphteuse

Source : (Sumption, Domenech, et Ferrari 2012)

Les différentes régions de l'Afrique Subsaharienne sont à différents stades de développement de la lutte contre la fièvre aphteuse et sont donc confrontées à de multiples défis et priorités en termes de lutte contre la fièvre aphteuse. Malheureusement, le Tchad, ainsi que plusieurs pays d'Afrique centrale sont au stade zéro du PCP-FMD (Maree et al. 2014).

Cependant, dans la lutte contre la fièvre aphteuse, il y a deux approches principales qui sont fréquemment utilisées pour contrôler la maladie, il s'agit notamment de la prophylaxie sanitaire et de la vaccination.

1.9.1. Prophylaxie sanitaire

Il est en effet nécessaire de connaître les zones enzootiques pour s'en protéger en gérant le risque sanitaire lié aux échanges à travers une législation adaptée. Les importations d'animaux vivants ou de produits d'origine animale provenant de pays infectés ou susceptibles de l'être doivent être prohibées. Ensuite, en cas d'apparition de la maladie, il faut avoir un dispositif d'intervention qui doit permettre de mobiliser rapidement des moyens en matériels et en personnels capables d'assurer dans les meilleurs délais la neutralisation du premier foyer. Ainsi, l'abattage sanitaire est une stratégie reconnue et éprouvée pour l'élimination rapide d'une maladie exotique introduite ou d'une autre maladie émergente du bétail (Geering, Penrith, et Nyakahuma 2013). Cependant, pour réussir la politique d'abattage sanitaire, il y a des éléments cruciaux à prendre en compte. Ces éléments sont entre autres :

- la définition des zones infectées ;
- l'imposition de mesures de quarantaine et de restrictions aux déplacements du bétail ;
- l'abattage immédiat de tous les animaux réceptifs, soit sur les lieux infectés et de contact dangereux, soit dans l'ensemble de la zone infectée ;
- l'élimination sûre de leurs carcasses et d'autres matériaux potentiellement infectés ;
- la désinfection et nettoyage des locaux infectés ;
- le maintien des locaux dépeuplés d'animaux sensibles pendant une période appropriée.

L'abattage sanitaire peut être utilisé seul, comme au Royaume-Uni en 2001 (Leforban 2002), ou en combinaison avec la vaccination. La stratégie utilisée pour lutter contre l'épizootie de fièvre aphteuse qui s'est produite au Royaume-Uni en 2001 a suscité un débat plus large sur la politique de lutte contre la maladie par l'abattage sanitaire (Sutmoller et Olascoaga 2002; Thompson et al. 2002).

En outre, la possibilité d'une augmentation importante des coûts doit être envisagée lorsqu'un pays décide d'arrêter la vaccination et de lancer une politique d'abattage sanitaire. Cela nécessitera la création d'un fonds de prévoyance de sorte qu'en cas d'épidémie, les éleveurs touchés par la maladie seront intégralement et rapidement indemnisés, faute de quoi la politique ne sera pas maintenue. Par conséquent, dans les pays en développement, y compris la plupart des pays africains, le contrôle par abattage sanitaire s'est avéré très coûteux et, à

certaines égards, irréaliste (Thompson et al. 2002). Dans ces pays en développement, le contrôle de la fièvre aphteuse passe donc principalement par une vaccination régulière en conjonction avec le contrôle des mouvements d'animaux pour prévenir la propagation du virus.

1.9.2. Vaccination

La vaccination est l'un des principaux outils éprouvés pour mieux gérer ou éliminer la maladie lorsqu'elle est correctement appliquée et que la qualité et la composition du vaccin sont satisfaisantes. Pour la fièvre aphteuse, des vaccins (souvent trivalents) utilisant des virus inactivés sont commercialisés (actifs sur les souches O, A et SAT 2). Selon le type d'adjuvant, les vaccins peuvent être sous forme aqueuse ou sous forme huileuse. Les vaccins aqueux utilisent des préparations adsorbées sur hydroxyde d'aluminium et adjuvées par la saponine, ils sont couramment utilisés chez les bovins, les ovins, les caprins et les buffles, mais ne sont pas efficaces chez les porcs. Tandis que les vaccins à base d'huile sont utilisés chez toutes les espèces (Holveck 2002; Souley Kouato 2017).

Le programme de vaccination recommandé comprend un traitement primaire à deux doses pour obtenir 6 mois de protection, la primovaccination étant effectuée à partir de l'âge de 4 mois. Chez les jeunes, le premier rappel est recommandé 4 à 5 mois plus tard. L'immunité humorale prend une semaine pour être décelable, le maximum est atteint en 3 ou 4 semaines et peut durer 2 ou 3 ans mais en général, elle est très faible au bout d'un an. Les rappels sont annuels (Holveck 2002).

Les souches vaccinales doivent être antigéniquement similaires à celles qui sont impliquées dans l'écllosion de la maladie. Le vaccin doit contenir tous les sérotypes qui circulent sur le terrain et doit induire une immunité protectrice contre chaque composant du vaccin (Ringa et Bauch 2014). En effet, en situation enzootique, l'efficacité de la vaccination peut varier considérablement en fonction de facteurs tels que la durée de l'immunité naturelle et vaccinale (généralement 6 mois) et le taux de réintroduction de la maladie. Dans une zone enzootique, l'objectif principal de la vaccination contre la fièvre aphteuse est de réduire l'incidence globale de la maladie. La vaccination doit être mise en œuvre dans le cadre d'un programme de contrôle qui comprend d'autres mesures zoo-sanitaires (Nicholls et al. 1983).

En Afrique, les programmes de lutte contre la fièvre aphteuse en Afrique australe et notamment au Botswana, illustrent le succès d'une application stricte des mesures zoo-

sanitaires à l'appui d'un programme de vaccination. Dans ce pays, le programme de contrôle est basé sur la division du pays en zones à risque et la mise en œuvre d'une surveillance appropriée des maladies, l'identification du bétail et la restriction et le contrôle des déplacements dans les différentes zones à risque. La vaccination est effectuée dans les zones de vaccination désignées. La situation de l'Afrique australe est très différente de celle des autres régions, en particulier celle de l'Afrique centrale. Le système d'élevage pastoral dans la région soudano-sahélienne, qui se caractérise par des mouvements de bétail sur de longues distances en raison de la transhumance ou du commerce, a été pointé comme l'une des principales sources de propagation de la fièvre aphteuse (Bronsvoort et al. 2004; Rweyemamu et al. 2008; Ularamu et al. 2016; Kouato et al. 2018). En effet, il est de coutume pour les éleveurs des pays sahéliens, de déplacer des centaines de milliers de têtes de bétail dans un délai très court. Il serait impraticable d'établir des stations de quarantaine capables de contenir un grand nombre d'animaux dans la même zone (Sangare et al. 2004).

Dans la plupart des pays en développement où la fièvre aphteuse est surtout enzootique, d'autres défis se sont posés quant à l'efficacité de la vaccination dans la lutte contre la fièvre aphteuse. Les contraintes peuvent être résumées comme suit : restrictions financières et infrastructurelles, politiques inadéquates, manque de sensibilisation du public et manque d'engagement (Knight-Jones et Rushton 2013; Paton, Sumption, et Charleston 2009; Sinkala et al. 2014).