



AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS

## **"Fièvre aphteuse"**

---

- Septembre 2009 -

■ **Coordinatrices de rédaction**

**Mme Julie CHIRON**

**Mme Anne-Marie HATTENBERGER**

■ **Secrétariat administratif**

**Mme Sheila GROS-DESIRS**

## Composition du groupe de travail "Fièvre aphteuse"

---

### ■ Président

**M. Bernard TOMA**

Maladies contagieuses, virologie, épidémiologie générale  
Ecole nationale vétérinaire d'Alfort

### ■ Membres du groupe de travail

**M. Didier BOISSELEAU**

Epidémiologie opérationnelle, gestion du risque  
Direction départementale des services vétérinaires de Vendée

**M. Kris DE CLERCQ**

Virologie  
Laboratoire national de référence belge pour la fièvre aphteuse  
Coda-Cerva, Belgique

**Mme Barbara DUFOUR**

Epidémiologie générale, analyse de risque  
Ecole nationale vétérinaire d'Alfort

**M. Benoît DURAND**

Epidémiologie, biostatistiques  
Laboratoire national de référence français pour la fièvre aphteuse  
Afssa Lerpaz, Maisons-Alfort

**M. Yves LEFORBAN**

Epidémiologie opérationnelle, gestion du risque  
Commission sciences, techniques et société  
Ministère de l'agriculture et de la pêche, conseil général de l'agriculture de  
l'alimentation et des espaces ruraux (CGAER)

**M. François MOUTOU**

Epidémiologie générale, faune sauvage, analyse de risque  
Laboratoire national de référence français pour la fièvre aphteuse  
Afssa Lerpaz, Maisons-Alfort

**Mme Michèle REMOND**

Virologie  
Laboratoire national de référence français pour la fièvre aphteuse  
Afssa Lerpaz, Maisons-Alfort

**M. Claude SAEGERMAN**

Epidémiologie et maladies infectieuses animales  
Faculté vétérinaire de Liège (Belgique)

**Mme Gina ZANELLA**

Epidémiologie, biostatistiques  
Laboratoire national de référence français pour la fièvre aphteuse  
Afssa Lerpaz, Maisons-Alfort

**M. Stephan ZIENTARA**

Virologie  
Laboratoire national de référence français pour la fièvre aphteuse  
Afssa Lerpaz, Maisons-Alfort

■ **Agence française de sécurité sanitaire des aliments**

**Mme Julie CHIRON**

Coordinatrice scientifique

Unité de l'évaluation des risques liés à l'alimentation et à la santé animales (UERASA)

Afssa Direction évaluation des risques nutritionnels et sanitaires (DERNS)

**Mme Anne-Marie HATTENBERGER**

Responsable de l'Unité d'évaluation des risques liés à l'alimentation et à la santé animales (UERASA)

Afssa Direction évaluation des risques nutritionnels et sanitaires (DERNS)

**M. Philippe VANNIER**

Directeur de la santé animale et du bien-être animal

Afssa Direction générale

■ **Relecteurs**

**M. Gérard COUSTEL**

Epidémiologie opérationnelle, gestion du risque

Mission d'inspection générale vétérinaire interrégionale Limousin et Midi-Pyrénées

**M. Paul-Pierre PASTORET**

Service des publications

Organisation mondiale de la santé animale (OIE)

**Mme Sylvie POLIAK**

Virologie

Laboratoire vétérinaire départemental de la Sarthe (LVD du réseau fièvre aphteuse)

## SOMMAIRE

Liste des tableaux .....	8
Liste des figures.....	8
Liste des sigles .....	9
INTRODUCTION .....	10
<b>1 MÉTHODES DE DIAGNOSTIC ET DE DÉPISTAGE DE LA FIÈVRE APHTEUSE EN FRANCE ET STRATEGIES D'UTILISATION .....</b>	<b>11</b>
1.1 LES METHODES DE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE, MOLECULAIRE ET SEROLOGIQUE DE LA FIEVRE APHTEUSE DU LABORATOIRE NATIONAL DE REFERENCE FRANÇAIS.....	11
1.1.1 Méthodes virologiques et moléculaires .....	13
1.1.1.1 <i>Prélèvements pour la détection du virus aphteux, de son génome ou de ses protéines</i> .....	13
1.1.1.2 <i>Méthodes de diagnostic virologique et moléculaire</i> .....	14
1.1.1.3 <i>Conclusion</i> .....	17
1.1.2 Méthodes sérologiques.....	18
1.1.2.1 <i>Détection des anticorps induits par les protéines structurales</i> .....	18
1.1.2.2 <i>Détection des anticorps induits par les protéines non structurales</i> .....	20
1.1.2.3 <i>Conclusion et perspectives</i> .....	23
1.2 MÉTHODES UTILISÉES DANS LES LABORATOIRES VÉTÉRINAIRES DÉPARTEMENTAUX .....	23
1.3 CHOIX DES METHODES ACTUELLEMENT UTILISEES POUR LE DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE .....	24
1.3.1 Suspicion initiale de fièvre aphteuse (cas index) .....	24
1.3.2 Suspensions ultérieures.....	26
1.4 INTERPRETATION DES RESULTATS DES TESTS DIAGNOSTIQUES DE LA FIEVRE APHTEUSE AU REGARD DE LA REGLEMENTATION EUROPEENNE .....	27
1.4.1 Présentation de la directive européenne.....	27
1.4.2 Interprétation du LNR français .....	28
1.4.3 Surveillance en exploitation faisant l'objet d'un abattage préventif .....	28
1.4.4 Surveillance sérologique dans un élevage non vacciné.....	28
1.4.4.1 <i>Au LNR</i> .....	28
1.4.4.2 <i>Dans les LVD</i> .....	28
1.4.5 Surveillance sérologique dans un élevage vacciné.....	29
1.5 PERSPECTIVES DE DECENTRALISATION DU DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE APHTEUSE EN FRANCE.....	29
1.5.1 Disponibilité des trousse de réactifs en cas d'épizootie .....	29
1.5.2 Développement et structuration du réseau des LVD.....	29
1.5.3 Décentralisation du diagnostic à la ferme .....	30
<b>2 VACCINATION D'URGENCE CONTRE LA FIÈVRE APHTEUSE EN FRANCE ET CONSÉQUENCES SUR LA RÉCUPÉRATION DU STATUT INDEMNÉ.....</b>	<b>31</b>

2.1 CADRE REGLEMENTAIRE DE LA VACCINATION D'URGENCE ET CARACTERISTIQUES DES ANTIGENES ET DES VACCINS PREPARES A PARTIR DE LA BANQUE FRANÇAISE ET DE LA BANQUE EUROPEENNE.....	31
2.1.1 Cadre réglementaire et administratif de la fourniture de vaccin pour la vaccination d'urgence contre la fièvre aphteuse en France.....	31
2.1.2 Caractéristiques et performances techniques du vaccin.....	32
2.1.3 Conditionnement et livraison.....	32
2.2 STRATÉGIE D'UTILISATION DE LA VACCINATION D'URGENCE AVEC CONSERVATION DES ANIMAUX : « VACCINATION PREVENTIVE D'URGENCE » .....	33
2.2.1 Réglementation.....	33
2.2.2 Principes .....	33
2.2.2.1 <i>Avantages de la vaccination préventive d'urgence</i> .....	33
2.2.2.2 <i>Inconvénients de la vaccination préventive d'urgence</i> .....	34
2.2.3 Stratégie générale.....	34
2.2.3.1 <i>Commande des trousse de tests diagnostiques et de la mise en fabrication du vaccin</i> .....	34
2.2.3.2 <i>Période pré-décisionnelle</i> .....	35
2.2.3.3 <i>Décision de vaccination</i> .....	35
2.2.3.4 <i>Mise en œuvre de la vaccination préventive d'urgence</i> .....	36
2.2.3.5 <i>Suivi post-vaccinal</i> .....	37
2.2.3.6 <i>Délais pour le recouvrement du statut indemne</i> .....	40
2.3 PROTOCOLE DE SUIVI VISANT LE RECOUVREMENT DU STATUT INDEMNÉ ..	41
2.3.1 Définition du contexte .....	41
2.3.2 Objectif du protocole de suivi post-vaccinal .....	42
2.3.3 Définition du protocole de suivi post-vaccinal .....	43
2.3.3.1 <i>Description de la première phase</i> .....	43
2.3.3.2 <i>Description de la seconde phase</i> .....	44
<b>3 RECOMMANDATIONS D'AMELIORATION DU DISPOSITIF DE LUTTE CONTRE LA FIEVRE APHTEUSE EN FRANCE .....</b>	<b>46</b>
3.1 PROPOSITIONS DE RECHERCHE APPLIQUEE EN MATIERE DE FIEVRE APHTEUSE .....	46
3.2 PROPOSITIONS D'AMELIORATION DU DISPOSITIF DE LUTTE .....	47
3.2.1 Définition de l'emploi de tests rapides.....	47
3.2.2 Amélioration des capacités diagnostiques des LVD .....	47
3.2.3 Prévision d'une autorisation administrative de vaccin .....	48
3.2.4 Entraînement à la situation d'urgence.....	48
3.2.4.1 <i>Evaluation du nombre de faux-positifs potentiels en cas d'utilisation de la vaccination préventive d'urgence</i> .....	48
3.2.4.2 <i>Poursuite et développement de l'entraînement d'un groupe d'experts auprès du gestionnaire</i> .....	49
3.2.4.3 <i>Poursuite des exercices d'alerte de terrain</i> .....	49
3.2.4.4 <i>Développement des échanges scientifiques et humains internationaux</i> .....	50

<b>3.2.4.5 Faune sauvage</b> .....	<b>50</b>
3.2.5 Action auprès des instances internationales pour la réduction des délais avant recouvrement d'un statut indemne à la suite d'une vaccination préventive d'urgence.....	51
CONCLUSION.....	52
<b>4 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>53</b>
<b>5 ANNEXES</b> .....	<b>56</b>
Annexe 1 : Décisions de création et modificatrice du groupe de travail « Fièvre aphteuse ».....	56
Annexe 2 : Définitions de la directive européenne 2003/85/EC .....	59
Annexe 3 : Définitions du Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE .....	60
Annexe 4 : Articles de la directive européenne 2003/85/EC en lien avec la vaccination.....	61
Annexe 5 : Exigences du Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE pour le recouvrement du statut de pays ou de zone indemne de fièvre aphteuse .....	77

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des méthodes de diagnostic virologique et moléculaire utilisées aux LNR Afssa-Lerpaz et Coda-Cerva .....	11
Tableau 2 : Caractéristiques des méthodes de diagnostic sérologique (protéines structurales) utilisées aux LNR Afssa-Lerpaz et Coda-Cerva.....	12
Tableau 3 : Caractéristiques des méthodes de diagnostic sérologique (protéines non-structurales) utilisées aux LNR Afssa-Lerpaz et Coda-Cerva .....	12
Tableau 4 : Intervalles de confiance correspondant aux résultats de spécificité individuelle d'un test obtenus dans l'étude de Roeder et Le Blanc Smith, 1987. ....	15
Tableau 5 : Spécificité individuelle des tests de détection des anticorps induits par les protéines non structurales (d'après Brocchi <i>et al.</i> , 2006) .....	21
Tableau 6 : Sensibilité individuelle des tests de détection des anticorps induits par les protéines non structurales (infections expérimentales), (d'après Brocchi <i>et al.</i> , 2006) .....	22
Tableau 7 : Sensibilité individuelle des tests de détection des anticorps induits par les protéines non structurales (essais de terrain), (d'après Brocchi <i>et al.</i> , 2006) .....	22
Tableau 8 : Caractéristiques intrinsèques des tests de détection des anticorps induits par les protéines non structurales, évaluées par le LNR français .....	22
Tableau 9 : Taille des échantillons dans une population finie (taux de sondage supérieur à 10 %) en fonction de la taille de la population, pour un TPL de 5 % et un risque d'erreur de 5%, (Toma <i>et al.</i> , 2001) .....	37

## Liste des figures

Figure 1 : Diagnostic virologique et moléculaire au LNR français – procédure générale pour la première suspicion (cas index) .....	25
Figure 2 : Découpage en trois phases du suivi post-vaccinal.....	37
Figure 3 : Critères de l'enquête épidémiologique post-vaccinale pouvant être pris en considération en France .....	39



## Liste des sigles

**Afssa** : Agence française de la sécurité sanitaire des aliments

**ARN** : Acide ribonucléique

**Coda-Cerva** : Centre d'études et de recherches vétérinaires et agrochimiques

**CPCASA** : Comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale

**CRL** : « *Community reference laboratory* » (Laboratoire communautaire de référence)

**DDSV** : Direction départementale des services vétérinaires

**DDEA** : Direction départementale de l'équipement et de l'agriculture

**DGAI** : Direction générale de l'alimentation

**DIVA** : « *Differentiating infected from vaccinated animals* » (distinguant les animaux vaccinés des animaux infectés naturellement)

**EIL** : Essai inter-laboratoires

**ELISA** : « *Enzyme-linked immunosorbent assay* » (immuno-absorption enzymatique)

**ENVA** : Ecole nationale vétérinaire d'Alfort

**FA** : Fièvre aphteuse

**FAO** : « *Food and Agriculture Organisation* » (Organisation pour l'alimentation et l'agriculture)

**FMDV** : « *Foot and mouth disease virus* » (virus de la fièvre aphteuse)

**FP** : Faux positif

**GB** : Grande-Bretagne

**INRA** : Institut national de la recherche agronomique

**IRES** : « *Internal Ribosome Entry Site* » (site d'entrée du ribosome pour la traduction)

**Laboratoire P3** : Laboratoire dont les infrastructures répondent à des normes de bio-sécurité permettant la manipulation de certains agents pathogènes

**Lignée IBRS2** : Lignée de cellules rénales porcines d'origine brésilienne

**LNR** : Laboratoire national de référence

**LPBE** : « *Liquid phase blocking Elisa* » (Elisa d'inhibition en phase liquide)

**LVD** : Laboratoire vétérinaire départemental

**MVP** : Maladie vésiculeuse du porc

**NSP** : « *Non structural proteins* » (protéines non structurales)

**OIE** : Office international des épizooties, Organisation mondiale de la santé animale

**PCR** : « *Polymerase chain reaction* » (réaction de polymérisation en chaîne)

**PD50** : « *Protective dose 50* » (dose protectrice 50)

**RT-PCR conventionnelle** : « *Reverse transcription-polymerase chain reaction* » (transcription inverse-polymérisation en chaîne)

**RT-PCR en temps réel** : « *Real time reverse transcription-polymerase chain reaction* » (transcription inverse-polymérisation en temps réel)

**SPCE** : « *Solid phase competitive Elisa* » (Elisa de compétition en phase solide)

**TCID50** : « *Tissue culture infectious dose 50* » (DCP50 : Dose cytopathique 50)

**TPL** : Taux de prévalence limite

**VP** : Vrai positif

**VPd** : Vrai positif dangereux

**VPnd** : Vrai positif non dangereux

## INTRODUCTION

La fièvre aphteuse (FA) est la maladie animale probablement la plus contagieuse, de façon directe et indirecte, capable de provoquer en quelques semaines des épizooties paralysant l'activité du monde rural des pays développés.

L'épizootie majeure de Grande-Bretagne, en 2001, est encore dans toutes les mémoires.

De façon à maîtriser le mieux possible une éventuelle réintroduction accidentelle d'un sérotype de virus FA en Europe occidentale, région indemne de cette maladie, il est capital, en « temps de paix » de réfléchir aux moyens disponibles de diagnostic et de lutte contre cette maladie, ainsi qu'aux modalités optimales de leur utilisation.

Dans cette optique, l'Afssa a créé un groupe de travail (cf. annexe 1) qui s'est réuni neuf fois de janvier 2008 à juin 2009 et a élaboré le présent rapport, validé par le CES SA le 6 mai 2009.

En réponse aux trois questions posées au groupe de travail, le rapport développe successivement :

- les méthodes de diagnostic et de dépistage de la fièvre aphteuse en France et les stratégies d'utilisation ;
- la vaccination d'urgence contre la fièvre aphteuse en France et les conséquences sur la récupération du statut indemne ;
- des recommandations d'amélioration du dispositif de lutte contre la fièvre aphteuse en France.

Par ailleurs, l'avis de l'Afssa du 7 février 2008 (saisine n°2007-SA-0372) préparé par le groupe de travail FA et le CES SA a fait partie de la réponse aux questions posées au groupe de travail (cf. annexe 1 : « *évaluer les besoins en une banque d'antigènes et les performances des vaccins contre la fièvre aphteuse ainsi que les conséquences de leur emploi dans la récupération du statut indemne de fièvre aphteuse* »).

# 1 MÉTHODES DE DIAGNOSTIC ET DE DÉPISTAGE DE LA FIÈVRE APTEUSE EN FRANCE ET STRATEGIES D'UTILISATION

Sont successivement évoqués :

- les méthodes de diagnostic virologique, moléculaire et sérologique de la fièvre aphteuse du laboratoire national de référence français ;
- les méthodes utilisées dans les laboratoires vétérinaires départementaux ;
- le choix des méthodes actuellement utilisées pour le diagnostic au laboratoire ;
- l'interprétation des résultats des tests diagnostiques et de dépistage de la FA au regard de la réglementation européenne ;
- les perspectives de décentralisation du diagnostic de la FA en France.

## 1.1 LES METHODES DE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE, MOLECULAIRE ET SEROLOGIQUE DE LA FIEVRE APTEUSE DU LABORATOIRE NATIONAL DE REFERENCE FRANÇAIS

Le diagnostic de la FA repose sur la mise en évidence du virus infectieux, de ses protéines ou de son génome (diagnostic virologique et moléculaire), ou des anticorps induits (diagnostic sérologique).

En 2006, une convention de collaboration a été signée entre l'Afssa-Lerpaz et le Coda-Cerva (LNR de Belgique). Cette convention stipule que les deux laboratoires peuvent s'entraider en cas de suspicion primaire de fièvre aphteuse, mais aussi dans le cadre des enquêtes sérologiques et/ou virologiques qui seront mises en œuvre.

Les tableaux 1, 2 et 3 présentent les principales caractéristiques des méthodes virologiques, moléculaires et sérologiques utilisées aux LNR Afssa-Lerpaz et Coda-Cerva.

**Tableau 1 : Caractéristiques des méthodes de diagnostic virologique et moléculaire utilisées aux LNR Afssa-Lerpaz et Coda-Cerva**

Méthode	Nature du prélèvement	Détection de tous les sérotypes	Typage	Trousse commercialisée	Décentralisation actuelle dans les LVD	Décentralisation souhaitable dans les LVD
Isolement viral	Aphtes, sang	Oui	Non	Non	Non	Non
ELISA antigène	Aphtes	Oui	Oui	Non	Non	Non
RT-PCR conventionnelle	Aphtes, sang	Oui	Oui par séquençage	Non	Non	Non
RT-PCR en temps réel	Aphtes, sang	Oui	Non	Non	Non	Oui

**Tableau 2 : Caractéristiques des méthodes de diagnostic sérologique (protéines structurales) utilisées aux LNR Afssa-Lerpaz et Coda-Cerva**

Méthode	Détection tous les sérotypes	Trousse commercialisée	Décentralisation actuelle dans les LVD	Décentralisation souhaitable dans les LVD
<b>ELISA LPBE</b>	Non (un test par type ou sous-type)	Oui	Non	Non
<b>ELISA SPCE</b>	Non ( un test par type ou sous-type)	Oui	Non	Oui
<b>Cedi test type O</b>	Non (que le type O)	Oui	Non	Oui
<b>Séro-neutralisation</b>	Non ( un test par type ou sous-type)	Non	Non	Non

**Tableau 3 : Caractéristiques des méthodes de diagnostic sérologique (protéines non-structurales) utilisées aux LNR Afssa-Lerpaz et Coda-Cerva**

Méthode	Espèces	Détection tous les sérotypes	Trousse commercialisée	Décentralisation actuelle dans les LVD	Décentralisation souhaitable dans les LVD
<b>Prionics Cedi test NSP</b>	Bovins/ovins/caprins/porcins	Oui	Oui	Oui	Oui
<b>Svanovir FMDV 3ABC</b>	Bovins/ovins/caprins/porcins	Oui	Oui	Non	Oui
<b>UBI</b>	1 trousse pour Bovins/ovins 1 trousse pour porcins	Oui	Oui	Non	Non
<b>Chekit 3ABC</b>	1 trousse pour Bovins/ovins 1 trousse pour porcins	Oui	Oui	Non	Non

### **1.1.1 Méthodes virologiques et moléculaires**

Toutes les méthodes de diagnostic virologique et moléculaire utilisées au laboratoire de l'Afssa-Lerpaz, laboratoire national de référence (LNR), sont réalisées conformément aux recommandations du Manuel des techniques de l'OIE (Anonyme, 2008) ou selon des protocoles publiés par le laboratoire de référence mondial de Pirbright, également laboratoire de référence communautaire (CRL : Community Reference Laboratory).

Il faut souligner que les méthodes de détection et de caractérisation des virus de la fièvre aphteuse sont réalisées dans un laboratoire de confinement répondant aux normes de niveau de bio-sécurité P3, conformément aux exigences de bio-sécurité de l'Union européenne et le EU- FMD, FAO (groupe de recherche de la FAO sur la fièvre aphteuse relatif à l'Europe). L'Afssa-Lerpaz est le seul laboratoire habilité à manipuler ces virus sur le territoire français.

Les méthodes virologiques et moléculaires décrites sont systématiquement mises en œuvre au LNR en cas de suspicion de FA.

Ces méthodes, utilisées à l'Afssa-Lerpaz, sont identiques à celles employées au Coda-Cerva.

#### **1.1.1.1 Prélèvements pour la détection du virus aphteux, de son génome ou de ses protéines**

Les prélèvements nécessaires à la mise en œuvre du diagnostic virologique sont idéalement constitués par le liquide vésiculaire d'aphtes non encore rompus ou, à défaut, par de l'épithélium prélevé autour de la lésion. Ces tissus (au minimum 1g pour une surface minimale de 1cm<sup>2</sup>) sont détachés, placés dans un flacon sec et adressés au laboratoire spécialisé de l'Afssa-Lerpaz sous régime du froid (+ 4°C).

La détection du virus et du génome viral doit être effectuée très rapidement après l'apparition des signes cliniques. En effet, quelques jours après le développement des vésicules, il serait plus difficile d'isoler le virus et le génome viral risquerait d'être dégradé.

Dès l'arrivée du prélèvement au laboratoire, celui-ci procède simultanément à la recherche de virus infectieux, à la détection d'antigènes viraux et de l'ARN génomique viral.

### 1.1.1.2 Méthodes de diagnostic virologique et moléculaire

#### Isolement du virus aphteux

L'isolement du virus est effectué à partir du prélèvement, sur cellules primaires de thyroïde de veau et sur cellules de rein de porc (IBRS2), afin de 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.

En fonction de la quantité de matériel biologique disponible, l'isolement peut être effectué en parallèle sur des cellules de lignées continues, standardisées et soumises aux contrôles de qualité.

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 h, si aucun effet cytopathique n'est observé, un second passage est réalisé avant que le prélèvement puisse être déclaré négatif, portant le délai de réponse à 96 h. Si un effet cytopathique est observé, l'identification du virus est alors effectuée à l'aide de la technique ELISA sandwich (typage) et/ou des techniques de RT-PCR conventionnelle et RT-PCR en temps réel (Anonyme, 2008).

#### → Points forts

- La méthode d'isolement du virus en culture de cellules primaires de thyroïde de veau ou de lignée IBRS2 permet la détection de tous les virus de tous les sérotypes ;
- cette méthode permet de disposer de la souche virale et donc autorise, par la suite, toutes les études sur ses propriétés antigéniques et génétiques.

#### → Limites et contraintes

- Il est nécessaire de contrôler la sensibilité de chaque lot de cellules primaires à chaque trypsination et au cours du temps, avec un stock de virus isolé du terrain et titrant faiblement ;
- une trypsination des cellules thyroïdiennes est nécessaire toutes les deux semaines ce qui est extrêmement coûteux ; il est à noter que le gain de sensibilité obtenu par l'emploi des cellules primaires par rapport aux cellules IBRS2 doit être évalué pour tous les sérotypes et les variants viraux afin de décider s'il est nécessaire de maintenir ce système particulièrement lourd et coûteux (aucune recommandation internationale n'a pour l'instant été édictée).

#### → Perspectives

- Des essais d'immortalisation des cellules primaires ont été réalisés, mais il en résulte une sensibilité moindre de la détection virale que sur cellules primaires (Ferris *et al.*, 2002). Des travaux de recherche sont en cours dans d'autres laboratoires (Haas *et al.* Communication personnelle, Sicile septembre 2008) afin d'améliorer la sensibilité des systèmes cellulaires.

## Détection des protéines virales

**L'ELISA de capture d'antigène** (ELISA sandwich) pour la détection des protéines virales, est réalisé vis-à-vis des sept types de virus aphteux, du virus de la MVP (maladie vésiculeuse du porc) et éventuellement des deux sérotypes du virus de la stomatite vésiculeuse, soit sur le prélèvement d'aphtes, soit sur le surnageant des cultures cellulaires inoculées.

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 anti-sérums spécifiques en six heures au minimum (Anonyme, 2008).

### → Points forts

- Le résultat peut être obtenu en six heures ;
- cette technique est spécifique : le risque de faux positifs a été quantifié sur 263 prélèvements de ruminants et 100 provenant de porcs indemnes de tout contact avec du virus aphteux et aucun n'a été trouvé positif (Roeder et Le Blanc Smith, 1987). Selon la loi binomiale exacte, les résultats de ces tests peuvent être exprimés selon les intervalles de confiance du tableau 4.

**Tableau 4 : Intervalles de confiance correspondant aux résultats de spécificité individuelle d'un test obtenus dans l'étude de Roeder et Le Blanc Smith, 1987.**

Nombre de tests	Nombre de positifs	Spécificité individuelle (intervalle de confiance à 95 %)
263 ruminants	0	100 [98,9 - 100]
100 porcins	0	100 [97,0 - 100]

### → Limites et contraintes

- Il existe un risque de faux négatifs si les antisérums utilisés ne couvrent pas un large spectre de souches ;
- à partir de prélèvements effectués sur l'animal malade ou suspect d'être infecté, cette technique ne peut être réalisée que sur un prélèvement d'aphte (et ne peut pas être appliquée sur sang total car il existe un risque élevé de faux positifs) ;
- cette technique est moins sensible que l'isolement du virus sur cellules, surtout pour les prélèvements issus d'ovins (les résultats sont meilleurs pour les prélèvements issus de bovins et de porcins) ; le prélèvement doit contenir un virus dont le titre est au moins de  $10^3$  TCID<sub>50</sub>/ml ; la sensibilité ne sera malgré tout que de 70-80 % au maximum (Westbury *et al.*, 1988) ;
- quelques réactions croisées entre sérotypes peuvent être observées.

### → Perspectives

- Des tests de détection d'antigène effectués « à la ferme » (« penside tests ») sont disponibles actuellement en France ; ces tests, en cas de suspicion, pourraient être utilisés sur le terrain par des vétérinaires agréés, dans des conditions à préciser dans les protocoles officiels de gestion des suspicions.

### Détection du génome viral

■ **La RT-PCR conventionnelle**, pour la détection de l'ARN génomique viral, est réalisée avec différents couples d'amorces qui permettent d'identifier tous les types viraux (les amorces utilisées pour l'amplification étant choisies à partir de régions génétiquement stables conservées pour tous les sérotypes viraux) :

- amorces amplifiant une région génomique située dans la séquence codant pour la polymérase 3D (Laor *et al.*, 1992);
- amorces amplifiant une région génomique située dans la séquence codant pour la partie non traduite du génome (IRES) (Reid *et al.*, 2000 ; Anonyme, 2008) ;
- amorces amplifiant une région génomique située dans la séquence codant pour la protéine structurale VP1 pour séquençage et analyse phylogénétique de la souche (Beck et Strohmaier, 1987 ; Amaral-Doel *et al.*, 1993 ; Anonyme, 2008) : l'analyse et la comparaison des séquences nucléotidiques obtenues permettent les analyses phylogénétiques au sein d'un sérotype donné.

L'ARN du virus est extrait soit à partir du liquide d'aphtes, du sérum, du lait, de l'urine, d'écouvillons nasaux ou buccaux, de liquide oesophago-pharyngien (extrait à l'aide d'une sonde œsophagienne ou probang), soit à partir du surnageant de culture.

Les résultats de l'amplification du génome viral à partir des tissus biologiques ou du surnageant de cultures de cellules sont respectivement obtenus en 24 ou 36 heures.

#### → Points forts

- A partir du prélèvement d'aphte, le résultat est obtenu en 24 h minimum ;
- différents laboratoires départementaux ont déjà des appareils d'extraction automatique d'acides nucléiques ou de mise en oeuvre des techniques d'amplification en chaîne par polymérase ; ils sont ainsi capables de traiter plusieurs centaines de prélèvements par jour (pour effectuer la détection génomique d'autres agents pathogènes que celui de la fièvre aphteuse).

#### → Limites et contraintes

- La sensibilité de la RT-PCR conventionnelle est du même ordre de grandeur que celle de l'ELISA sandwich (Donn *et al.*, 1994 ; Reid *et al.*, 1998 ; Reid *et al.*, 1999), mais reste inférieure à celle de l'isolement sur cellules ; cependant quelques discordances inverses ont été observées : isolement viral négatif et RT-PCR positive ce qui pourrait être expliqué par la présence d'un virus dégradé ;
- le typage de la souche n'est pas direct mais nécessite une étape de séquençage ;
- l'ouverture des tubes ainsi que l'étape d'électrophorèse expose à un risque de contamination des locaux par l'ADN amplifié (possibilité de faux positifs) ;
- il est nécessaire d'inclure des témoins d'extraction ( $\beta$  actine) (Toussaint *et al.*, 2007) et des témoins de la PCR (ARN positif) ; aucune standardisation sur les contrôles n'a été effectuée au niveau européen ou mondial ;
- il est nécessaire d'adapter et de valider l'extraction en vue de l'automatisation de cette méthode, afin d'étendre cette technique à d'autres laboratoires équipés d'automates ;
- aucune trousse commerciale n'est actuellement disponible sur le marché mondial.



■ **La RT-PCR en temps réel** : de par la conception de la méthode qui n'autorise aucun dys-appariement entre les bases des amorces et de la sonde avec la matrice virale, il est nécessaire de réaliser le test avec au moins deux couples d'amorces différents. Ces amorces sont situées dans des régions génétiquement stables qui permettent la détection des sept types viraux :

- amorces amplifiant une région génomique située dans la séquence codant pour la polymérase 3D (Rasmussen *et al.*, 2003) ;
- amorces amplifiant une région génomique située dans la séquence codant pour la partie non traduite du génome (IRES) (Reid *et al.*, 2002).

→ Points forts

- La méthode offre une sensibilité élevée, supérieure à l'isolement sur cellules dans certains cas (sensibilité de 95,4 % pour la cible IRES et de 97,7 % pour la cible 3D) (King *et al.*, 2006) ;
- les résultats sont obtenus en moins de 6 heures ;
- il existe par ailleurs la possibilité d'acquérir des unités mobiles pour se rendre dans l'exploitation ;
- cette technique est applicable sur des prélèvements de lésions ou sur sérum.

→ Limites et contraintes

- Cette méthode nécessite une bonne organisation et des manipulations rigoureuses (risque de contamination, faux positifs) ;
- il est nécessaire d'inclure des témoins « extraction » et des témoins de RT-PCR et il n'existe pas de standards préconisés pour ces contrôles (des seuils de décision pourraient être définis à partir des essais inter-laboratoires) ;
- cette méthode ne permet pas les études phylogénétiques.

→ Perspectives

- Les étapes d'extraction doivent être améliorées et automatisées ;
- des réflexions sont en cours avec la DGAI en vue de décentraliser les méthodes de RT-PCR en temps réel dans des laboratoires vétérinaires départementaux (au minimum dans les cinq laboratoires déjà agréés pour la sérologie FA) afin de pouvoir les utiliser en cas d'épizootie.

### 1.1.1.3 Conclusion

Actuellement, le diagnostic virologique et moléculaire peut être effectué par le LNR de l'Afssa-Lerpaz et, dans le cadre de la convention de collaboration (*cf.* 1.1.1 « Méthodes virologiques et moléculaires »), par le Coda-Cerva (,.

Les capacités journalières de l'Afssa-Lerpaz sont de 40 à 60 analyses virologiques et moléculaires. A la condition qu'aucune épizootie ne frappe la Belgique, celles du Coda-Cerva sont du même ordre de grandeur.

Le diagnostic primaire en France ne devrait être établi que par le LNR de l'Afssa, si besoin, appuyé par le Coda-Cerva.

## 1.1.2 Méthodes sérologiques

Les méthodes sérologiques prescrites par l'OIE permettent de détecter :

- les anticorps sériques induits par les protéines virales structurales (protéines présentes dans la particule virale) ;
- ou les anticorps dirigés contre les protéines virales non-structurales (protéines produites lors du cycle de multiplication virale).

Les anticorps apparaissent plusieurs jours après l'infection (à partir de sept à huit jours) et persistent pendant plusieurs mois. La sérologie peut donc être utilisée pour un diagnostic tardif de l'infection, mais aussi pour estimer la séroprévalence de l'infection dans le cadre d'enquêtes sérologiques.

### 1.1.2.1 Détection des anticorps induits par les protéines structurales

#### ■ L'ELISA d'inhibition en phase liquide (LPBE ou « liquid phase blocking ELISA »).

- Ce test permet de détecter les anticorps dirigés contre les sept sérotypes viraux.
- Les réactifs sont fournis par le laboratoire de Pirbright (GB).
- Une réponse est obtenue en **12-24h**.
- Le test est identique pour toutes les espèces (compétition).
- L'utilisation d'un antigène inactivé est théoriquement possible, permettant la décentralisation des tests.
- La spécificité individuelle varie, selon les auteurs et les seuils, de 80 à 99 % et la sensibilité individuelle est jugée meilleure que pour la séro-neutralisation (Hamblin *et al.*, 1986 ; Haas, 1994). Lors de l'épizootie en 2001, il a été observé à l'Afssa-Lerpaz, avec un seuil réévalué au 1/92 (1/45 avant l'épizootie), des spécificités individuelles de 100 % (99,7%-100%) sur 1181 bovins, 99,8% sur 8408 ovins (99,7%-99,9%) et de 100% chez 1272 porcs (99.7%-100%).

#### → Points forts

- Le délai de réponse est court ;
- la technique est automatisable et décentralisable (utilisant un antigène inactivé).

#### → Limites et contraintes

- Cette méthode est assez complexe et nécessite un titrage préalable de chacun des réactifs inclus dans le test (antigène, antisérums et conjugué) ;
- il est nécessaire de mettre au point un test pour chacune des souches virales concernées ;
- la sensibilité est corrélée à la proximité antigénique de la souche circulante et de l'antigène utilisé ;
- l'antigène inactivé reste stable seulement à une température de -80°C.

#### ■ L'ELISA de compétition en phase solide (SPCE ou « solid phase competitive ELISA »)

- Ce test a été développé et recommandé en 2000 pour remplacer l'ELISA en phase liquide afin d'améliorer la spécificité individuelle de la technique. De fait, cet ELISA a été évalué plus largement que le précédent : spécificité individuelle de 99,4 % (bovins/ovins : 8 700 animaux) à 100 % (porcins, 7 500 animaux) sans perdre de sensibilité individuelle (100 % sur 267 ovins) selon Paiba *et al.* (Paiba *et al.*, 2004). Au laboratoire de l'Afssa-Lerpaz, il a été observé une spécificité individuelle de 99,3 % (IC : [98,8 – 99,6]) sur 2 000 sérums de bovins, ovins, porcins.
- Le délai de réponse de ce test est de l'ordre de 12-24 heures.
- Ce test permet de détecter les anticorps dirigés contre les sept sérotypes viraux.

→ Points forts

- Le délai de réponse est court (du même ordre que la technique précédente) ;
- la technique est automatisable et décentralisable ;
- la sensibilité est corrélée à la proximité antigénique de la souche circulante et de l'antigène utilisé.

→ Limites et contraintes

- Cette méthode est assez complexe et nécessite un titrage préalable de chacun des réactifs, comme pour l'ELISA en phase liquide ;
- il est nécessaire d'avoir autant de types de trousse que de souches virales concernées ;
- l'antigène inactivé reste stable seulement à une température de -80°C.

■ **Le Cedi test FMDV type O**

- Cette trousse commercialisée correspondant à un ELISA de compétition en phase solide, met en œuvre un antigène inactivé et un anticorps monoclonal de type O et est basé sur les travaux de Dekker et Chénard (Chénard *et al.*, 2003).
- Cette méthode n'est utilisable que dans le cas d'une épizootie due au type O.
- Elle permet la détection d'anticorps chez toutes les espèces sensibles.
- La trousse, commercialisée par Prionics, est livrée complète, prête à l'emploi, facile à utiliser, facilement décentralisable et utilisable pour toutes les espèces.
- Peu de données de sensibilité et de spécificité (individuelles) existent dans la littérature autres que celles de la publication de Chénard *et al.* (2003) (spécificité individuelle de 94 à 99 % et sensibilité individuelle de 97,8 %) et celles du fabricant : spécificité (individuelle) supérieure à 99 % (bovins : 99 % sur 1 300 animaux, ovins /porcins : 99,8 % sur 1 051 animaux) et sensibilité (individuelle) de 86 % (porcins, 105 animaux) à 98 % (bovins /ovins, 300 animaux). A l'Afssa-Lerpaz la spécificité (individuelle) a été de 99,3 % sur 393 ovins/bovins/porcins et la sensibilité (individuelle) de 95 % sur 46 bovins (positifs en séroneutralisation et en ELISA LPBE).
- Ce test a été utilisé en Grande-Bretagne lorsque des foyers sont apparus en Angleterre en 2007.

→ Points forts

- Ce test est facilement décentralisable ;
- cette technique donne un résultat en quelques heures ;
- le coût est en 2008 de 667€ pour 480 sérums.

→ Limites et contraintes

- La durée de validité des trousse est faible (inférieure ou égale à un an) ;
- l'assurance de l'approvisionnement est non garantie (il faut souscrire un engagement avec la société Prionics pour être prioritaire dans la livraison).

→ Perspectives

- Une réflexion est en cours en vue de décentraliser ce test dans les cinq laboratoires vétérinaires actuellement agréés pour la sérologie FA (seul test actuellement décentralisé : Prionics Cedi test NSP) (*cf. infra*).

■ **La séroneutralisation**

- Cette méthode nécessite l'utilisation de virus infectieux, donc des manipulations en laboratoire protégé P3.
- Le virus d'épreuve doit être aussi proche que possible de la souche circulante. Les sérums à tester doivent être prélevés stérilement.

- C'est la méthode de référence et de confirmation (Anonyme, 2008) (Remond *et al.*, 2001).
- La réponse est obtenue en 3 jours.
- Si les titres en anticorps sont faibles ou se situent à des valeurs proches du seuil de lecture, l'interprétation des résultats sérologiques peut être délicate. Un nouveau prélèvement plus tardif permettra généralement de trancher.
- Si les prélèvements ont été effectués plus de 10 à 15 jours après infection, les anticorps neutralisants peuvent être mis en évidence (sous réserve que l'antigène utilisé corresponde au sérotype du virus circulant).
- Pour ce qui concerne la spécificité (individuelle), 3 à 5 % de réactions faussement positives peuvent être observées de par la présence d'inhibiteurs sériques non spécifiques du virus aphteux (animaux fébriles, entre autres) (Anonyme, 1997).

→ Points forts

- Cette méthode (méthode de référence) permet de déterminer le sérotype viral ;
- les titres en anticorps neutralisants (dans les sérums d'animaux vaccinés) sont fortement corrélés avec la protection ;
- c'est un outil pour la cinétique reconnu au niveau international (*cf. Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE*).

→ Limites et contraintes

- Le délai de réponse est assez long ;
- la technique n'est pas décentralisable, car elle exige la détention du virus d'épreuve et sa multiplication, ni automatisable et donc mal adaptée au dépistage de masse, en raison de la complexité de sa mise en œuvre.

### 1.1.2.2 Détection des anticorps induits par les protéines non structurales

Les trousse de tests utilisables appartiennent à des listes de tests définies dans le *Manuel des procédures recommandées de l'OIE*, soit :

- la liste de **tests prescrits** pour les échanges internationaux par l'OIE (tests utilisables sans négociation préalable entre les Etats échangeant des animaux ou des produits) ;
- ou la liste de **tests alternatifs** (tests utilisables entre les Etats échangeant des animaux ou des produits, sous réserve que les deux parties aient donné leur accord au préalable).

Les trousse sont certifiées conformes aux exigences de l'OIE par les laboratoires nationaux de référence. Il existe également un agrément de réactifs par l'OIE.

La présence des anticorps induits par les protéines non structurales signe la multiplication du virus sauvage ; ils sont normalement absents chez les animaux primo-vaccinés (les animaux déjà vaccinés et subissant une injection de rappel pourraient fournir une réponse faussement positive si le vaccin utilisé au préalable ne présentait pas de caractéristique d'excellente purification).

La possibilité de détecter ces anticorps dirigés contre les protéines non-structurales (ce qui permet de différencier les animaux infectés des animaux vaccinés) est à la base de la nouvelle politique européenne de « vacciner pour laisser vivre » (*cf. vaccination préventive d'urgence*) en cas d'apparition de foyers.

Après abattage dans les foyers et vaccination en zone de surveillance, tout ou partie des animaux vaccinés devront subir ce test avant que la région puisse regagner le statut de zone indemne de FA.

Ces protéines (3ABC et 3D) varient peu d'un sérotype viral à l'autre ; il en résulte qu'un seul test sera utilisé quel que soit le sérotype viral en cause.

Différentes trousse de diagnostic, à base de techniques immuno-enzymatiques de type ELISA, sont commercialisées et présentent une alternative pratique au test décrit dans le *Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE*, (EITB ou « enzyme-linked immunoelectrotransfer blot ») mis au point en Amérique du sud (Laboratoire Panaftosa) (Bergmann *et al.*, 1993).

Quatre trousse prêtes à l'emploi sont commercialisées :

- **Chekit 3 ABC** (Idexx, France) bovins et ovins et Chekit 3 ABC porcins ;
- **Prionics Cedi test NSP** (Prionics, Hollande) toutes espèces ;
- **Svanovir FMDV 3 ABC-Ab**, (Svanova biotech, Suède) toutes espèces ;
- **Test UBI** (United Biomedical Inc, Etats-Unis d'Amérique) test pour bovins/ovins et test pour porcins.

Ces tests ont été comparés dans les mêmes conditions sur 3 551 sérums (1 100 animaux non infectés dont 425 vaccinés, 54 infectés, 285 vaccinés et infectés, avec plusieurs prises de sang pour la cinétique d'apparition des anticorps, plus 867 sérums du terrain provenant de zones infectées avec vaccination, Israël et Zimbabwe) (Brocchi *et al.*, 2006).

De cette étude (Brocchi *et al.*, 2006), il ressort que :

- la caractéristique de spécificité individuelle<sup>1</sup> varie de 97,6 % à 98,5 % selon les tests ; si les sérums sont testés à nouveau, la spécificité est améliorée et atteint 98,8 % à 99,7 % (*cf.* tableau 5) ;

**Tableau 5 : Spécificité individuelle des tests de détection des anticorps induits par les protéines non structurales** (d'après Brocchi *et al.*, 2006)

	<b>Chekit 3 ABC (Bovins/Ovins)</b>	<b>Prionics Cedi test NSP</b>	<b>Svanovir FMDV 3ABC-Ab</b>	<b>Test UBI</b>
<b>Spécificité individuelle (1 100 sérums testés dont 675 non vaccinés et 425 vaccinés)</b>	97,6 %	98,1 %	98,5 %	98,5 %
<b>Spécificité individuelle à la suite d'un second test</b>	98,8 %	99,2 %	99 %	99 %

- la sensibilité des tests varie selon le délai de prélèvement après l'infection ; un maximum d'animaux est détecté entre 28 et 100 jours après l'infection pour l'ensemble des tests. Le test Chekit 3 ABC, qui apparaît beaucoup moins sensible que les autres, semble cependant mieux détecter les anticorps précoces (de 7 à 27 jours) ;
- pour les sérums prélevés entre le 28<sup>ème</sup> jour et le 100<sup>ème</sup> jour post-infection, les performances des tests sont présentées dans le tableau 6 ;

<sup>1</sup> Il ne faut pas perdre de vue que, même avec une spécificité individuelle élevée (de l'ordre de 99 % par exemple), les risques d'avoir des réponses faussement positives, dès lors que de nombreux animaux sont soumis au test de dépistage, sont importants. Ainsi, si on applique un tel test à 50 animaux de 100 troupeaux indemnes de la maladie, on peut obtenir au moins une réponse (faussement) positive dans 40 de ces troupeaux !

**Tableau 6 : Sensibilité individuelle des tests de détection des anticorps induits par les protéines non structurales (infections expérimentales), (d'après Brocchi *et al.*, 2006)**

	Test Panaftosa (test local)	Test Brescia (test local)	Chekit 3 ABC (Bovins/Ovins)	Prionics Cedi test NSP	Svanovir FMDV 3ABC-Ab	Test UBI
<b>Sensibilité individuelle</b> 612 sérums prélevés entre le 28 <sup>ième</sup> et le 100 <sup>ième</sup> jour post-infection	94 %	86 %	68 % (et 48 % à plus de 100 jours)	86 %	70 %	/

- sur des sérums de terrain, la sensibilité individuelle de ces tests est présentée dans le tableau 7 ;

**Tableau 7 : Sensibilité individuelle des tests de détection des anticorps induits par les protéines non structurales (essais de terrain), (d'après Brocchi *et al.*, 2006)**

	Chekit 3 ABC (Bovins/Ovins)	Prionics Cedi test NSP	Svanovir FMDV 3ABC-Ab	Test UBI
<b>Sensibilité individuelle</b> 326 sérums de terrain	84 %	97 %	85 %	/

- compte-tenu des performances du test Prionics Cedi test NSP (sensibilité, spécificité), de son coût, de sa simplicité d'utilisation et de sa capacité à être utilisé à la fois comme test de dépistage dans le cadre d'une infection initiale par le virus de la fièvre aphteuse, et comme test permettant de différencier les anticorps post-infectieux des anticorps post-vaccinaux, ce test a été choisi par le LNR. Ainsi, l'approche pratique retenue par le LNR consiste à utiliser ce test, retester le sérum trouvé positif avec ce même test et confirmer à l'aide d'un second test (Svanovir FMDV 3ABC-Ab ou Chekit 3 ABC) (Brocchi *et al.*, 2006 ; Paton *et al.*, 2006).

Des études ont été réalisées au Lerpaz ; elles ont donné les résultats présentés dans le tableau 8.

**Tableau 8 : Caractéristiques intrinsèques des tests de détection des anticorps induits par les protéines non structurales, évaluées par le LNR français**

	Chekit 3 ABC (Bovins/Ovins)	Prionics Cedi test NSP	Svanovir FMDV 3ABC-Ab	Test UBI
<b>Spécificité individuelle</b>	96 % (92%-99%)	98,9 % (98,5%-99,2%)	96 % (92%-99%)	97,5% (96,8%-99,3%)
<b>Nombre de sérums testés pour évaluer la spécificité individuelle</b>	160 sérums	4 000 sérums (résultat global pour les cinq LVD agréés pour ce test)	160 sérums	160 sérums
<b>Sensibilité individuelle</b>	75 % (53%-90%)	96% (79%-100%)	58 % (37%-77%)	87% (68-97%)
<b>Nombre de sérums testés pour évaluer la sensibilité individuelle</b>	24 sérums	24 sérums	24 sérums	24 sérums

→ Points forts

- Le coût modéré des trousse de diagnostic.
- Rapidité et praticabilité de ces trousse.

→ Limites et contraintes

- L'approvisionnement en trousse Cedi-test NSP (Prionics) pour sérologie impose de souscrire un engagement avec la société Prionics pour être prioritaire dans la livraison.
- L'interprétation des résultats de ces tests permet de classer un troupeau mais pas un animal
- La faible durée de validité des trousse (inférieure ou égale à un an) est aussi limitante.
- Selon le fournisseur, les trousse peuvent être différentes ou non en fonction de l'espèce animale à tester .

→ Perspectives

- Dans le cadre d'un programme européen, il a été tenté de développer au LNR un test basé sur la détection des anticorps contre la polymérase virale ; ce test utilisant la protéine 3D comme antigène est en cours d'évaluation (Bakkali L. *et al.*, Communication orale, Journées Francophones de Virologie, 2008).

### 1.1.2.3 Conclusion et perspectives

Les capacités journalières de l'Afssa-lerpaz sont de 400 analyses sérologiques. A la condition qu'aucune épizootie ne frappe la Belgique, celles du Coda-Cerva sont du même ordre de grandeur.

Des réflexions sont en cours, avec la DGAI, en vue de décentraliser des méthodes de sérologie de type dans les laboratoires vétérinaires départementaux (au moins dans les cinq déjà agréés pour la sérologie FA).

## 1.2 MÉTHODES UTILISÉES DANS LES LABORATOIRES VÉTÉRINAIRES DÉPARTEMENTAUX

En 2004, un réseau de cinq laboratoires vétérinaires départementaux (LVD) a été constitué sur la base d'un cahier des charges rédigé par l'Afssa-Lerpaz et adressé à la DGAL. Ce cahier des charges était très proche de ceux demandés pour la peste porcine classique et l'influenza aviaire.

Le réseau est constitué des laboratoires des départements suivants : l'Ain, les Côtes-d'Armor, le Finistère, la Sarthe et le Tarn. Ces laboratoires sont actuellement agréés pour le seul diagnostic sérologique (détection des anticorps contre les protéines non-structurales) de la FA par la technique Prionics Cedi test NSP.

Outre une mission de formation des personnels, des EIL ont été organisés par le LNR en 2005 et 2007.

En outre, il est demandé aux LVD de tester un certain nombre de sérums par an (*cf.* 1.5 « *Perspectives de diagnostic de la FA en France* ») de bovins, porcins et petits ruminants de façon à, d'une part, maintenir la compétence des personnels et, d'autre part, disposer de données sur le nombre de faux positifs obtenus en situation de « *paix* ».

Les données qui vont être prochainement publiées par le LNR illustrent que le pourcentage de faux positifs après deux tests Cedi tests NSP successifs dans une population d'animaux non infectés et non vaccinés est de 6/2 400 sérums en 2005. En considérant qu'en l'absence de fièvre aphteuse aucun animal en France n'a d'anticorps contre le virus aphteux, la spécificité individuelle du test est de 99,75 % (IC [99,46 %- 99,91 %]).

### **1.3 CHOIX DES METHODES ACTUELLEMENT UTILISEES POUR LE DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE**

Les stratégies et l'interprétation des résultats au laboratoire seront différentes en fonction du contexte épidémiologique.

Deux situations doivent être envisagées :

- la suspicion de fièvre aphteuse initiale (cas index) ;
- les suspicions ultérieures.

#### **1.3.1 Suspicion initiale de fièvre aphteuse (cas index)**

En cas de suspicion initiale de fièvre aphteuse, les prélèvements effectués, conformément aux prescriptions réglementaires, sont adressés au LNR de l'Afssa-Lerpaz. Celui-ci met immédiatement en œuvre les méthodes de diagnostic virologiques, moléculaires et sérologiques pour confirmer ou infirmer l'infection par le virus de la fièvre aphteuse dès la réception des prélèvements.

##### **Analyses virologiques et moléculaires**

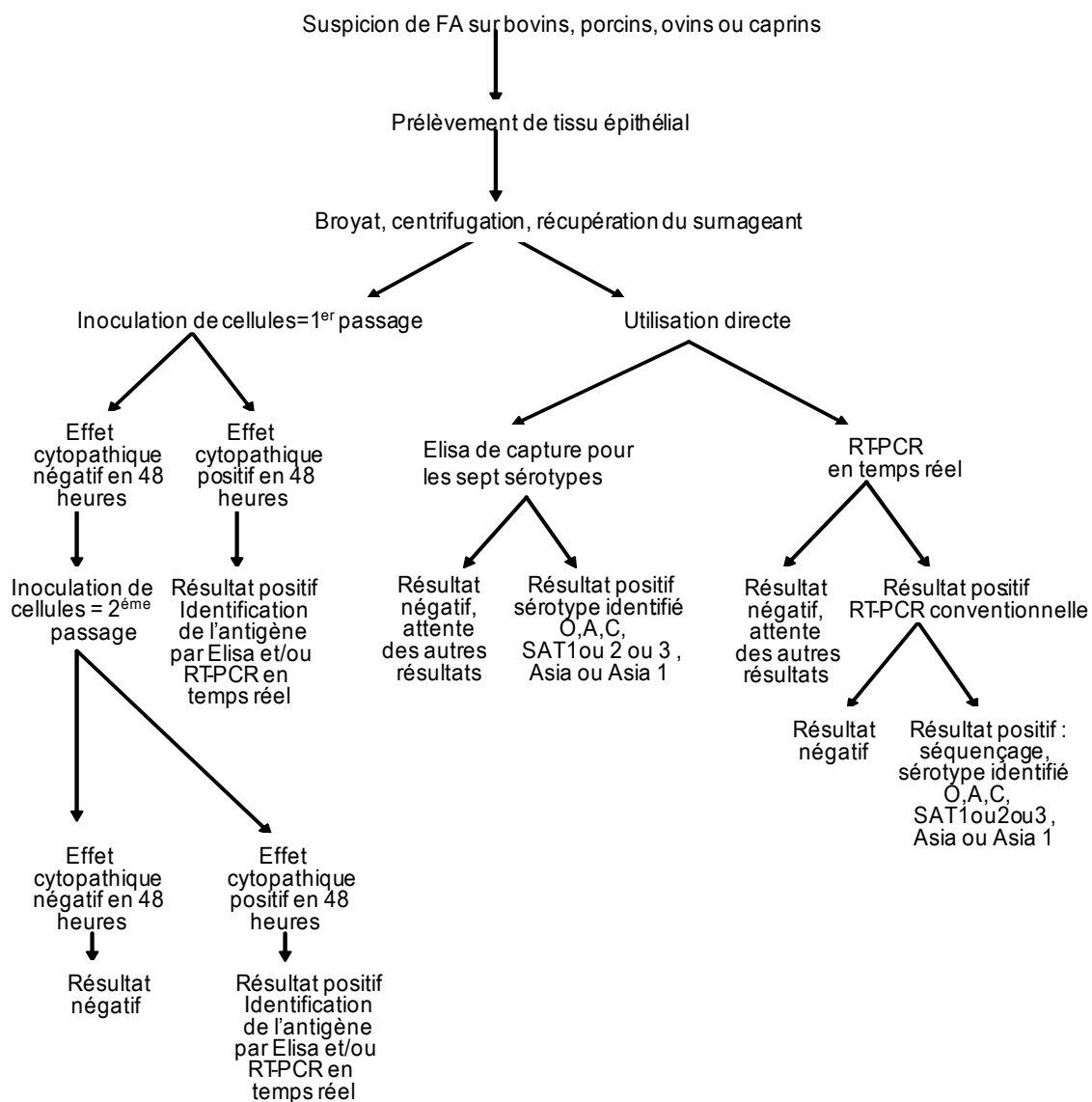
A partir des échantillons d'aphtes (et sous réserve de la qualité de ces échantillons), l'isolement du virus est immédiatement mis en œuvre sur cellules primaires de thyroïde de veau et cellules de lignée, en priorité.

En parallèle, la détection d'antigènes est réalisée par la méthode ELISA de capture ainsi que la détection du génome viral par RT-PCR en temps réel et RT-PCR conventionnelle.

La figure 1 résume la procédure mise en œuvre.



Figure 1 : Diagnostic virologique et moléculaire au LNR français – procédure générale pour la première suspicion (cas index)



### Interprétation des résultats

- un virus a pu être isolé (présence d'un effet cytopathique et identification par RT-PCR en temps réel et/ou ELISA de capture d'antigène), la réponse correspondante du laboratoire est « diagnostic de laboratoire de FA positif » ;
- aucun virus n'a été isolé mais si le test ELISA capture d'antigène ou de RT-PCR en temps réel donne l'un ou l'autre une réponse positive, des investigations complémentaires sont nécessaires (refaire les tests, nouveaux prélèvements, données sérologiques, etc.).

### Analyses sérologiques

Les sérums adressés au LNR de l'Afssa-Lerpaz sont analysés dans un premier temps par la technique ELISA en phase solide, permettant la détection d'anticorps de type, qui sont les

plus précoces. Selon la quantité de sérum disponible, d'autres techniques peuvent être mises en œuvre (séroneutralisation, Cedi test type O si adapté à la souche, Prionics Cedi test NSP).

En cas d'infection initiale, il est probable que la réponse humorale n'ait pas encore été induite et que, par conséquent, une réponse négative aux techniques sérologiques mises en œuvre soit obtenue.

### **1.3.2 Suspensions ultérieures**

Toutes les méthodes (virologiques, moléculaires et sérologiques) sont appliquées au LNR pour les prélèvements provenant du premier foyer (suspicion initiale). Lorsqu'il apparaît que la circulation virale est importante et que le nombre de foyers potentiels est probablement élevé, il est procédé à un allègement du nombre de méthodes utilisées pour détecter l'infection virale. Il est difficile de préciser le moment où cette décision intervient car elle dépend de la dynamique de l'épizootie, des capacités techniques du LNR, de la disponibilité de certains réactifs, *etc.*

En tout état de cause, l'allègement des procédures diagnostiques intervient quelques semaines après l'identification du cas index.

#### **Diagnostic direct**

Le diagnostic virologique est abandonné et seul le diagnostic moléculaire (transcription inverse-réaction d'amplification en chaîne par polymérase en temps réel) est mis en œuvre. La technique de RT-PCR en temps réel n'est utilisée que dans les élevages pour lesquels des éléments cliniques ou épidémiologiques permettent de suspecter une infection récente. En effet, quelques semaines après infection, la charge virale dans le sang, et *a fortiori* dans les lésions vésiculeuses, devient indétectable.

## 1.4 INTERPRETATION DES RESULTATS DES TESTS DIAGNOSTIQUES DE LA FIEVRE APTEUSE AU REGARD DE LA REGLEMENTATION EUROPEENNE

### 1.4.1 Présentation de la directive européenne

Selon la directive 2003/85/EC (*cf.* annexe I de la directive et *cf.* annexe 2 du présent rapport), un diagnostic de FA peut être posé si :

#### ■ Virus

le virus a été isolé ;

#### ■ Signes cliniques et résultat d'analyse(s) de laboratoire positif

- la présence de signes cliniques sur un animal d'une espèce sensible est avérée et confirmée par la détection de l'antigène ou de l'ARN viral sur cet animal ou sur des animaux du même groupe épidémiologique ;
- la présence de signes cliniques sur un animal d'une espèce sensible est avérée et confirmée par la détection sur l'animal ou sa cohorte des anticorps dirigés contre les protéines structurales ou non structurales du virus (pour autant qu'une vaccination précédente ou des anticorps maternels résiduels ou des réactions non spécifiques puissent être exclus) ;

#### ■ Antigène ou ARN

Un antigène ou un ARN sont observés et identifiés dans des échantillons prélevés sur des animaux d'espèces sensibles **et** les animaux présentent des anticorps dirigés contre les protéines structurales ou non structurales du virus (pour autant qu'une vaccination précédente ou des anticorps maternels résiduels ou des réactions non spécifiques puissent être exclus).

#### ■ Lien épidémiologique et :

- **antigène ou ARN**  
un lien épidémiologique patent a été établi et un antigène ou un ARN viral spécifique a été détecté et identifié ;
- **sérologie**  
un lien épidémiologique patent a été établi et un animal au moins présente des anticorps dirigés contre les protéines structurales ou non structurales (pour autant qu'une vaccination précédente ou des anticorps maternels résiduels, des réactions non spécifiques puissent être exclus) ;
- **séroconversion**  
un lien épidémiologique patent a été établi et une séroconversion a été constatée chez au moins un animal d'une espèce sensible (pour autant qu'une vaccination précédente ou des anticorps maternels résiduels, des réactions non spécifiques puissent être exclu) ;
- **signes cliniques**  
un lien épidémiologique patent a été établi et des signes cliniques évoquant la fièvre aphteuse sont observés.

### 1.4.2 Interprétation du LNR français

En cas de suspicion d'un **premier foyer** (foyer index), le LNR français propose une interprétation de la réglementation européenne comprenant les nuances suivantes :

le LNR de l'Afssa-Lerpaz conclut à un foyer de FA :

- si un virus est isolé et caractérisé (typage) ou ;
- si des antigènes viraux **et** des éléments génomiques sont mis en évidence (en l'absence d'isolement du virus).

Dans les autres cas, les éléments épidémiologiques et cliniques ainsi que des prélèvements complémentaires éventuels permettent de conforter l'interprétation du LNR.

En fonction de la synthèse des résultats des diverses techniques mises en œuvre, le diagnostic de fièvre aphteuse sera confirmé ou non, au laboratoire. Outre les limites de sensibilité (faux négatifs) et de spécificité (faux positifs) individuelles liées aux techniques mises en œuvre, la qualité du prélèvement et sa précocité constituent le plus souvent le facteur limitant d'un diagnostic rapide de certitude.

Une réponse positive est susceptible d'être fournie dans les 24 heures qui suivent l'arrivée du prélèvement au laboratoire. Une réponse ne sera considérée comme négative qu'après 48 heures minimum.

Pour les **foyers secondaires** :

L'interprétation des résultats prend en compte les liens épidémiologiques potentiels, les données sérologiques (protéines structurales ou non) et la nature du tableau clinique, conformément aux recommandations de la directive européenne.

### 1.4.3 Surveillance en exploitation faisant l'objet d'un abattage préventif

En cas d'abattage préventif de troupeau(x) en raison d'un lien épidémiologique marqué avec un foyer, des prélèvements peuvent être réalisés, chaque fois que possible :

- sur les animaux à l'origine de la contamination du troupeau ;
- sur le reste du troupeau, par sondage, pour évaluer le degré de contamination éventuelle du troupeau.

### 1.4.4 Surveillance sérologique dans un élevage non vacciné

Le diagnostic de FA ayant été posé, des enquêtes sérologiques sont mises en œuvre afin de dépister les élevages infectés.

#### 1.4.4.1 Au LNR

A cette fin, le test Cedi test type O est utilisé (dans l'hypothèse où le type O aura été isolé, lors du diagnostic du cas index) par le LNR de l'Afssa - Lerpaz.

Si un autre sérotype est présent, le test ELISA SPCE est employé par le LNR.

Ces enquêtes sérologiques peuvent être effectuées en collaboration avec le laboratoire du Coda-Cerva si nécessaire.

#### 1.4.4.2 Dans les LVD

Il sera fait appel aux cinq laboratoires vétérinaires départementaux du réseau qui utiliseront le test Prionics Cedi test NSP, seul test actuellement disponible dans ces laboratoires. Il est prévu que les LNR puissent, dans un avenir proche, en complément de ce test, utiliser aussi le test Prionics Cedi test type O.

Les LVD pourront chacun réaliser environ 2 000 à 4 000 analyses sérologiques par semaine (le cahier des charges initial impose que deux techniciens soient affectés aux sérologies FA par laboratoire). En fonction des besoins, il pourra être demandé aux LVD d'augmenter le nombre d'analyses à réaliser (et donc le nombre de techniciens en charge de ces sérologies). Outre les résultats des analyses sérologiques adressés au LNR, les sérums ayant fourni une réponse positive au test de dépistage seront adressés au LNR pour confirmation ou infirmation.

#### **1.4.5 Surveillance sérologique dans un élevage vacciné**

Dans les exploitations vaccinées de la zone de vaccination sera utilisée la trousse Prionics Cedi test NSP. Les analyses sérologiques seront réalisées par les LVD du réseau, sous contrôle du LNR (2 000 à 4 000 analyses sont ainsi réalisables quotidiennement).

### **1.5 PERSPECTIVES DE DECENTRALISATION DU DIAGNOSTIC DE LA FIEVRE APHTEUSE EN FRANCE**

#### **1.5.1 Disponibilité des trousses de réactifs en cas d'épizootie**

En dehors d'un contexte épizootique, il est demandé à chaque LVD de tester environ 800 sérums de bovins, de porcins et de petits ruminants par an de façon à évaluer le nombre de résultats faux positifs susceptibles d'être obtenus.

##### **En cas d'épizootie**

Après confirmation par le LNR de la présence du virus sur le territoire national (le diagnostic primaire de l'infection et le typage des virus sont du ressort du seul LNR), les laboratoires du réseau peuvent intervenir en utilisant les méthodes virologiques, moléculaires ou sérologiques précédemment décrites. Les laboratoires du réseau ont donc deux rôles potentiels :

- après le diagnostic primaire de la maladie sur le territoire national, préciser le statut « infecté/non infecté » d'animaux par détection du génome viral ;
- démontrer l'absence de circulation du virus dans une zone géographique déterminée.

##### **En cas de surveillance (post-abattage ou post-vaccination)**

Les LVD du réseau, en étroite concertation avec le LNR, effectueront les enquêtes sérologiques nécessaires à la confirmation de l'absence de la circulation virale après la mise en œuvre des mesures destinées à lutter contre la diffusion du virus (abattage associé ou non à la vaccination).

#### **1.5.2 Développement et structuration du réseau des LVD**

En vue d'assurer une capacité diagnostique suffisante et une répartition des forces du réseau, il est prévu de décentraliser, dans les LVD du réseau, les méthodes de diagnostic sérologique et moléculaire suivantes :

- analyses sérologiques visant à détecter les anticorps dirigés contre les protéines structurales des virus de type O :
  - o notamment la trousse Cedi test type O commercialisée par Prionics ;
  - o les techniques ELISA SPCE qui permettent la détection des anticorps dirigés contre les protéines structurales pour chacun des autres sérotypes ;
- détection par RT-PCR en temps réel du génome du virus de la fièvre aphteuse.

Comme pour la décentralisation de la sérologie « anticorps dirigés contre les protéines non structurales », une formation des personnels par le LNR sera nécessaire ainsi que la participation régulière des LVD à des EIL organisés par le LNR.

La capacité actuelle de chaque LVD est de 400 analyses sérologiques par jour (le test Prionics Cedi test NSP, est actuellement le seul disponible dans ces laboratoires). En cas de situation de crise grave, les LVD seront susceptibles d'augmenter leur capacité de traitement à 800 analyses/jour.

Des mesures d'anticipation devraient être considérées afin de disposer d'un nombre suffisant de trousse de diagnostic sérologique prêtes à l'emploi en cas d'épizootie, du fait notamment des délais de livraison et de la disponibilité en tests Prionics.

Le groupe de travail « fièvre aphteuse » suggère au gestionnaire de risque de définir un système de financement pour la formation de ce réseau de laboratoires et de publier un échéancier de mise en place de l'évaluation de la capacité de diagnostic.

### **1.5.3 Décentralisation du diagnostic à la ferme**

Utilisable directement à la ferme, un test chromatographique sur bandelette pour la révélation du virus (« pen-side test »), mis au point par la société Svanova et le laboratoire de Pirbright, vient récemment d'arriver sur le marché (Ferris *et al.*, 2008). Outre une nécessaire étape d'évaluation au laboratoire, il restera à voir comment intégrer ce dispositif dans le plan de lutte. Ces tests devraient être étudiés puis validés par le LNR avant tout emploi.

De sensibilité individuelle équivalente à celle des tests ELISA de capture d'antigène (84 % contre 85 % pour les ELISA) mais de spécificité individuelle moindre (99 % contre 99,9 %), ces outils pourraient permettre de confirmer, à la ferme, des suspicions cliniques dans un délai très court dans le cadre du protocole officiel de gestion des suspicions. Il est à noter que la sensibilité de ces méthodes chromatographiques qui utilisent un anticorps monoclonal est moins élevée pour les virus des sérotypes SAT. Par ailleurs, seuls les liquides vésiculaires et les lambeaux d'épithélium, pas toujours facilement accessibles, doivent être utilisés.

## **2 VACCINATION D'URGENCE CONTRE LA FIÈVRE APHTEUSE EN FRANCE ET CONSÉQUENCES SUR LA RÉCUPÉRATION DU STATUT INDEMNÉ**

---

### **2.1 CADRE RÉGLEMENTAIRE DE LA VACCINATION D'URGENCE ET CARACTÉRISTIQUES DES ANTIGÈNES ET DES VACCINS PRÉPARÉS À PARTIR DE LA BANQUE FRANÇAISE ET DE LA BANQUE EUROPÉENNE**

#### **2.1.1 Cadre réglementaire et administratif de la fourniture de vaccin pour la vaccination d'urgence contre la fièvre aphteuse en France**

La Direction générale de l'alimentation (DGAI) maintient une banque nationale d'antigènes en vue de stocker les quantités de réserve destinées aux vaccinations d'urgence, conformément à l'article 79 de la directive 2003/85/CEE du conseil du 29 septembre 2003 (cf. annexe 4 du présent rapport). Cette banque était en cours de renouvellement au cours du premier semestre 2009, à travers un appel d'offre lancé au niveau européen par le Ministère chargé de l'agriculture.

En plus de sa banque nationale, la France peut également, en cas de besoin, obtenir du vaccin contre la FA pour une vaccination préventive d'urgence à partir de la banque européenne, selon les modalités prévues aux articles 80-84 de la directive européenne (directive 2003/85/CEE). Les caractéristiques des vaccins issus de la banque française et de ceux de la banque européenne sont très similaires.

Le contexte dans lequel la France devrait faire appel à la banque européenne correspond à deux situations :

- les souches vaccinales de la banque européenne sont mieux adaptées à la souche circulant sur le terrain que les souches de la banque française ;
- le stock de la banque française est épuisé et des doses de vaccins supplémentaires sont nécessaires.

Le marché (appel d'offre) du Ministère chargé de l'agriculture pour sa banque nationale d'antigènes concerne :

- la préparation et le stockage d'antigènes contre la fièvre aphteuse : les antigènes sont conservés dans l'azote liquide, prêts à être formulés sous forme de vaccins ;
- la formulation de vaccins contre la fièvre aphteuse en cas de foyer ;
- la livraison du vaccin sur les lieux d'utilisation.

Les souches vaccinales et le nombre de doses de la banque française d'antigènes ont été définis après analyse de la situation épidémiologique de la fièvre aphteuse dans les pays bordant les frontières européennes, en accord avec les recommandations du laboratoire mondial de référence de l'IAH de Pirbright.

Les vaccins susceptibles d'être utilisés en France pour la vaccination d'urgence devront disposer, au moment de leur utilisation, d'une autorisation temporaire d'utilisation (ATU) ou d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) délivrée par l'Agence nationale du médicament vétérinaire (ANMV). Il faut souligner que l'ANMV, à l'instar des autres autorités nationales rencontrent des difficultés majeures pour obtenir la mise à jour des dossiers. Il est donc fortement recommandé que le marché public européen portant sur la fourniture d'antigènes impose l'actualisation des dossiers d'AMM au niveau européen .

### 2.1.2 Caractéristiques et performances techniques du vaccin

Le choix de la souche vaccinale qui sera utilisée dans les vaccins doit tenir compte de la parenté antigénique de cette souche avec celle circulant sur le terrain. Cette parenté antigénique entre les souches sauvage et vaccinale est définie par la valeur « r ». Une valeur « r » élevée indique que les anticorps dirigés contre la souche vaccinale auront une capacité neutralisante élevée vis-à-vis de la souche sauvage.

Le vaccin qui sera utilisé pour la mise en œuvre d'une prophylaxie médicale d'urgence correspond à un vaccin monovalent nécessitant une seule injection.

Les vaccins élaborés à partir des antigènes stockés dans la banque française doivent correspondre aux normes de la Pharmacopée Européenne (« *FMD vaccine in the European Pharmacopoeia – Monograph 63* ») et à celles de l'OIE (chapitre 2.1.1. du manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres de l'OIE).

Par ailleurs, ils doivent :

- avoir une puissance d'au moins 6 PD50 ;
- être utilisables chez toutes les espèces domestiques réceptives à la fièvre aphteuse ;
- sauf indication différente du commanditaire au moment de la formulation, être des vaccins à adjuvant huileux (émulsion double eau dans huile) ;
- permettre, dans le cadre de la surveillance post-vaccinale, une distinction entre anticorps vaccinaux et anticorps liés à une infection par le virus sauvage (stratégie DIVA) : ces vaccins seront hautement purifiés, et les données scientifiques publiées montrent qu'ils autorisent la mise en œuvre de méthodes sérologiques différenciant les anticorps post-infectieux des anticorps post-vaccinaux avec une spécificité satisfaisante.

Les conditions de stockage des antigènes et des vaccins après formulation doivent répondre à la réglementation en vigueur et en particulier aux spécifications des bonnes pratiques de fabrication.

### 2.1.3 Conditionnement et livraison

En cas de foyer de fièvre aphteuse, le conditionnement (nombre de doses équivalent bovins par flacon) sera précisé au moment de la commande par la Direction générale de l'alimentation.

Les vaccins dont les antigènes sont stockés et prêts à être formulés seront livrés dans un délai maximal de six jours à compter de l'ordre de fabrication d'urgence émanant de la Direction générale de l'alimentation :

- le délai pour la formulation des antigènes sous forme de vaccin ne devra pas excéder 4 jours ouvrables à compter de l'ordre de fabrication d'urgence ;
- l'expédition des vaccins dans les départements (directions départementales des services vétérinaires) désignés par la Direction générale de l'alimentation ne devra pas excéder 48 heures pour les vaccins formulés à partir des antigènes.

La livraison sera réalisée sous régime du froid positif (+4°C).



## **2.2 STRATÉGIE D'UTILISATION DE LA VACCINATION D'URGENCE AVEC CONSERVATION DES ANIMAUX : « VACCINATION PREVENTIVE D'URGENCE »**

### **2.2.1 Réglementation**

L'utilisation de la vaccination préventive d'urgence en France est soumise à la réglementation européenne telle que définie dans la directive 2003/85/EC (*cf.* annexe 4 du présent rapport).

Selon l'article 50 de cette directive, la vaccination d'urgence pourrait être mise en œuvre, en France, si au moins un foyer de fièvre aphteuse était détecté sur le territoire ou si des pays voisins touchés représentaient une menace épidémiologique, eu égard à leur situation géographique.

Le cas échéant, la zone de vaccination créée devrait être, selon les paragraphes un et deux de l'article 52 de la directive, ceinturée par une zone de surveillance d'une largeur minimale de dix kilomètres.

A la suite de la décision de mise en œuvre d'une prophylaxie médicale d'urgence, trois phases successives sont définies réglementairement avant la récupération d'un statut d'Etat indemne, durant lesquelles des mesures réglementant les mouvements des animaux et de leurs produits entrent en vigueur dans les zones de surveillance et de vaccination qui doivent être définies préalablement.

Ces trois phases sont présentées et explicitées dans le chapitre 2.2.3.5 « *Suivi post-vaccinal* ».

### **2.2.2 Principes**

La vaccination préventive d'urgence correspond à la mise en œuvre d'une prophylaxie médicale, les animaux des exploitations vaccinées reconnues non infectées étant conservés en principe pendant toute la durée de leur vie économique. Toutefois, la vaccination suivie de l'abattage des animaux vaccinés dite « *suppressiv*e » (ou abattage systématique différé), prévue à l'article 53 de la directive européenne, ne doit pas être écartée de façon systématique et radicale.

#### **2.2.2.1 Avantages de la vaccination préventive d'urgence**

Les avantages procurés par la vaccination préventive d'urgence sont de trois types : sanitaires, sociétaux et économiques :

- sanitaires :
  - la vaccination diminue le risque d'infection des animaux sensibles par le virus en cas d'épizootie ;
  - elle limite la multiplication du virus et son excrétion chez les animaux infectés et par conséquent entraîne un ralentissement de la vitesse de propagation de l'épizootie ;
  - elle a pour effet une diminution du nombre de foyers cliniques et par conséquent, de la production du virus et de sa diffusion.
- sociétaux :
  - la vaccination permet de diminuer le nombre d'animaux abattus par abattage préventif et diminue en conséquence le traumatisme engendré par ce type de mesure pour le public et les éleveurs, ainsi que le retentissement médiatique.
- économiques : en fonction de l'ampleur de l'épizootie.

### 2.2.2.2 Inconvénients de la vaccination préventive d'urgence

Trois catégories d'inconvénients liés à la vaccination préventive d'urgence peuvent être recensés : sanitaires, pratiques et économiques :

- sanitaires :
  - durant la première dizaine de jours, la vaccination préventive d'urgence a une efficacité moindre dans la limitation de la propagation de l'agent infectieux en comparaison de l'abattage préventif (la protection conférée par la vaccination débute vers le septième jour, bien qu'une diminution de la diffusion du virus ait pu être observée dès le quatrième jour post-vaccination avec des vaccins à haute charge antigénique) ;
  - il subsiste un risque de propagation du virus par les équipes de vaccination, mais il existe un risque potentiel également avec les équipes d'abattage.
- pratiques :
  - d'importants moyens doivent être mis en œuvre afin que soient réalisés la vaccination et le suivi sérologique post-vaccinal ;
  - le recouvrement du statut indemne de l'Etat, après vaccination, requiert un nombre très important de sérologies ;
  - l'interprétation des résultats peut être sujette à des controverses au niveau européen et international.
- économiques :
  - en application du code sanitaire de l'OIE, les mesures de **restrictions commerciales sont applicables durant six mois** sur les animaux vaccinés et leurs produits, pour les échanges internationaux. Il est rappelé que ces restrictions commerciales, en cas de vaccination suppressive (suivie d'un abattage systématique des animaux vaccinés), ne sont en vigueur que durant une période de trois mois après abattage du dernier animal vacciné. D'un point de vue économique, la réduction de ce délai à une durée de trois mois serait garantie la possibilité de mise en œuvre d'une prophylaxie médicale préventive d'urgence (cf. 3.2 « *Recommandations, Propositions d'amélioration du dispositif de lutte* ») ;
  - un coût important est engendré par la mise en œuvre de la vaccination et par la nécessité de dépistages sérologiques post-vaccinaux. Cependant, des contrôles sérologiques soient également requis en l'absence de vaccination.

### 2.2.3 Stratégie générale

#### 2.2.3.1 Commande des trousse de tests diagnostiques et de la mise en fabrication du vaccin

L'article 14 de la directive (cf. annexe 4 du rapport) prévoit que dès l'apparition du premier foyer et après identification de la souche en cause, la commande de la mise en fabrication du vaccin approprié doit être réalisée, en vue de mettre en œuvre la prophylaxie médicale d'urgence sur une zone d'une superficie au moins équivalente à la zone de surveillance, définie par un rayon de dix kilomètres autour du foyer et pour les espèces animales visées.

Le vaccin spécifique nécessaire sera, dans tous les cas, mis en production dès l'identification et la caractérisation antigénique du virus en cause. Cette mise en fabrication automatique dès la notification du foyer et l'identification du virus ne préjuge pas du recours ou non à la vaccination pour contrôler la maladie, comme il est expliqué au point 2.2.3.2 ci après. En outre, il conviendra d'associer à la commande de ce vaccin, la commande de trousse de diagnostic et de dépistage (cf. 1.1.2.2.) correspondant au sérotype du virus circulant sur le terrain et au vaccin utilisé le cas échéant.

### 2.2.3.2 Période pré-décisionnelle

Il est proposé une période d'observation d'une durée de cinq à six jours après la mise en évidence du premier foyer de fièvre aphteuse et avant toute décision de vaccination (stratégie médicale) ou de non vaccination (stratégie sanitaire). Cette période correspond, de fait, au temps de fabrication du vaccin (formulation du vaccin : quatre jours et livraison du vaccin : 48 h maximum).

Elle doit être mise à profit pour observer l'évolution de l'épizootie et réaliser l'enquête sur la situation. Les éléments épidémiologiques ainsi collectés permettront la décision de mise en œuvre ou non d'une prophylaxie médicale.

Quelles que soient les mesures de gestion qui seront entreprises, les DDSV des départements concernés sont chargées de la préparation d'un plan de vaccination, prenant en considération les principes retenus dans la directive européenne (paragraphe 3 de l'article 14, cf. annexe 4 du rapport). Compte tenu des urgences de gestion en situation de suspicion de FA, une équipe d'experts sur le sujet pourraient apporter son aide au DDSV.

Durant cette même période doit débuter une politique d'abattage sanitaire stricte, concernant par ordre de priorité :

- les exploitations infectées (dans les 24 heures maximum) ;
- les exploitations contacts ou certains animaux de ces exploitations ;
- les exploitations estimées le plus à risque dans une zone d'un kilomètre autour du foyer (en fonction des moyens d'abattage disponibles, des prédictions de dispersion du virus suivant les conditions météorologiques et du risque d'amplification).

### 2.2.3.3 Décision de vaccination

Au terme de la période d'observation de cinq à six jours, la décision de vaccination (stratégie médicale) ou de non vaccination (stratégie sanitaire) doit être prise par le gestionnaire.

#### Critères de décision

Plusieurs critères de décision (précisés dans l'article 50 et l'annexe X de la directive européenne, cf. annexe 4 du rapport) doivent être pris en considération :

- la période écoulée entre l'infection et la détection du ou des foyer(s) ;
- le niveau de l'incidence quotidienne de la maladie correspondant aux phases de développement de l'épizootie ;
- la densité d'élevages de la zone ;
- la répartition géographique des foyers (éparpillement ou regroupement des foyers) ;
- la diffusion de l'agent pathogène :
  - o l'enquête épidémiologique aura permis de collecter des informations sur la diffusion du virus ;
  - o l'importance des mouvements animaux avant la mise en place des mesures ;
- les moyens disponibles pour l'abattage, le nettoyage et la désinfection, la vaccination d'urgence et les restrictions de mouvements dans la zone considérée ;
- l'opinion publique et la pression politique ;
- les espèces concernées ;
- la date estimée de l'émergence du virus.

### **Modalités de décision**

La décision de vaccination d'un Etat infecté de fièvre aphteuse est soumise à validation de l'autorité européenne, sous réserve que ce dernier remplisse les conditions de vaccination précisées dans l'article 50 de la directive européenne (cf. annexe 4 du rapport).

#### **2.2.3.4 Mise en œuvre de la vaccination préventive d'urgence**

A la suite d'une validation par la Commission européenne, l'Etat pétitionnaire peut débiter une prophylaxie médicale. Deux zones concentriques sont définies à partir des cheptels vaccinés correspondant à une zone de vaccination (grande zone de vaccination ci-après) et à une zone de surveillance.

#### **Zone de vaccination**

- une « grande zone de vaccination » est définie, incluant tous les cercles de vaccination autour de chaque foyer ;
- la durée de campagne de vaccination doit être la plus courte possible ;
- la prophylaxie médicale sera conduite et organisée de telle sorte que les équipes d'abattage et de vaccination ne se croisent pas. Les mesures de bio-sécurité en vigueur à l'entrée et à la sortie des élevages doivent être correctement appliquées (cf. 3.2 « *Recommandations, propositions d'amélioration du dispositif de lutte* »).

#### **Animaux à vacciner**

- une **analyse de risque** doit être conduite, qui permettra de déterminer le choix des espèces et des exploitations à vacciner ;
- les **bovins âgés de plus de deux semaines**, correspondant à des animaux réceptifs et très sensibles à la fièvre aphteuse, seront vaccinés par une seule injection ;
- la décision de vaccination des autres espèces répond à des **critères de priorisation**, tenant compte de la réceptivité et de la sensibilité des espèces, ainsi que de la situation et du type d'élevage auquel les animaux de l'espèce considérée appartiennent (intensif ou non) ;
- les mouvements des animaux de la grande zone de vaccination (vaccinés ou non) et de leurs produits sont soumis à des contrôles définis réglementairement.

#### **Zone de surveillance**

- une zone « tampon » de surveillance de 10 km est circonscrite autour de la grande zone de vaccination ;
- la vaccination est interdite au sein de cette zone ;
- les mouvements des animaux de la zone et de leurs produits sont soumis à des contrôles définis réglementairement ;
- la surveillance s'organise selon deux niveaux :
  - o clinique : elle concerne toutes les exploitations de toutes les espèces de la zone (ovins, caprins, bovins, porcins) ;
  - o sérologique : tous les troupeaux d'ovins et caprins sont soumis à des prélèvements selon un protocole d'échantillonnage considérant un taux de prévalence limite (TPL) inférieur ou égal à 5 % et un risque d'erreur de 5 %. Le nombre d'animaux à prélever en fonction de la taille des troupeaux est indiqué dans le tableau 9.

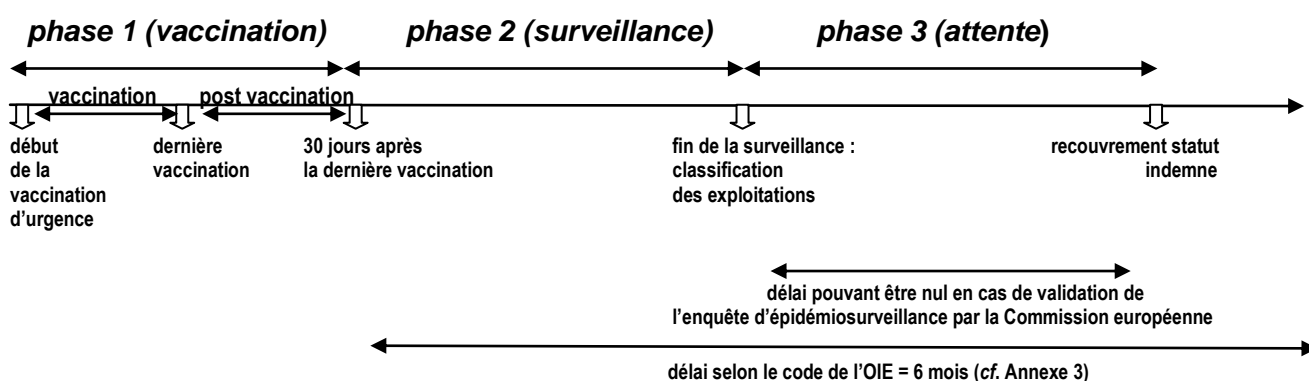
**Tableau 9 : Taille des échantillons dans une population finie (taux de sondage supérieur à 10 %) en fonction de la taille de la population, pour un TPL de 5 % et un risque d'erreur de 5%, (Toma *et al.*, 2001)**

Nombre de têtes du troupeau	Nombre de prélèvements à réaliser pour l'échantillonnage
20	20
50	36
100	45
200	52
300	54
400	56
500	57

### 2.2.3.5 Suivi post-vaccinal

Le suivi post-vaccinal se divise en trois phases (cf. 2.2.1 « Réglementation » et annexe 4 du rapport) présentées dans la figure 2.

**Figure 2 : Découpage en trois phases du suivi post-vaccinal**



#### La phase 1 : vaccination

Elle débute à la mise en œuvre de la vaccination d'urgence et s'achève au terme d'une période de 30 jours minimum après la fin de celle-ci (cf. figure 2). Les mesures réglementaires s'appliquant durant cette période et relatives aux mouvements des animaux vaccinés et de leurs produits sont définies dans l'article 54 de la directive européenne (cf. annexe 4 du rapport). Les mesures réglementaires définies pour la phase 1 évoluent durant cette phase, ainsi que spécifié dans l'article 55 de la directive (cf. annexe 4 du rapport).

#### La phase 2 : surveillance clinique et sérologique dans la zone de vaccination et dans la zone de surveillance

Elle commence après la phase 1 et se termine à la fin de l'enquête épidémiologique visant la classification des exploitations.

Par ailleurs, l'article 56 de la directive précise les éléments nécessaires à la conduite de l'enquête clinique et sérologique mise en œuvre dans la zone de vaccination et l'article 57 (cf. annexe 4 du rapport), les éléments à prendre en considération pour le classement des exploitations de la zone.

En cas de découverte de nouveaux foyers, le processus est reporté d'autant.

Il serait envisageable que cette enquête, en France, soit réalisée en tenant compte des critères suivants (illustrés par la figure 3) :

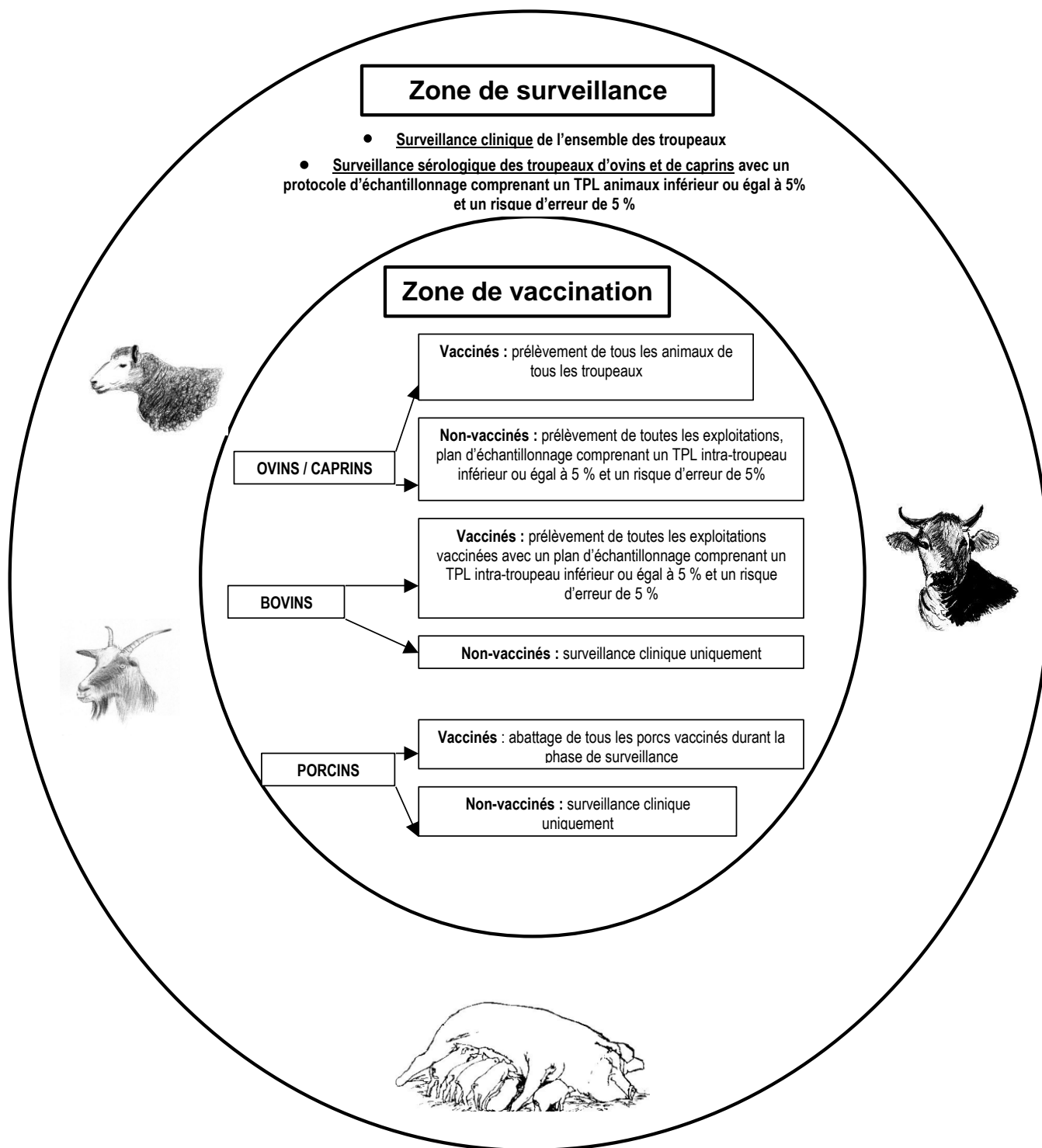
***Dans la zone de vaccination :***

- les troupeaux ovins et les caprins :
  - **Vaccinés** : surveillance sérologique consistant en un prélèvement de tous les animaux de tous les troupeaux (dépistage systématique) ;
  - **Non vaccinés** : surveillance sérologique consistant en un contrôle de tous les troupeaux avec un protocole d'échantillonnage prenant en compte un TPL intra-troupeau inférieur ou égal à 5 % et un risque d'erreur de 5 % ;
- les bovins :
  - **Vaccinés** : surveillance sérologique assurée par un contrôle de toutes les exploitations vaccinées avec un plan d'échantillonnage prenant en compte un TPL intra-troupeau inférieur ou égal à 5 % et un risque d'erreur de 5 % ;
  - **Non vaccinés** : surveillance clinique uniquement, sans surveillance sérologique ;
- les porcins :
  - **Vaccinés** : pas de surveillance clinique ni sérologique : tous les animaux vaccinés sont abattus (à adapter en fonction du type d'élevage majoritaire de la région considérée) ;
  - **Non vaccinés** : surveillance clinique uniquement, sans surveillance sérologique.

***Dans la zone de surveillance :***

- une **surveillance clinique** devrait être conduite dans **tous les troupeaux** (bovins, ovins, caprins, porcins) ;
- une **surveillance sérologique** devrait être mise en œuvre dans les troupeaux d'**ovins et de caprins** avec un protocole d'échantillonnage considérant un TPL animaux inférieur ou égal à 5% et un risque d'erreur de 5 %.

Figure 3 : Critères de l'enquête épidémiologique post-vaccinale pouvant être pris en considération en France



### **Détermination du statut d'infection d'une exploitation :**

Selon l'article 57 de la directive (cf. annexe 4 du rapport), à l'issue de la phase 2 de surveillance, les troupeaux pourraient être classés en quatre catégories :

- (1) exploitations détenant un animal qui **était suspect d'être infecté et pour lequel la présence du virus de la fièvre aphteuse a été confirmée** ;
- (2) exploitations **détenant un animal suspect** ;
- (3) exploitations détenant un animal suspecté d'avoir été infecté **antérieurement** mais pour **lequel l'absence du virus de la fièvre aphteuse a été confirmée** ;
- (4) exploitations **indemnes**.

Pour un animal **qui avait été infecté (anciennement infecté puis guéri)**, la directive européenne prévoit de sacrifier tous les animaux du troupeau auquel ce dernier appartient. Ainsi les catégories (1) et (3) sont soumises à l'abattage de tous les animaux du troupeau (cf. article 57 de la directive). La catégorie (2) est soumise au protocole décrit ci-dessous (cf. 2.3 « *Protocole de suivi visant le recouvrement du statut indemne* »).

### **La phase 3 : période de durée variable jusqu'à recouvrement du statut indemne (cf. ci dessous 2.2.3.6)**

Le délai, à la suite de l'enquête épidémiologique conduite dans les zones de surveillance et de vaccination, pour la récupération du statut indemne d'un Etat, varie selon que le texte réglementaire pris en considération est celui de la Commission européenne (ce délai peut être nul) ou celui de l'OIE (code des animaux terrestres).

#### **2.2.3.6 Délais pour le recouvrement du statut indemne**

##### **Code de l'OIE**

Selon le code de l'OIE (cf. annexe 3), le recouvrement du statut indemne a lieu :

- **sans vaccination** : au minimum trois mois après la dernière apparition d'un foyer ;
- **avec la vaccination suppressive** : au minimum trois mois après l'abattage du dernier animal vacciné ;
- **avec la vaccination préventive d'urgence** : au minimum six mois après la dernière apparition d'un cas ou d'un foyer ou la fin de la vaccination d'urgence et après la fin des enquêtes cliniques et sérologiques.

La vaccination préventive d'urgence est donc, à ce jour, une possibilité qui doit être étudiée selon un rapport coût/bénéfices lié au délai de non commercialisation des productions concernées. Le groupe de travail recommande (cf. 3.2 « *Propositions d'amélioration du dispositif de lutte* ») pour faciliter l'emploi de la vaccination préventive d'urgence :

- soit une régionalisation du territoire français lors de la mise en œuvre de ce type de prophylaxie, ce qui, de fait, ramène pour le reste du territoire national le temps d'attente à trois mois ;
- soit, en l'absence de régionalisation, une diminution de ce temps d'attente par une réduction du délai pour le recouvrement du statut indemne à une période identique à celle en vigueur pour la vaccination suppressive, c'est-à-dire trois mois.

##### **Commission européenne**

La Commission (CPCASA<sup>2</sup>) peut, selon les dispositions de l'article 62 de la directive 2003/85/CE (cf. annexe 4), par dérogation aux règles de l'OIE, anticiper le recouvrement du statut indemne à la suite de la vaccination, à condition que les surveillances sérologique et

<sup>2</sup> CPCASA : Comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale.



clinique et la classification des troupeaux aient été effectuées et confirment l'absence d'infection virale. Ceci se traduit par une suspension plus rapide des restrictions appliquées à la zone de vaccination. Les pays exportateurs demeurent toutefois dépendants des choix des pays importateurs.

## 2.3 PROTOCOLE DE SUIVI VISANT LE RECOUVREMENT DU STATUT INDEMNÉ

En cas de mise en œuvre d'une vaccination préventive d'urgence, il serait nécessaire, après la disparition des signes cliniques (un mois après le dernier foyer ou la dernière vaccination), de **démontrer que le virus de la FA ne circule plus.**

### 2.3.1 Définition du contexte

La situation pour laquelle le protocole suivant est proposé correspond à celle d'une enquête en période post-épizootique de fièvre aphteuse (un mois après l'abattage et/ou la dernière vaccination), dans une zone où la vaccination préventive d'urgence a été utilisée pour circonscrire l'épizootie, dans le but de recouvrer le statut indemne de l'Etat.

Lors de l'analyse des prélèvements de sérums réalisée après une épizootie, il est logique, compte tenu, d'une part, des valeurs intrinsèques des méthodes utilisées (sensibilité et spécificité individuelles) et d'autre part, du nombre d'analyses effectuées (plusieurs milliers voire dizaines de milliers), d'obtenir un certain nombre de réactions positives parmi lesquelles figureront des réactions faussement positives (non spécifiques).

Dans certains cas, la démonstration d'une réaction non spécifique pourrait être faite, comme le suggère la phrase suivante contenue dans la définition européenne d'un foyer de fièvre aphteuse (cf. annexe 2 « Définitions de la directive européenne 2003/85/EC », point 5.a) : *« pour autant qu'une vaccination précédente ou des anticorps maternels résiduels, des réactions non spécifiques puissent être exclus comme cause possible de séropositivité »* . La(les) situation(s) pour laquelle(lesquelles) une réponse non spécifique pourrait être considérée, doi(ven)t être explicitée(s) à la Commission par l'Etat membre concerné.

Le GT FA propose que l'addition des critères suivants puisse être considérée comme définissant une réaction non spécifique :

- ◆ l'(les) animal(aux) suspect(s) ayant donné lieu à une réponse positive au dépistage de laboratoire appartient(nent) à un élevage pour lequel **aucun lien épidémiologique direct** avec un foyer de FA n'a pu être mis en évidence ;
- ◆ **et le nombre de réponse(s) positive(s)** obtenu au sein du cheptel dépisté correspond à :
  - une seule réponse positive dans un troupeau comprenant jusqu'à cent têtes ;
  - un pourcentage de réponses positives proche de ou inférieur à 1% dans un troupeau de plus de cent têtes ;
- ◆ **et** la(les) réponse(s) positive(s) obtenue(s) au test de dépistage est(son)t d'un niveau/d'une intensité **faible**.

### 2.3.2 Objectif du protocole de suivi post-vaccinal

Il est admis par la directive européenne que certaines réponses définies par des critères précis peuvent correspondre à des réponses faussement positives (cf. ci-dessus 2.3.1 définition du contexte).

Les résultats positifs correspondent donc, selon la réglementation européenne :

- soit à des animaux indemnes (FP = faux-positifs), il s'agit alors d'un défaut de spécificité individuelle du test ;
- soit à des animaux ayant été infectés antérieurement (VP = vrais positifs).

Toujours selon le texte européen, si un ou plusieurs animaux d'un troupeau fourni(ssen)t une réponse spécifique positive au test de dépistage effectué pour la fièvre aphteuse, le troupeau doit être considéré comme infecté et être éliminé. (cf. article 57 : « *Les exploitations détenant au moins un animal des espèces sensibles suspecté d'avoir été infecté lors de précédents contacts avec le virus aphteux, mais dans lesquelles des examens supplémentaires effectués sur l'ensemble des animaux des espèces sensibles présents dans l'exploitation ont confirmé l'absence du virus aphteux, sont soumises au moins aux mesures suivantes :*

a) *les animaux des espèces sensibles de l'exploitation sont :*

1) *soit mis à mort et leurs carcasses transformées,*

2) *soit répartis en catégories et*

i) *les animaux ayant présenté des résultats positifs au moins à l'un des tests agréés décrits à l'article 56, paragraphe 3 sont mis à mort et leurs carcasses transformées, et*

ii) *le reste des animaux des espèces sensibles de l'exploitation sont abattus dans les conditions fixées par les autorités compétentes ;*

b) *nettoyage et désinfection des exploitations conformément à l'article 11 ;*

c) *repeuplement de l'exploitation conformément à l'annexe V. »)*

Cependant, selon les experts du GT « Fièvre aphteuse » l'objectif strictement scientifique d'un protocole de suivi post-vaccinal consisterait à différencier les troupeaux au sein desquels le virus de la fièvre aphteuse est en circulation récente de ceux au sein desquels il ne circule plus. L'éventualité d'une réponse spécifique positive pour un (des) animal(aux) issu(s) d'un troupeau dont les éléments épidémiologiques et les analyses complémentaires attesteraient de l'absence de circulation virale devrait être prise en considération afin de ne pas procéder à l'abattage systématique de tous les animaux d'un tel cheptel.

**Le GT propose de ne pas considérer comme foyer de fièvre aphteuse les élevages dans lesquels un ou plusieurs animaux (a)ont fourni une réponse spécifique positive mais pour lesquels il aura été prouvé que le virus n'est pas en circulation récente.**

Ainsi, l'objectif du protocole de suivi post-vaccinal consiste à différencier les réponses faussement positives des réponses réellement positives en vue :

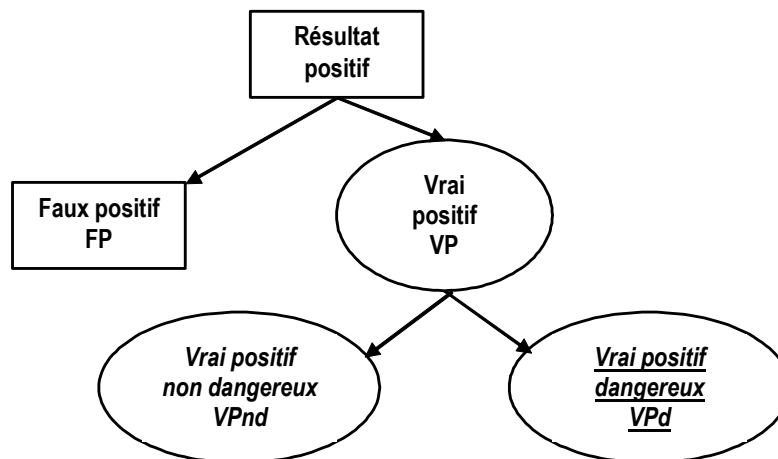
- au sens de la directive européenne, de déclarer un foyer de FA ;
- au sens des experts du GT, de distinguer au sein de(s) l'élevage(s) ayant fourni une (des) réponse(s) positive(s) au test de dépistage effectué ceux pour lesquels le virus est en circulation récente et qui constitueraient des foyers de FA.

D'un point de vue épidémiologique, il conviendrait alors de distinguer parmi les animaux ayant été infectés (VP) deux catégories d'animaux en fonction de leur dangerosité pour la collectivité (la figure 4 présente ces catégories d'animaux) :

- les animaux encore infectés et pouvant être excréteurs du virus, considérés comme dangereux pour la collectivité (**Vrais Positifs dangereux = VPd**) ;

- les animaux ayant été infectés par le passé mais n'étant plus porteurs du virus au moment du contrôle et considérés comme non dangereux pour la collectivité (**Vrai Positifs non dangereux = VPnd**).

Figure 4 : Représentation schématique des catégories d'animaux pouvant présenter un résultat positif après vaccination à la suite d'un contrôle sérologique



L'objectif strictement scientifique du protocole proposé consiste alors en la distinction, parmi les animaux ayant fourni des résultats positifs au test de dépistage, de ceux correspondant à des **animaux dangereux (VPd)** et de ceux ne présentant **pas de danger pour la collectivité (FP et VPnd)**.

### 2.3.3 Définition du protocole de suivi post-vaccinal

Le protocole comprend une ou deux phases selon l'objectif considéré :

- la première phase correspond aux différentes analyses effectuées sur le même sérum (analyses complémentaires) pour tenter d'identifier autant que possible les FP ;
- la deuxième phase n'est appliquée qu'à l'issue de la première phase, s'il n'a pas été possible de classer le sérum dans la catégorie FP.

Cette deuxième phase implique des prélèvements et analyses complémentaires sur d'autres animaux du même troupeau.

#### 2.3.3.1 Description de la première phase

A l'issue de la série de tests mise en œuvre par le LNR sur le(s) sérum(s) initial(aux) (animal positif isolé dans un troupeaux comportant moins de cent têtes ou moins d'1% d'animaux positifs dans un troupeaux de plusieurs centaines de bêtes), si le résultat est

- négatif, l'interprétation est : sérum « **faux positif** » (**FP**) donc le résultat est négatif ;
- positif ou douteux, un autre prélèvement de sang est demandé, une semaine plus tard, sur le même animal. Une nouvelle série d'analyses est conduite au LNR sur ce(s) sérum(s).
  - si le résultat obtenu est négatif, l'animal est déclaré « **faux positif** » ;
  - si le résultat obtenu est positif, l'animal est déclaré « **à risque** ».

**Le texte de la directive européenne recommande à ce stade d'abattre les troupeaux au sein desquels des animaux « à risque » auront été détectés.**

### 2.3.3.2 Description de la seconde phase

Le GT propose, dans le but d'éviter un abattage systématique des troupeaux, si, à l'issue de la première phase, il n'a pas été possible de classer le(s) sérum(s) dans la catégorie des « **faux positifs** » **FP**, d'appliquer les mesures suivantes pour l'(es) animal(aux) à risque :

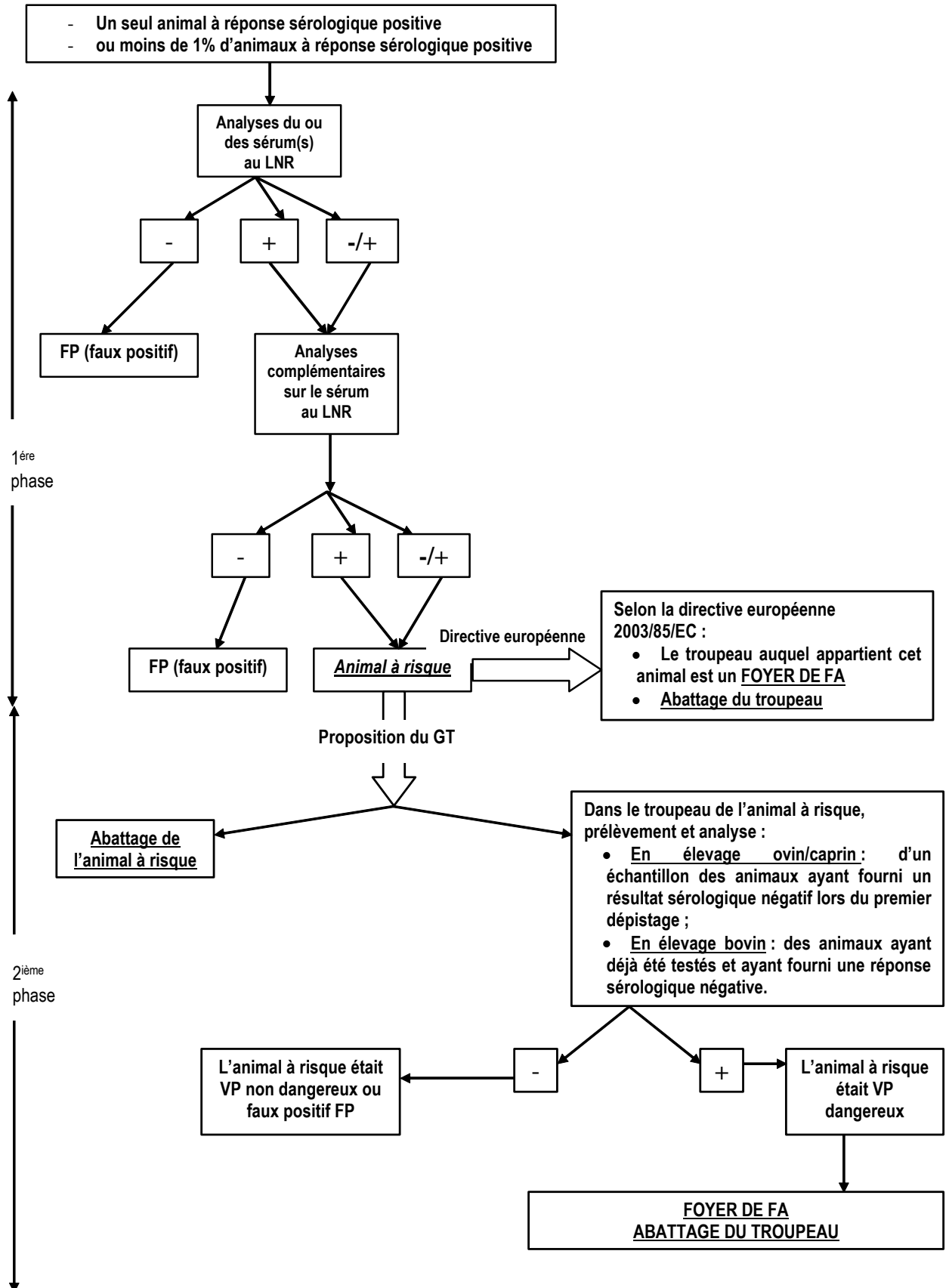
- abattage de(s) l'animal(aux) concerné(s) et destruction de(s) (sa) carcasse(s) le plus rapidement possible ;
- surveillance clinique de l'exploitation ;
- prélèvements sanguins (au minimum 15 jours après le précédent prélèvement) sur :
  - o un échantillon d'animaux dans les élevages ovins/caprins au sein desquels tous les animaux ont, en principe, déjà fait l'objet d'un prélèvement et d'une analyse avec des résultats négatifs antérieurement ;
  - o au minimum, les animaux ayant déjà été testés dans les élevages bovins (cf. le protocole de suivi implique un échantillonnage pour la surveillance sérologique des troupeaux bovins) et, si la taille du troupeau n'est pas trop importante, l'ensemble des animaux du troupeau.
- L'analyse sérologique de ces prélèvements consiste, à l'instar de la première phase, en la mise en œuvre de deux tests Prionics Cedi test NSP (société Prionics) successifs puis, en cas de nécessité, d'un test Svanovir (société Svanova).
- Il est rappelé que l'Etat doit garantir l'absence stricte de sortie de tout animal durant cette période.

L'interprétation des résultats des analyses de cette deuxième phase pourrait être la suivante (la figure 5 résume ce protocole) :

- soit, tous les résultats de ces analyses sont négatifs et cela signifie que le virus n'a pas circulé récemment dans l'élevage. Il est possible d'exclure la dangerosité de l'animal initialement testé, il s'agissait d'un « **Vrai positif non dangereux** » **VPnd (voire d'un faux positif (FP))**.  
Une deuxième analyse, dix jours plus tard, de tous les animaux, pourrait être préconisée par principe de précaution.
- Soit, des résultats sont trouvés positifs (sur des animaux ayant antérieurement présenté des résultats négatifs) attestant de séroconversion(s) au sein de l'exploitation et l'on peut alors considérer que le virus est en circulation récente dans cet élevage.

L'animal ayant conduit à l'application de ce protocole peut alors être considéré comme un « **vrai positif dangereux** » **VPd** et l'élevage auquel il appartient doit être traité comme un foyer de FA.

Figure 5 : Protocole à appliquer pour déterminer le statut d'un animal dont le sérum est trouvé positif à la suite d'une enquête pour le recouvrement du statut indemne de F.A.



### 3 RECOMMANDATIONS D'AMELIORATION DU DISPOSITIF DE LUTTE CONTRE LA FIEVRE APHTEUSE EN FRANCE

---

Les recommandations d'amélioration du dispositif de lutte contre la fièvre aphteuse en France portent sur les domaines de la recherche appliquée, du diagnostic, de la démarche administrative relative au vaccin, de l'entraînement aux situations d'urgence et d'action auprès des instances internationales.

#### 3.1 PROPOSITIONS DE RECHERCHE APPLIQUEE EN MATIERE DE FIEVRE APHTEUSE

Des projets de recherche appliquée devraient être développés dans le cadre du LNR ou au niveau européen afin :

- de développer des méthodes sérologiques permettant de détecter les anticorps induits par les protéines structurales des six autres types (A, C, SAT1, 2, 3 et Asia1), l'objectif étant de pouvoir disposer, pour les six autres types, de méthodes sérologiques aussi sensibles et spécifiques (et décentralisables) que celle disponible pour le type O ;
- de développer des méthodes d'analyse du profil sérologique d'un animal (technologies « luminex » ou « puces protéiques » par exemple) qui permettent de déterminer en une seule manipulation le répertoire des anticorps d'un même animal contre tous les antigènes d'un seul virus ;
- d'étudier des trousse miniaturisées performantes permettant la détection des antigènes ou du génome viral à la ferme (exemple des trousse RT-PCR en temps réel portables ou des tests antigène sur bandelettes) ;
- de développer des méthodes de caractérisation génétique rapide (séquençage haut débit), l'objectif étant de disposer d'outils de traçabilité moléculaire qui seraient utiles pour étudier les variations génétiques des différentes souches de virus circulant dans une région donnée, au cours d'une épizootie ;
- de développer des études sur les caractéristiques du portage chez les ruminants domestiques (fréquence, degré de contagiosité des animaux porteurs sains, nature des interactions virus – tissus, risque de transmission, etc.) ;
- d'améliorer les techniques de vaccinologie en :
  - ◆ étudiant les méthodes alternatives à l'expérimentation animale pour évaluer l'efficacité des vaccins, l'objectif étant de disposer d'informations sur les performances des vaccins qui ne nécessitent pas le recours à des infections expérimentales sur espèces cibles (comme c'est le cas aujourd'hui) mais qui puissent être obtenues *in vitro* ;
  - ◆ développant des vaccins marqueurs ; en effet, les vaccins à virus inactivés purifiés actuellement utilisés ne permettent pas une différenciation systématique entre animaux vaccinés et animaux infectés et induisent un nombre non négligeable de faux positifs.  
Des projets de vaccins recombinants vectorisés (par exemple, vaccin à vecteur adénovirus exprimant des transgènes de la capsid du virus de la fièvre aphteuse) ou de vaccins chimères (virus de l'encéphalomyocardite virale dans le génome duquel est insérée la partie P1 qui code les protéines de la capsid du virus de la fièvre aphteuse) sont en cours de développement ;

- ◆ recherchant des vaccins capables d'induire une protection immunitaire plus rapide (cf. utilisation des vaccins dans une situation d'urgence et non simplement préventive).

## 3.2 PROPOSITIONS D'AMÉLIORATION DU DISPOSITIF DE LUTTE

### 3.2.1 Définition de l'emploi de tests rapides

On entend par « test rapide » tout test qui peut être effectué sur le terrain (« penside test »). Il n'est pas nécessaire d'envoyer les prélèvements au laboratoire, les résultats sont obtenus dans l'heure suivant la mise en œuvre du test. L'utilisation de tests rapides pour le diagnostic de fièvre aphteuse devrait répondre à des modalités réglementaires clairement définies, serait restreinte aux foyers secondaires de FA et constituerait une aide importante en termes de rapidité. Avant toute utilisation, ces tests nécessitent une validation.

Toutefois, avant la mise sur le marché d'un tel outil diagnostique, la définition de son usage réglementé devrait être proposée par un groupe d'experts travaillant auprès du gestionnaire. Ainsi, deux points majeurs devraient être explicités :

- les modalités officielles d'autorisation ;
- les conditions d'usage de ces trousseaux.

**Aspects positifs :** rapidité et décentralisation de l'analyse, surtout valable en cas d'épizootie (présence de foyers cliniques multiples). L'utilisation de ces trousseaux permettrait l'abattage précoce des troupeaux infectés sans attente du retour des analyses du laboratoire.

**Aspects négatifs :** moins sensibles que la RT-PCR conventionnelle ou en temps réel ou l'isolement viral, ces tests rapides ne sont applicables que sur des lésions vésiculaires riches en virus. Ils sont donc inadaptés aux cas sub-cliniques, aux animaux en période d'incubation et aux animaux "porteurs".

Par ailleurs, rappelons qu'aucun test rapide pour le diagnostic de la FA n'a encore été validé par l'OIE.

Enfin, en l'absence d'usage réglementé de cet outil, un risque de perte d'information existe.

**En conclusion, ces méthodes de diagnostic rapide ne devraient être employées que :**

- dans le but d'identifier des foyers dans un contexte d'épizootie déjà confirmé par le LNR ;
- dans un souci de réduire le nombre d'élevages dans lesquels des abattages par excès ont été effectués (23 % en Angleterre en 2001) (Ferris *et al.* 2006) ;
- par des vétérinaires habilités et agréés et selon des modalités à préciser dans un cadre réglementaire défini.

### 3.2.2 Amélioration des capacités diagnostiques des LVD

Des techniques de dépistage, autres que le test Prionics Cedi test NSP actuellement le seul utilisé en pratique par les LVD agréés, devraient être décentralisées à certains LVD (au moins).

Des réflexions sont en cours, avec la DGAI, pour la décentralisation des méthodes de RT-PCR en temps réel dans les laboratoires vétérinaires départementaux (au minimum dans les cinq laboratoires déjà agréés pour la sérologie FA) ; cette démarche devrait être encouragée.

La capacité des laboratoires vétérinaires départementaux (400 à 800 tests par an) semble actuellement minimale pour établir un nombre potentiel de faux positifs générés par les tests de dépistage en l'absence de suspicion de fièvre aphteuse sur le territoire national ou dans un pays limitrophe.

A l'heure actuelle, il semble que l'objectif prioritaire des EIL (Essais inter-laboratoires : LVD et LNR) corresponde à un entraînement des laboratoires mais non à l'établissement « *d'un bruit de fond* », c'est-à-dire du nombre de réponses faussement positives enregistrées par les laboratoires de dépistage en l'absence de tout événement aphteux (capacités intrinsèques du test de dépistage). Il est recommandé que ce double objectif soit instauré et que soient diffusés et valorisés par des publications scientifiques les résultats des tests effectués annuellement par les LVD et le LNR.

### **3.2.3 Prévision d'une autorisation administrative de vaccin**

Compte tenu des difficultés mentionnées au § 2.1.1, il est impérieux que la procédure européenne centralisée soit retenue pour autoriser la mise sur le marché des vaccins. Ce point devrait constituer une des clauses du cahier des clauses techniques particulières lors de la passation des appels d'offres.

### **3.2.4 Entraînement à la situation d'urgence**

La mise en place des mesures nationales adéquates en cas de foyer de fièvre aphteuse en France ou dans des pays frontaliers sera réalisée d'autant plus aisément que le personnel concerné lors de telles situations aura été entraîné au préalable. Au cours de la préparation de ce rapport et des réunions des experts du groupe de travail, plusieurs points en relation directe avec l'entraînement nécessaire ont été mis en exergue :

- l'évaluation du nombre de faux-positifs potentiels en cas d'utilisation de la vaccination préventive d'urgence ;
- la poursuite et le développement de l'entraînement d'un groupe d'experts auprès du gestionnaire ;
- la poursuite des exercices d'alerte de terrain ;
- le développement des échanges scientifiques et humains internationaux en relation avec la fièvre aphteuse.

#### **3.2.4.1 Evaluation du nombre de faux-positifs potentiels en cas d'utilisation de la vaccination préventive d'urgence**

La prévision du nombre de faux positifs potentiels générés par la mise en œuvre d'une prophylaxie médicale d'urgence devrait se décliner en deux volets :

- l'évaluation du nombre de faux positifs générés par les tests de dépistage en l'absence de suspicion de fièvre aphteuse sur le territoire national (établissement d'un « *bruit de fond* », cf. 3.2.2 « *Amélioration des capacités diagnostiques* ») ;
- la réalisation d'un exercice pratique, par un groupe d'experts, permettant d'évaluer, de façon pragmatique, en situation de vaccination, le nombre de faux positifs à gérer au sein des deux zones définies réglementairement (de surveillance et de vaccination).



### **3.2.4.2 Poursuite et développement de l'entraînement d'un groupe d'experts auprès du gestionnaire**

Afin d'être en capacité de faire face à une situation de crise, il est nécessaire d'en avoir envisagé les éventualités au préalable. **Cette préparation de fond sur le sujet, consistant en des réunions régulières d'un groupe de travail sur la fièvre aphteuse attaché au gestionnaire de risque (DGAI), devrait être pérennisée.** Ainsi, la préparation des personnes concernées devrait être majoritairement axée sur :

- l'éventualité d'une prophylaxie médicale d'urgence ;
- les critères économiques à prendre en considération le cas échéant en fonction de la zone atteinte.

#### **Pour une situation de vaccination :**

Il serait intéressant et utile que des exercices puissent être réalisés, par un groupe d'experts, en l'absence de suspicion de fièvre aphteuse sur le territoire national :

- sur les possibilités et la faisabilité de régionalisation de l'Etat français ;
- sur la détermination des régions qui seraient visées par un potentiel plan de régionalisation ;
- sur la logistique de vaccination et de surveillance post vaccinale.

#### **Critères économiques à considérer lors de la mise en œuvre de différents protocoles :**

Le succès d'un scénario de maîtrise d'une épizootie reposant sur des critères économiques, ceux-ci doivent être évoqués et testés *via* des simulations d'épizooties soumises à un comité d'experts mettant en œuvre les travaux effectués ou en cours sur le sujet tels que le travail de thèse ayant pour titre « Simulations d'épizooties de fièvre aphteuse et aide à la décision » actuellement en cours dans l'unité d'épidémiologie de l'Afssa-Lerpaz, en étroite collaboration avec l'unité des maladies contagieuses de l'école nationale vétérinaire d'Alfort. Ce projet est effectué dans le cadre d'une Formation complémentaire par la recherche (FCPR) proposée par le Ministère chargé de l'agriculture aux Inspecteurs de la santé publique vétérinaire (ISPV).

Le projet de recherche s'articule en deux parties. Une comparaison des différentes stratégies de lutte envisageables lors d'une épizootie de FA visera d'abord à comparer les coûts induits par une épizootie, en supposant la stratégie de lutte fixée à l'avance. Cette approche sera ensuite généralisée au cas (plus réaliste) où la stratégie de lutte est susceptible de changer en fonction de l'évolution, et aura pour objet de définir les indicateurs nécessaires à la prise de décision et au pilotage des mesures de lutte dans un contexte réaliste où les ressources humaines et matérielles disponibles sont limitées.

L'ensemble de ce travail repose sur la mise au point d'une plate-forme de simulation d'épizooties. Cette plate-forme pourra être utilisée à des fins d'entraînement du groupe d'experts auprès du gestionnaire.

### **3.2.4.3 Poursuite des exercices d'alerte de terrain**

Les exercices d'alerte de terrain permettent de maintenir une vigilance et une sensibilisation des gestionnaires et des experts sur l'éventualité d'un épisode de FA. Ils assurent le maintien d'un entraînement ainsi que la mise en évidence de certains points à améliorer tels que :

- le rappel des mesures de biosécurité en vigueur pour les vétérinaires intervenant dans les élevages en zone infectée, qui pourrait être effectué par la rédaction d'une note de service sur le sujet général de la biosécurité. Cette note de service pourrait s'organiser en niveaux de risque ou de contagiosité des maladies considérées et non

maladie par maladie, en fonction des différentes espèces animales. Ces mesures consistent, notamment, à identifier et respecter des bonnes pratiques (emplacement du véhicule vétérinaire dans l'élevage, vêtements et voiture propres, *etc.*) ;

- l'entraînement des agents des services vétérinaires aux enquêtes épidémiologiques conduites en cas de fièvre aphteuse correspondant à la formation de ces derniers à l'utilisation des questionnaires dans un but d'amélioration de la recherche des causes en amont, des diffusions en aval et à la hiérarchisation de ces causes. Par ailleurs, un tel entraînement permettrait également de juger de la compréhensibilité des questionnaires établis ;
- la rencontre et les échanges des différentes structures impliquées au cours des exercices autour du plan départemental : les LVD, DSV, vétérinaires sanitaires, GDS, experts, le préfet, le Conseil général, la Gendarmerie Nationale, les Services d'incendie et de secours, la DDEA, *etc.*

Il serait également nécessaire :

- de proposer une liste de produits biocides utilisables (à la suite de l'interdiction de la soude caustique et du formol) et des méthodes de désinfection efficaces (rotoluve ou technique alternative), en prenant en compte les effets secondaires relatifs à la sécurité des opérateurs et sur l'environnement. ;
- de tester au plan national la faisabilité du recueil, de la centralisation et de l'échange de données en temps réel entre les différents acteurs de la lutte contre la fièvre aphteuse (vétérinaires sanitaires, DDSV, cellules de crise, experts scientifiques, laboratoires, *etc.*).

#### **3.2.4.4 Développement des échanges scientifiques et humains internationaux**

Dans le but de disposer d'une image plus concrète de la fièvre aphteuse, il faudrait envisager des échanges avec des collègues de pays où la maladie sévit toujours. Cela permettrait à certains d'observer la maladie clinique, de faire face à des situations sanitaires et économiques différentes de celles du territoire national tout en tentant, en cas de besoin, d'apporter leur propre niveau d'expertise (organisation du laboratoire, du diagnostic, vaccins et vaccinologie dans un autre contexte). Le niveau auquel ces échanges pourraient se faire ainsi que les modalités restent à définir.

La France dispose d'un petit nombre d'installations (notamment à l'INRA de Tours, INPREST) permettant la réalisation d'inoculations expérimentales sur grands animaux. Il serait intéressant d'organiser le mieux possible le réseau européen existant afin de favoriser le partage des expériences acquises entre pays voisins, dès lors que ces manipulations sont annoncées à l'avance. Cela pourrait être étendu à certaines manipulations de laboratoire. D'autres pays que la France pourraient ainsi en profiter, contribuant ainsi à créer une culture européenne commune autour de cette maladie.

#### **3.2.4.5 Faune sauvage**

Compte tenu des informations disponibles (bibliographiques et historiques), le GT FA ne propose pas d'amélioration du dispositif actuel de lutte vis-à-vis de la faune sauvage autochtone.

### **3.2.5 Action auprès des instances internationales pour la réduction des délais avant recouvrement d'un statut indemne à la suite d'une vaccination préventive d'urgence**

A l'heure actuelle, la période définie par l'OIE pour le recouvrement du statut indemne d'un Etat à la suite de la mise en œuvre d'une vaccination préventive d'urgence, et donc la reprise des échanges internationaux des produits issus d'animaux d'espèces sensibles, est deux fois plus longue que le délai à respecter lors de vaccination suppressive.

Les conséquences économiques engendrées par la suspension de ces échanges ne permettent que peu d'envisager l'éventualité d'une prophylaxie médicale conservative.

L'Etat français dispose actuellement d'un niveau de développement sanitaire avancé ainsi que de nouveaux outils, tant vaccinaux que diagnostiques, d'organisation et de traçabilité de mouvements d'animaux ; la probabilité qu'une circulation virale, dans ce contexte, ne soit pas détectée dans un délai de trois mois paraît minime (niveau 2 sur une échelle<sup>3</sup> de 0 à 9).

**Il est donc suggéré que la période de blocage des échanges de la France en cas d'usage de la vaccination préventive d'urgence puisse être réduite à une durée de trois mois pour l'ensemble du territoire concerné.**

Dans l'hypothèse où la réduction de ce délai ne serait pas acceptable, une régionalisation des mesures en vigueur (blocage zonal), prévoyant, au besoin, une indemnisation de la région pénalisée par ce blocage commercial, pourrait être proposée.

En dehors de la région définie, pour laquelle les mesures de suspension seraient en vigueur durant une période de six mois, le délai de non commercialisation des produits du reste du territoire concerné serait réduit à une durée de trois mois, à l'instar du délai en vigueur pour la vaccination suppressive.

---

<sup>3</sup> La méthode d'estimation qualitative de risque utilisée par le CES Santé Animale de l'Afssa en 2009 et consultable dans le Rapport « Une méthode qualitative d'estimation du risque en santé animale », consultable à l'adresse : <http://www.afssa.fr/Documents/SANT-Ra-MethodeRisque.pdf>, fait correspondre les qualificatifs utilisés à un niveau chiffré défini sur une échelle de 10 niveaux allant de 0/9 (risque nul) à 9/9 (risque très élevé).

## CONCLUSION

Le groupe de travail a organisé sa réflexion autour des trois thèmes définis dans la décision de création de ce groupe.

- En ce qui concerne les méthodes de diagnostic et de dépistage de la FA, le point sur les outils actuellement disponibles en France a montré leur diversité ainsi que les qualités (sensibilité, spécificité, etc.) de chacun d'eux. La séquence logique de leur emploi dans diverses situations ainsi que l'interprétation des résultats obtenus ont été précisées. Par ailleurs, les critères d'identification de trois catégories d'animaux, dans des troupeaux soumis à une vaccination préventive d'urgence, ont été définis et le devenir des animaux, proposé : animaux fournissant une réponse faussement positive, animaux (anciennement) infectés non dangereux et animaux infectés dangereux.
- Les caractéristiques des vaccins potentiellement disponibles dans les jours succédant à l'identification d'un premier foyer de FA ont été rappelées ainsi que les principes devant présider à la décision de leur emploi. L'obstacle majeur actuel pour un tel recours est la durée de six mois pour le recouvrement du statut de pays indemne à la suite d'une vaccination préventive d'urgence. Par ailleurs, persiste pour l'instant une incertitude sur la nature des critères à privilégier pour juger du succès d'un scénario de maîtrise d'une épizootie de fièvre aphteuse.
- Enfin, des propositions d'amélioration du dispositif de lutte contre la FA en France ont porté, d'une part, sur divers projets de recherche appliquée, d'autre part, sur cinq actions recommandées :
  - l'évaluation de tests de diagnostic sur le terrain ;
  - la poursuite de la décentralisation de certaines techniques de dépistage de la FA à des laboratoires vétérinaires départementaux agréés ;
  - l'actualisation du dossier administratif du vaccin aphteux ;
  - la préparation aux situations d'urgence par l'entraînement d'une équipe d'experts spécialisée auprès du gestionnaire ainsi que d'équipes de terrain ;
  - et enfin, une intervention auprès des instances européennes et internationales visant une réduction du délai de recouvrement du statut indemne de FA après une vaccination préventive d'urgence.

Il reste à attendre que des travaux de modélisation mettent à disposition d'experts français une méthode permettant de simuler des épizooties naissantes, afin de tester l'efficacité respective de différents scénarios de lutte, et que le gestionnaire de risque définisse les critères à privilégier pour juger du succès de ces scénarios.

Le groupe de travail suggère que ce rapport soit l'objet d'une réactualisation périodique, en fonction d'une part des évolutions constatées sur le terrain (émergence, ré-émergence, rapprochement des foyers de fièvre aphteuse) et d'autre part, du développement des connaissances scientifiques résultant des travaux de recherche pouvant conduire à des évolutions des méthodes de diagnostics et des moyens de lutte.

## 4 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Amaral-Doel, C.M.F., Owen, N.E., Ferris, N.P., Kitching, R.P. et Doel, T.R. (1993)** Detection of foot-and-mouth disease viral sequences in clinical specimens and ethyleneimine-inactivated preparations by the polymerase chain reaction. *Vaccine* 11, 415-421.
- Anonyme (1997)** European commission for the control of foot-and-mouth disease. Report on meeting on foot-and-mouth serology. Tübingen. Germany. January 22-23.
- Anonyme (2008)** Foot-and-mouth disease. In : Manual of standards for diagnostic tests and vaccines, 5th edition. Paris ; Office international des épizooties.
- Beck, E. et Strohmaier, K. (1987)** Subtyping of European foot-and-mouth disease virus strains by nucleotide sequence determination. *J Virol Methods* 61, 1621-1629.
- Bergmann, I.E., De Mello, P.A., Neitzert, E., Beck, E. et Gomes, I. (1993)** Diagnosis of persistent aphthovirus infection and its differentiation from vaccination response in cattle by use of enzyme-linked immunoelectrotransfer blot analysis with bioengineered nonstructural viral antigens. *Am J Vet Res* 54, 825-831.
- Brocchi, E., Bergmann, A., Dekker, A., Paton, D., Sammin, M., Greiner, S., et al. (2006)** Comparative evaluation of six ELISAs for antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease. *Vaccine* 24, 6966-6979.
- Chénard, G., Miedema, K., Moonen, P., Schrijver, R.S. et Dekker, A. (2003)** A solid-phase blocking ELISA for detection of type O foot-and-mouth disease virus antibodies suitable for mass serology. *J Virol Methods* 107, 89-98.
- Cox, J. et Barnett, P. (2009)** Experimental evaluation of foot-and-mouth disease vaccines for emergency use in ruminants and pigs: a review. *Vet Research* 40, 13.
- Donn, A., Martin, J.A. et Donaldson, A.I. (1994)** Improved detection of persistent foot-and-mouth disease infection in cattle by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 49, 179-186.
- Ferris, N. P., Hutchings, G. H., Moulds, H. J., Golding, J. et B., Clarke J. (2002)** Sensitivity of primary cells immortalised by oncogene transfection for the detection and isolation of foot-and-mouth disease and swine vesicular disease viruses. *Vet Microbiol* 84, 307-316.
- Ferris, N. P., King, D. P., Reid, S. M., Shaw, A. E., Hutchings, G. H. (2006)** Comparisons of original laboratory results and retrospective analysis by real time reverse transcriptase - PCR of virological samples collected from confirmed cases of foot-and-mouth disease in the UK in 2001. *Veterinary Record* 159, 373-378.
- Ferris, N., Nordengrahn, A., Hutchings, G., Reid, S., King, D., Ebert, K., et al. (2009)** Development and laboratory validation of a lateral flow device for the detection of foot-and-mouth disease virus in a clinical samples. *J Virol Methods* 155, 1, 10-17.
- Haas, B. (1994)** Application of the FMD liquid-phase blocking sandwich ELISA. Problems encountered in import/export serology and possible solutions. Report of the session of the FAO research group of the standing technical committee of the European commission for the control of foot-and-mouth disease; September 19-29, Vienna, Austria., 124-127.

- Hamblin, C. , Barnett, I.T.R. et Crowther, J.R. (1986)** A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. II. Application. *J Immunol Methods* 93, 123-129.
- House, C. et House, J. (1989)** Evaluation of techniques to demonstrate foot-and-mouth disease virus in bovine tongue epithelium : comparison of sensitivity of cattle, mice, primary cell cultures, cryopreserved cell cultures and established cell lines. *J. Vet Microbiol* 20, 99-109.
- King, D.P. , Ferris, N.P. , Shaw, A.E. , Reid, S.M. , Hutchings, G.H. , Giuffre, A.C. , et al. (2006)** Detection of foot-and-mouth disease virus: comparative diagnostic sensitivity of two independent real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assays. *J Vet Diagn Invest* 18, 93-97.
- Laor, O, Torgersen, H., Yadin, H. et Y., Becker (1992)** Detection of FMDV RNA amplified by the polymerase chain reaction (PCR). *J Virol Methods* 36, 197-208.
- Orsel, K. , Bouma, A. , Dekker, A. , Stegeman, J.A. , De Jong, M.C.M. (2009)** Foot-and-mouth disease virus transmission during the incubation period of the disease in piglets, lambs, calves, and dairy cows. *Prev Vet Med* 88, 158-163.
- Paiba, G .A. , Anderson, J. , Paton, D.J. , Soldan, A.W. , Alexandersen, S. , Corteyn, M. , et al. (2004)** Validation of a foot-and-mouth disease antibody screening solid-phase competition ELISA (SPCE). *J Virol Methods* 115, 145-158.
- Paton, D. , De Clercq, K. , Greiner, M. , Dekker, A. , Brocchi, E. , Bergmann, I.E. , et al. (2006)** Application of non-structural protein antibody tests in substantiating freedom from foot-and-mouth disease virus infection after emergency vaccination of cattle. *Vaccine* 24, 6503-6512.
- Rasmussen, T.B. , Uttenthal, A. , De Stricker, K. , Belak, S. et Storgaard, T. (2003)** Development of a novel quantitative real-time RT-PCR assay for the simultaneous detection of all serotypes of foot-and-mouth disease virus. *Arch Virol* 148, 2005-2021.
- Remond, M., Kaiser, C., Lebreton, F., Moutou, F., Crucière, C. (2001)** Residual foot-and-mouth disease virus antibodies in French cattle and sheep six years after the vaccination ban. *Vet Res*, 32 : 81-86.
- Reid, S.M. , M.A., Forsyth, G.H., Hutchings et N.P., Ferris (1998)** Comparison of reverse transcription polymerase chain reaction, enzyme linked immunosorbent assay and virus isolation for the routine diagnosis of foot-and-mouth disease. *J Virol Methods* 70, 213-217.
- Reid, S.M. , Hutchings, G.H. , Ferris, N.P. et De Clercq, K. (1999)** Diagnosis of foot-and-mouth disease by RT-PCR : evaluation of primers for serotypic characterisation of viral RNA in clinical samples. *J Virol Methods* 83, 113-123.
- Reid, S.M. , Ferris, N.P. , Hutchings, G.H. , Samuel, A.R. et Knowles, N.J. (2000)** Primary diagnosis of foot-and-mouth disease by reverse transcription polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 89, 167-176.
- Reid, S.M. , Ferris, N.P. , Hutchings, G.H. , Zhang, Z. , Belsham, G. et Alexandersen, S. (2002)** Detection of all seven serotypes of foot-and-mouth disease virus by real-time, fluorogenic reverse transcription polymerase chain reaction assay. *J Virol Methods* 105, 67-80.
- Roeder, P. et Le Blanc Smith, P. (1987)** Detection and typing of foot-and-mouth disease virus by enzyme-linked immunosorbent assay : a sensitive, rapid and reliable technique for primary diagnosis. *Res Vet Sci* 43, 225-232.

- Toma, B., Dufour, B., Sanaa, M., Bénét, J.-J., Moutou, F., et Shaw. A. (2001)** Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures. 2<sup>ème</sup> édition Editions de l'AAEMA, Maisons-Alfort. 696 pages.
- Toussaint, J.F. , Sailleau, C., Breard, E. , Zientara, S. et De Clercq, K. (2007)** Bluetongue virus detection by two real-time RT-qPCR targeting two different genomic segments. J Virol Methods 140, 115-128.
- Ward, M. ,Highfield, L. , Vongseng, P. , Graeme Garner, M. (2009)** Simulation of foot-and-mouth disease spread within an integrated livestock system in Texas, USA. Prev VetMed 88, 286-297.
- Westbury, H.A. , Doughty, W.J. , Forman, A.J. , Suchinta, T. et Kongthon, A.B. (1988)** A comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, complement fixation and virus isolation for foot-and-mouth disease diagnosis. Vet Microbiol 17, 21-28.

**Annexe 1 : Décisions de création et modificatrice du groupe de travail « Fièvre aphteuse »**

**AGENCE FRANÇAISE DE SECURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS**

**Décision n°2007-11-750  
relative au groupe de travail «Fièvre aphteuse»**

La directrice générale de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,  
Vu le code de la santé publique, et notamment ses articles L.1323-4 et R.1323-22 ;  
Vu l'arrêté du 4 août 2006 portant nomination à des comités d'experts spécialisés de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;  
Vu l'arrêté du 17 octobre 2006 modifié relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;  
Vu l'arrêté du 27 décembre 2006 modifiant l'arrêté du 17 octobre 2006 relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;  
Vu les décisions du 27 octobre 2006 et du 19 janvier 2007 portant nomination à des comités d'experts spécialisés de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,  
Vu le règlement intérieur de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,

**DECIDE :**

**Article premier.** Il est créé, sur proposition de la directrice générale de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments en concertation et en accord avec le président du Comité d'experts spécialisé « Santé animale », un groupe de travail dénommé « Fièvre aphteuse », chargé :

- 1) d'évaluer les performances des méthodes de dépistage de la fièvre aphteuse et les conséquences sur les méthodes de contrôle de la maladie et de qualification des zones affectées ;
- 2) d'évaluer les besoins en une banque d'antigènes et les performances des vaccins contre la fièvre aphteuse ainsi que les conséquences de leur emploi dans la récupération du statut de pays indemne de fièvre aphteuse ;
- 3) de réfléchir aux critères à privilégier pour juger du succès d'un scénario de maîtrise d'une épizootie de fièvre aphteuse et de tester différents types de scénarios sur des simulations d'épizooties débutantes ;
- 4) d'élaborer toute proposition, notamment en matière de recherche finalisée à court et moyen terme, permettant d'améliorer la cohérence du dispositif national de lutte contre la fièvre aphteuse.

**Article 2.** Le groupe de travail mentionné à l'article premier est composé des membres suivants :

Membres du comité d'experts spécialisé « Santé animale » :

Mme Barbara Dufour (ENVA)  
M. François Moutou (Afssa Lerpaz)  
M. Claude Saegerman (Université vétérinaire de Liège)  
M. Bernard Toma (ENVA)  
M. Stephan Zientara (Afssa Lerpaz)



## Rapport Afssa « Fièvre aphteuse »

### Personnalités scientifiques :

M. Philippe Baralon (Société Phylum)  
M. Didier Boisseleau (DDSV Vendée)  
M. Kris De Clercq (Coda-Cerva)  
M. Benoît Durand (Afssa Lerpaz)  
M. Yves Leforban (Direction générale de l'alimentation)  
Mme Michèle Remond (Afssa Lerpaz)  
M. Paul-Pierre Pastoret (OIE)  
Mme Gina Zanella (Afssa Lerpaz)

**Article 3.** B. Toma est nommé président et K. De Clercq est nommé vice-président du groupe de travail mentionné à l'article premier.

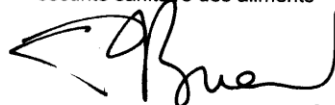
**Article 4.** Les conclusions du groupe de travail seront présentées au Comité d'experts spécialisé « Santé animale » au cours d'une période de 12 mois

**Article 5.** La coordination scientifique du groupe mentionné à l'article premier est assurée par l'Unité d'évaluation des risques liés à l'alimentation et à la santé animale de la Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires.

**Article 6.** La présente décision sera publiée dans le *Bulletin officiel* de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

Fait à Maisons Alfort, le **14 DEC. 2007**

La Directrice générale de l'Agence française de  
sécurité sanitaire des aliments



Pascale BRIAND

**AGENCE FRANÇAISE DE SECURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS**

---

**Décision n° 2008-03-288  
relative au groupe de travail «Fièvre aphteuse»**

La directrice générale de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,  
Vu le code de la santé publique, et notamment ses articles L.1323-4 et R.1323-22 ;  
Vu l'arrêté du 4 août 2006 portant nomination à des comités d'experts spécialisés de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;  
Vu l'arrêté du 17 octobre 2006 modifié relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;  
Vu l'arrêté du 27 décembre 2006 modifiant l'arrêté du 17 octobre 2006 relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;  
Vu les décisions du 27 octobre 2006 et du 19 janvier 2007 portant nomination à des comités d'experts spécialisés de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,  
Vu le règlement intérieur de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,

**DECIDE :**

**Article premier.** La décision de création du GT « Fièvre aphteuse » n° 2007-11-750 du 14 décembre 2007 est modifiée par la présente décision n°2008-03-228 qui supprime le paragraphe 3 de l'article 1<sup>er</sup> définissant les missions du groupe.

**Article 2 :** Le groupe de travail « Fièvre aphteuse » est chargé :

- 1) d'évaluer les performances des méthodes de dépistage de la fièvre aphteuse et les conséquences sur les méthodes de contrôle de la maladie et de qualification des zones affectées ;
- 2) d'évaluer les besoins en une banque d'antigènes et les performances des vaccins contre la fièvre aphteuse ainsi que les conséquences de leur emploi dans la récupération du statut de pays indemne de fièvre aphteuse ;
- 3) d'élaborer toute proposition, notamment en matière de recherche finalisée à court et moyen terme, permettant d'améliorer la cohérence du dispositif national de lutte contre la fièvre aphteuse.

Fait à Maisons Alfort, le 19 MARS 2008

La Directrice générale de l'Agence française de  
sécurité sanitaire des aliments



Pascale BRIAND

**Annexe 2 : Définitions de la directive européenne 2003/85/EC**

**DÉFINITION DU FOYER (Annexe I Chapitre premier de la directive européenne 2003/85/EC)**

Un foyer est déclaré lorsqu'une exploitation répond à un ou plusieurs des critères suivants:

- 1) le virus de la fièvre aphteuse a été isolé chez un animal, dans tout produit dérivé de cet animal ou dans son environnement ;
- 2) des signes cliniques évoquant la fièvre aphteuse sont observés chez un animal d'une espèce sensible et l'antigène ou l'acide ribonucléique (ARN) viral propre à un ou plusieurs sérotypes du virus aphteux a été détecté et identifié dans des échantillons prélevés sur l'animal ou les animaux du même groupe épidémiologique ;
- 3) des signes cliniques évoquant la fièvre aphteuse sont observés chez un animal d'une espèce sensible et l'animal ou ses cohortes présentent des anticorps dirigés contre les protéines structurelles ou non structurelles du virus aphteux, pour autant qu'une vaccination précédente, des anticorps maternels résiduels ou des réactions non spécifiques puissent être exclus comme cause possible de la séropositivité ;
- 4) un antigène ou un ARN viral spécifique d'un ou plusieurs des sérotypes du virus aphteux sont observés et identifiés dans des échantillons prélevés sur des animaux des espèces sensibles et les animaux présentent des anticorps dirigés contre les protéines structurelles ou non structurelles du virus aphteux, pour autant que, dans le cas d'anticorps dirigés contre les protéines structurelles, une vaccination précédente, des anticorps maternels résiduels ou des réactions non spécifiques puissent être exclus comme cause possible de la séropositivité ;
- 5) un lien épidémiologique a été établi avec l'apparition d'un foyer de fièvre aphteuse confirmé et une des conditions suivantes au moins est applicable :
  - a) soit un animal au moins présente des anticorps dirigés contre les protéines structurelles ou non structurelles du virus aphteux, pour autant qu'une vaccination précédente, des anticorps maternels résiduels ou des réactions non spécifiques puissent être exclus comme cause possible de la séropositivité ;
  - b) soit un antigène ou un ARN viral spécifique d'un ou de plusieurs sérotypes du virus aphteux a été détecté et identifié dans des échantillons prélevés sur au moins un animal d'une espèce sensible ;
  - c) soit des preuves sérologiques de l'infection active par le virus aphteux par la constatation d'une séroconversion vers une séropositivité aux anticorps dirigés contre les protéines structurelles ou non structurelles du virus aphteux ont été attestées chez au moins un animal d'une espèce sensible, et une vaccination précédente, des anticorps maternels résiduels ou des réactions non spécifiques peuvent être exclus comme cause possible de la séropositivité. Lorsqu'on ne peut pas raisonnablement s'attendre à trouver un état séronégatif antérieur, la constatation de la séroconversion est à réaliser sur des échantillons appariés des mêmes animaux à deux ou plusieurs reprises à un intervalle d'au moins cinq jours, dans le cas de protéines structurelles, et d'au moins vingt-et-un jours, dans le cas de protéines non structurelles ;
  - d) soit des signes cliniques évoquant la fièvre aphteuse sont observés chez un animal d'une espèce sensible.

**Annexe 3 : Définitions du Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE**

**Foyer de maladie ou d'infection**

désigne l'apparition d'un ou plusieurs cas de maladie ou d'infection à l'intérieur d'une unité épidémiologique.

**Unité épidémiologique**

désigne un groupe d'animaux présentant un lien épidémiologique défini, caractérisés par une probabilité analogue d'exposition à un agent pathogène, soit parce qu'ils partagent le même environnement (animaux d'un même enclos par exemple), soit parce qu'ils relèvent d'un même système de gestion. Il s'agit généralement d'un troupeau ou d'un cheptel, mais une unité épidémiologique peut également se référer à des groupes tels que les animaux appartenant aux habitants d'un même village ou partageant un système communal de manipulation des animaux. Le lien épidémiologique peut varier d'une maladie à l'autre, voire entre deux souches d'un même agent pathogène.

**Annexe 4 : Articles de la directive européenne 2003/85/EC en lien avec la vaccination**

Le lien suivant permet un accès direct au texte complet de la directive :  
[http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/oj/2003/l\\_306/l\\_30620031122fr00010087.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/fr/oj/2003/l_306/l_30620031122fr00010087.pdf)

**Article 14 : Mesures supplémentaires à mettre en oeuvre en cas de confirmation de fièvre aphteuse**

1. L'autorité compétente peut ordonner qu'outre les animaux des espèces sensibles, les animaux d'espèces non sensibles à la fièvre aphteuse présents sur une exploitation où un foyer de fièvre aphteuse a été confirmé soient également mis à mort et transformés de manière à éviter tout risque de propagation du virus aphteux. Toutefois, le paragraphe 1 ne s'applique pas aux animaux des espèces non sensibles à la fièvre aphteuse qu'il est possible d'isoler, de nettoyer et de désinfecter efficacement, pour autant qu'ils soient identifiés individuellement, dans le cas des équidés conformément à la législation communautaire, de manière à pouvoir en contrôler les mouvements.

2. L'autorité compétente peut appliquer les mesures prévues à l'article 10, paragraphe 1, point a), dans des unités de production épidémiologiques ou des exploitations immédiatement voisines lorsque des informations épidémiologiques ou d'autres éléments probants permettent de soupçonner une contamination éventuelle. L'application de ces dispositions fait l'objet d'une notification à la Commission, si possible au préalable. Dans ce cas, les mesures concernant le prélèvement d'échantillons et les examens cliniques des animaux sont mises en oeuvre au minimum conformément à l'annexe III, point 2.1.1.1.

3. Dès la confirmation du premier foyer de fièvre aphteuse, l'autorité compétente prend toutes les dispositions utiles en prévision d'une opération de vaccination d'urgence sur un territoire d'une superficie au moins équivalente à la zone de surveillance établie en application de l'article 21.

4. L'autorité compétente peut appliquer les mesures prévues aux articles 7 et 8.

**Article 21 : Établissement de zones de protection et de surveillance**

1. Sans préjudice des mesures prévues à l'article 7, les États membres veillent à ce que, pour le moins, les mesures prévues aux paragraphes 2, 3 et 4 du présent article, soient prises immédiatement, dès confirmation de la présence de la fièvre aphteuse.

2. L'autorité compétente délimite, autour du foyer de fièvre aphteuse visé au paragraphe 1, une zone de protection d'un rayon minimal de 3 kilomètres (km) et une zone de surveillance d'un rayon minimal de 10 km. La délimitation géographique de ces zones tient compte des frontières administratives, des obstacles naturels, des moyens de contrôle et des progrès technologiques permettant de prévoir la propagation probable du virus aphteux par voie aérienne ou autre, et est revue, s'il y a lieu, en prenant en considération ces éléments.

3. L'autorité compétente veille à ce que les zones de protection et de surveillance soient signalées par des panneaux de taille suffisante postés à leur entrée sur les routes.

4. Afin d'assurer une parfaite coordination de l'ensemble des mesures nécessaires à l'éradication rapide de la fièvre aphteuse, des centres nationaux et locaux d'urgence, tels que prévus aux articles 74 et 76, sont créés. Aux fins de l'enquête épidémiologique visée à l'article 13, ces centres sont assistés par un groupe d'experts conformément à l'article 78.

5. Les États membres procèdent dans les meilleurs délais au traçage des animaux expédiés depuis les zones pendant une période d'au moins vingt-et-un jours avant la date estimée de la première apparition de l'infection dans une exploitation située dans la zone de protection et ils informent les autorités compétentes des autres États membres et la Commission des résultats du traçage des animaux.

6. Les États membres collaborent pour le traçage des viandes fraîches, des produits à base de viande, du lait cru et des produits à base de lait cru dérivés d'animaux des espèces sensibles provenant de la zone de protection et produits entre la date estimée d'introduction du virus aphteux et la date d'entrée en vigueur des mesures prévues au paragraphe 2. Les viandes fraîches, les produits à base de viande, le lait cru et les produits à base de lait cru sont traités conformément aux articles 25, 26 et 27, respectivement, ou conservés jusqu'à ce que l'hypothèse d'une éventuelle contamination par le virus aphteux soit officiellement infirmée.

### **Article 50 : Décision relative au recours à la vaccination d'urgence**

1. Le recours à la vaccination d'urgence peut être décidé lorsqu'au moins une des conditions suivantes est remplie:

a) la présence de foyers de fièvre aphteuse a été confirmée et ceux-ci menacent de s'étendre dans l'État membre dans lequel ils sont apparus ;

b) d'autres États membres sont menacés eu égard à la situation géographique des foyers de fièvre aphteuse signalés dans un État membre ou aux conditions météorologiques prévalant dans celui-ci ;

c) d'autres États membres sont menacés en raison de contacts épidémiologiques entre des exploitations situées sur leur territoire et des exploitations détenant des animaux des espèces sensibles se trouvant dans un État membre infecté par la fièvre aphteuse ;

d) d'autres États membres sont menacés eu égard à la situation géographique d'un pays tiers voisin infecté par la fièvre aphteuse ou aux conditions météorologiques prévalant dans celui-ci.

2. Avant de décider d'avoir recours à la vaccination d'urgence, il convient de prendre en considération les mesures prévues à l'article 15 et les critères définis à l'annexe X.

3. La décision de recourir à la vaccination d'urgence est adoptée selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3.

4. La décision visée au paragraphe 3 concernant le recours à la vaccination d'urgence sur son propre territoire peut être demandée :

a) soit par l'État membre visé au paragraphe 1, point a) ,

b) soit par un État membre visé au paragraphe 1, points b),c) ou d).

5. Par dérogation aux dispositions du paragraphe 3, la décision de recourir à la vaccination d'urgence peut être prise par l'État membre concerné et mise en oeuvre conformément à la présente directive, après notification écrite de la décision à la Commission, assortie des précisions visées à l'article 51.

6. Toute décision relative à une vaccination d'urgence introduite par un État membre conformément au paragraphe 5 est immédiatement examinée par le comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale et donne lieu à l'adoption de mesures communautaires selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3.

7. Par dérogation au paragraphe 4, la décision de recourir à la vaccination d'urgence dans un État membre, visée au paragraphe 1, point a), peut être prise en concertation avec l'État membre touché, selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3, sur l'initiative de la Commission, si la condition énoncée au paragraphe 1, points a) et b) est remplie.

#### **Article 51 : Conditions relatives à la vaccination d'urgence**

1. La décision de recourir à la vaccination d'urgence conformément à l'article 50, paragraphes 3 et 4, précise les conditions dans lesquelles cette vaccination est effectuée, c'est à-dire au moins :

- a) les limites, définies conformément aux dispositions de l'article 45, de la zone géographique dans laquelle la vaccination d'urgence doit être pratiquée;
- b) l'espèce et l'âge des animaux à vacciner ;
- c) la durée de la campagne de vaccination ;
- d) une interdiction spécifique des mouvements d'animaux des espèces sensibles vaccinés et non vaccinés et de leurs produits ;
- e) l'identification supplémentaire et permanente spéciale et l'enregistrement spécial des animaux vaccinés conformément à l'article 47, paragraphe 2 ;
- f) d'autres aspects relatifs à la situation d'urgence.

2. Les conditions relatives à la vaccination d'urgence définies au paragraphe 1 garantissent que la vaccination est effectuée conformément à l'article 52, indépendamment du fait que les animaux vaccinés soient ensuite abattus ou laissés en vie.

3. Les États membres veillent à ce qu'un programme d'information soit mis en place en vue d'informer le public sur la sécurité de la viande, du lait et des produits laitiers provenant d'animaux vaccinés et destinés à la consommation humaine.

#### **Article 52 : Vaccination préventive**

1. Les États membres pratiquant la vaccination préventive veillent à ce que :

- a) la zone de vaccination soit régionalisée conformément aux dispositions de l'article 45, si nécessaire en étroite coopération avec les États membres voisins ;
- b) la vaccination soit effectuée rapidement et dans le respect des règles d'hygiène et de biosécurité, afin d'éviter toute propagation du virus aphteux ;
- c) toutes les mesures soient mises en oeuvre dans la zone de vaccination sans préjudice des dispositions de la section 7 ; L 306/26 FR Journal officiel de l'Union européenne 22.11.2003 ;
- d) lorsque la zone de vaccination couvre certaines parties ou l'intégralité de la zone de protection ou de la zone de surveillance :
  - i) les mesures applicables à la zone de protection ou à la zone de surveillance conformément à la présente directive soient maintenues dans cette partie de la zone de vaccination jusqu'à leur suppression, qui s'effectue conformément à l'article 36 ou à l'article 44 ;
  - ii) les mesures applicables à la zone de vaccination définies aux articles 54 à 58 continuent de s'appliquer après la suppression des mesures appliquées dans la zone de protection et dans la zone de surveillance.

2. Les États membres qui pratiquent la vaccination préventive veillent à ce que la zone de vaccination soit ceinturée par une zone de surveillance (au sens de la définition de l'OIE) d'un rayon d'au moins 10 km, mesurés depuis les limites de la zone de vaccination :

- a) dans laquelle la vaccination est interdite ;
- b) dans laquelle une surveillance intensive est pratiquée ;
- c) dans laquelle les mouvements d'animaux des espèces sensibles sont contrôlés par les autorités compétentes ;
- d) qui est maintenue jusqu'à ce que le statut d'indemne de maladie/d'infection soit rétabli conformément à l'article 61.

**Article 53 : Vaccination suppressive**

1. Les États membres notifient à la Commission leur décision de recourir à la vaccination suppressive conformément à l'article 50 et en tenant compte de tous les facteurs pertinents, et ils précisent les modalités des mesures de contrôle qu'ils entendent mettre en oeuvre, parmi lesquelles figurent au moins celles prévues à l'article 21.

2. Les États membres s'assurent que la vaccination suppressive soit pratiquée :

- a) uniquement à l'intérieur d'une zone de protection ;
- b) exclusivement dans des exploitations clairement identifiées, soumises aux mesures prévues à l'article 10, paragraphe 1, et notamment à son point a). Toutefois, pour des raisons logistiques et par dérogation à l'article 10, paragraphe 1, point a), la mise à mort de tous les animaux de ces exploitations peut être reportée autant que de besoin afin de respecter les dispositions de la directive 93/119/ CEE et de l'article 10, paragraphe 1, point c), de la présente directive.

**Article 54 : Mesures applicables dans la zone de vaccination pendant une période commençant au début de la vaccination d'urgence et s'achevant au plus tôt trente jours après la fin de cette vaccination (phase 1)**

1. Les États membres s'assurent que les mesures visées aux paragraphes 2 à 6 soient appliquées dans la zone de vaccination pendant une période commençant au début de la vaccination d'urgence et s'achevant au plus tôt trente jours après la fin de cette vaccination.

2. Les mouvements d'animaux vivants des espèces sensibles entre exploitations à l'intérieur de la zone de vaccination et à l'extérieur de celle-ci sont interdits. Par dérogation à l'interdiction prévue au premier alinéa et après inspection clinique de ces animaux vivants et de leurs troupeaux d'origine ou d'expédition, les autorités compétentes peuvent autoriser, en vue d'un abattage immédiat, leur transport direct jusqu'à un abattoir désigné par l'autorité compétente, situé dans la zone de vaccination ou, à titre exceptionnel, à proximité de cette zone.

3. Les viandes fraîches issues d'animaux vaccinés abattus au cours de la période visée au paragraphe 1 sont :

- a) munies de la marque de salubrité prévue par la directive 2002/99/CE ;
- b) stockées et transportées séparément des viandes non munies de la marque visée au point a), puis sont acheminées dans des récipients hermétiquement clos jusqu'à un établissement désigné par les autorités compétentes pour y subir un traitement conformément à l'annexe VII, partie A, point 1.

4. Le lait et les produits laitiers issus d'animaux vaccinés peuvent être mis sur le marché à l'intérieur ou à l'extérieur de la zone de vaccination, pour autant que ce lait et ces produits laitiers, selon qu'ils sont destinés ou non à la consommation humaine, aient subi au moins un des traitements visés à l'annexe IX, parties A et B. Ce traitement est exécuté dans les



conditions décrites au paragraphe 5 dans les établissements de la zone de vaccination ou, s'il n'y a pas d'établissement dans la zone, dans les établissements situés à l'extérieur de la zone de vaccination vers lesquels le lait cru est transporté dans les conditions décrites au paragraphe 7.

**5.** Les établissements visés au paragraphe 4 répondent aux conditions suivantes :

- a)** l'établissement est soumis à un contrôle officiel rigoureux et permanent ;
- b)** la totalité du lait utilisé dans l'établissement respecte les dispositions du paragraphe 4 ou le lait cru est issu d'animaux se trouvant en dehors de la zone de vaccination ;
- c)** pendant tout le processus de production, le lait est clairement identifié et est transporté et stocké séparément du lait cru et des produits à base de lait cru qui ne sont pas destinés à être expédiés hors de la zone de vaccination ;
- d)** le transport de lait cru des exploitations situées hors de la zone de vaccination vers les établissements s'effectue dans des véhicules qui ont été préalablement nettoyés et désinfectés et qui n'ont eu aucun contact ultérieur avec des exploitations situées dans une zone réglementée détenant des animaux d'espèces sensibles.

**6.** L'autorité compétente certifie que les conditions énoncées au paragraphe 5 en ce qui concerne le lait destiné aux échanges intracommunautaires sont respectées. L'autorité compétente supervise le contrôle de conformité exécuté par les autorités vétérinaires locales et, dans le cas d'échanges intracommunautaires, communique aux autres États membres et à la Commission une liste des établissements qui ont été approuvés aux fins de la certification.

**7.** Le transport de lait cru depuis les exploitations situées dans la zone de vaccination vers les établissements situés en dehors de la zone de vaccination et la transformation de ce lait sont soumis aux conditions suivantes :

- a)** la transformation, dans les établissements situés en dehors de la zone de vaccination, de lait cru issu d'animaux d'espèces sensibles détenus dans la zone de vaccination est autorisée par les autorités compétentes ;
- b)** l'autorisation précise l'itinéraire à suivre jusqu'à l'établissement désigné et contient des instructions à ce sujet ;
- c)** le transport s'effectue dans des véhicules qui ont été préalablement nettoyés et désinfectés, qui sont conçus et entretenus de façon à éviter toute fuite de lait au cours du transport et qui sont équipés de manière à éviter la dispersion aérosol pendant le chargement et le déchargement du lait ;
- d)** avant de quitter l'exploitation d'où provient le lait issu d'animaux d'espèces sensibles, les tuyaux d'alimentation, les pneus, les passages de roue, les parties inférieures du véhicule et tout écoulement de lait sont nettoyés et désinfectés et, après la dernière désinfection et avant de quitter la zone de vaccination, le véhicule n'a aucun contact ultérieur avec des exploitations de la zone de vaccination détenant des animaux d'espèces sensibles ;
- e)** les moyens de transport sont strictement affectés à une zone géographique ou administrative donnée, sont marqués en conséquence et ne peuvent passer dans une autre zone qu'après avoir été nettoyés et désinfectés sous contrôle officiel.

**8.** Le prélèvement et le transport d'échantillons de lait cru issus d'animaux d'espèces sensibles provenant d'exploitations situées dans la zone de vaccination vers un laboratoire autre qu'un laboratoire de diagnostic vétérinaire agréé pour le diagnostic de la fièvre aphteuse, ainsi que la transformation du lait dans ce type de laboratoire sont interdits.

9. La collecte de sperme aux fins de l'insémination artificielle, provenant de donneurs des espèces sensibles détenus dans des centres de collecte situés dans la zone de vaccination, est suspendue. Par dérogation à l'interdiction prévue au premier alinéa, les autorités compétentes peuvent autoriser la collecte de sperme pour la production de sperme congelé dans les centres de collecte de sperme situés à l'intérieur de la zone de vaccination, pour autant que les conditions suivantes soient respectées :

- a) il est garanti que le sperme prélevé pendant la période indiquée au paragraphe 1 est stocké séparément pendant au moins trente jours, et
- b) avant toute expédition de sperme :
  - 1) soit le donneur n'a pas été vacciné et les conditions énoncées à l'article 28, paragraphe 3, points b) et c), sont applicables, ou
  - 2) les donneurs ont été vaccinés à la suite d'un test de détection des anticorps dirigés contre le virus aphteux ayant donné des résultats négatifs, et
    - i) un test de détection du virus ou du génome viral ou un test agréé de détection des anticorps anti-protéines non structurales effectué au terme de la période de quarantaine prévue pour le sperme s'est révélé négatif pour les échantillons prélevés sur tous les animaux des espèces sensibles présents pendant cette période dans le centre de collecte de sperme, et
    - ii) le sperme satisfait aux conditions énoncées à l'article 4, paragraphe 3, du chapitre II de la directive 88/407/CEE.

10. La collecte d'ovules et d'embryons d'animaux donneurs ,est interdite.

11. La mise sur le marché de produits d'origine animale autres que ceux visés aux paragraphes 9 et 10 est soumise aux conditions énoncées aux articles 30, 31, 32 et 41.

**Article 55 : Mesures applicables dans la zone de vaccination pendant la période comprise entre la vaccination d'urgence et la fin de l'enquête et des opérations de classification des exploitations (phase 2)**

1. Les États membres s'assurent que les mesures prévues aux paragraphes 2 à 5 soient appliquées dans la zone de vaccination pendant une période débutant au plus tôt trente jours à compter de la fin des opérations de vaccination d'urgence et se terminant à la fin de la mise en oeuvre des mesures visées aux articles 56 et 57.

2. Les mouvements d'animaux des espèces sensibles entre exploitations à l'intérieur de la zone de vaccination et en dehors de celle-ci sont interdits.

3. Par dérogation à l'interdiction prévue au paragraphe 2, les autorités compétentes peuvent autoriser le transport direct d'animaux des espèces sensibles provenant des exploitations visées à l'article 57, paragraphe 5, jusqu'à un abattoir situé à l'intérieur ou en dehors de la zone de vaccination, pour autant que les conditions suivantes soient respectées :

- a) durant le transport et à l'abattoir, ces animaux n'entrent pas en contact avec d'autres animaux des espèces sensibles ;
- b) les animaux sont accompagnés d'un document officiel certifiant que tous les animaux des espèces sensibles de l'exploitation d'origine ou d'expédition ont été soumis à un examen conformément à l'article 56, paragraphe 2 ;
- c) les véhicules de transport sont nettoyés et désinfectés avant le chargement et après que les animaux ont été livrés, la date et l'heure du nettoyage et de la désinfection étant consignées dans le carnet de route des véhicules ;

**d)** les animaux ont fait l'objet d'une inspection sanitaire ante mortem à l'abattoir dans les 24 heures précédant l'abattage, en particulier d'un examen de la bouche et des pieds, et ne présentent pas de signes de la fièvre aphteuse.

**4.** Les viandes fraîches, à l'exclusion des abats, produites pendant la période visée au paragraphe 1 à partir de petits et de grands ruminants vaccinés peuvent être mises sur le marché à l'intérieur et en dehors de la zone de vaccination, dans les conditions suivantes :

**a)** l'établissement est soumis à un contrôle vétérinaire rigoureux ;

**b)** seules les viandes fraîches, à l'exclusion des abats, ayant été soumises au traitement décrit à l'annexe VIII, partie A, points 1, 3 et 4 ou les viandes fraîches obtenues à partir

d'animaux élevés et abattus hors de la zone de vaccination sont transformées dans l'établissement ;

**c)** toutes les viandes fraîches susvisées sont munies de la marque de salubrité conformément au chapitre XI de l'annexe I de la directive 64/433/CEE ou, dans le cas des viandes issues d'autres bi-ongulés, de la marque de salubrité prévue au chapitre III de l'annexe I de la directive 91/495/CEE, ou encore dans le cas des viandes hachées et préparations de viandes, de la marque de salubrité prévue à l'annexe I, chapitre VI, de la directive 94/65/CE ;

**d)** pendant tout le processus de production, les viandes fraîches sont clairement identifiées et sont transportées et stockées séparément des viandes d'un autre niveau zoo-sanitaire conformément à la présente directive.

**5.** L'autorité compétente certifie que les conditions visées au paragraphe 4 en ce qui concerne les viandes fraîches destinées aux échanges intracommunautaires sont respectées. L'autorité compétente supervise le contrôle de conformité exécuté par les autorités vétérinaires locales et, dans le cas des échanges intracommunautaires, communique aux autres États membres et à la Commission une liste des établissements qu'elle a approuvés aux fins de la certification.

**6.** Les viandes fraîches obtenues à partir d'animaux de l'espèce porcine vaccinés, abattus au cours de la période visée au paragraphe 1, sont munies de la marque de salubrité prévue par la directive 2002/99/CE et sont stockées et transportées séparément des viandes non munies de ladite marque, puis sont acheminées dans des récipients hermétiquement clos jusqu'à un établissement désigné par les autorités compétentes pour y subir un traitement conformément à l'annexe VII, partie A, point 1.

**7.** Le lait et les produits laitiers issus d'animaux vaccinés peuvent être mis sur le marché à l'intérieur ou à l'extérieur de la zone de vaccination, pour autant que ce lait et ces produits laitiers, selon qu'ils sont destinés ou non à la consommation humaine, aient subi au moins un des traitements visés à l'annexe IX, parties A et B. Ce traitement aura été exécuté dans un établissement situé à l'intérieur ou à l'extérieur de la zone de vaccination conformément aux dispositions de l'article 54, paragraphes 4 à 8.

**8.** Pour la collecte de sperme, d'ovules et d'embryons provenant d'animaux des espèces sensibles, les mesures prévues à l'article 54, paragraphes 9 et 10 continuent de s'appliquer.

**9.** La mise sur le marché de produits d'origine animale autres que ceux visés aux paragraphes 4, 6, 7 et 8 est soumise aux conditions énoncées aux articles 30, 31, 32 et 41.

**Article 56 : Enquête clinique et sérologique dans la zone de vaccination (phase 2-A)**

1. Les États membres s'assurent que les mesures prévues aux paragraphes 2 et 3 soient appliquées dans la zone de vaccination pendant une période commençant au plus tôt trente jours à compter de la fin des opérations de vaccination d'urgence et se terminant à la fin de l'enquête clinique et sérologique.

2. Une enquête est effectuée afin d'identifier les troupeaux d'animaux des espèces sensibles ayant été en contact avec le virus aphteux mais qui ne présentent pas de signes cliniques manifestes de la maladie. Cette enquête comporte l'inspection clinique de l'ensemble des animaux des espèces sensibles appartenant à tous les troupeaux présents dans la zone de vaccination, ainsi que les examens de laboratoires visés au paragraphe 3.

3. Les examens de laboratoire sont effectués au moyen de tests satisfaisant aux exigences définies à l'annexe XIII pour les tests de diagnostic et sont agréés selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 2; ils remplissent l'une des conditions suivantes :

a) la recherche d'infection par le virus aphteux, soit par la détection d'anticorps anti-protéines non structurales du virus aphteux, soit par une autre méthode agréée, satisfait aux critères d'échantillonnage dans les exploitations définis à l'annexe III, point 2.2. Lorsque les autorités compétentes ont en outre recours à des animaux sentinelles, les conditions de repeuplement des exploitations infectées visées à l'annexe V sont prises en considération ;

b) la recherche d'anticorps anti-protéines non structurales du virus aphteux s'effectue sur des échantillons prélevés sur l'ensemble des animaux des espèces sensibles vaccinés et de leurs descendants non vaccinés appartenant à tous les troupeaux de la zone de vaccination.

**Article 57 : Classification des troupeaux dans la zone de vaccination (phase 2-B)**

1. Les États membres veillent à ce que les exploitations détenant des animaux des espèces sensibles :

a) soient classées en fonction des résultats de l'enquête visée à l'article 56, paragraphe 2, et des critères établis à l'annexe I ;

b) soient conformes aux dispositions des paragraphes 2 à 4.

2. Les exploitations comptant au moins un animal suspect d'être infecté et dans lesquelles la présence du virus aphteux a été confirmée conformément aux critères établis à l'annexe I sont soumises aux mesures prévues aux articles 10 à 21.

3. Les exploitations détenant au moins un animal des espèces sensibles suspecté d'avoir été infecté lors de précédents contacts avec le virus aphteux, mais dans lesquelles des examens supplémentaires effectués sur l'ensemble des animaux des espèces sensibles présents dans l'exploitation ont confirmé l'absence du virus aphteux, sont soumises au moins aux mesures suivantes :

a) les animaux des espèces sensibles de l'exploitation sont :

1) soit mis à mort et leurs carcasses transformées,

2) soit répartis en catégories et

i) les animaux ayant présenté des résultats positifs au moins à l'un des tests agréés décrits à l'article 56, paragraphe 3 sont mis à mort et leurs carcasses transformées, et

- ii) le reste des animaux des espèces sensibles de l'exploitation sont abattus dans les conditions fixées par les autorités compétentes ;
- b) nettoyage et désinfection des exploitations conformément à l'article 11 ;
- c) repeuplement de l'exploitation conformément à l'annexe V.

4. Les États membres s'assurent que les mesures ci-après sont appliquées aux produits issus d'animaux des espèces sensibles et produits pendant la période visée à l'article 56, paragraphe 1:

- a) les viandes fraîches issues des animaux visés au paragraphe 3, point 2) ii), sont soumises aux dispositions de l'article 55, paragraphe 4, en ce qui concerne la viande de ruminants, et paragraphe 6, en ce qui concerne la viande de porc ;
- b) le lait et les produits laitiers issus des animaux visés au paragraphe 3, point 2) ii), subissent, selon l'utilisation à laquelle ils sont destinés, au moins un des traitements décrits dans les parties A et B de l'annexe IX et conformément aux dispositions de l'article 54, paragraphes 4 à 8.

5. Les animaux des espèces sensibles détenus dans des exploitations où la présence actuelle ou passée du virus aphteux a été officiellement exclue conformément à l'article 56, paragraphe 3 peuvent être soumis aux mesures visées à l'article 58.

**Article 58 : Mesures applicables dans la zone de vaccination après la fin de l'enquête et des opérations de classification des exploitations et jusqu'au rétablissement du statut d'indemne de maladie/d'infection au regard de la fièvre aphteuse (phase 3)**

1. Les États membres s'assurent que les mesures prévues aux paragraphes 2 à 6 soient appliquées dans la zone de vaccination après l'exécution des mesures prévues à l'article 57 et jusqu'à ce que le statut d'indemne de maladie/d'infection au regard de la fièvre aphteuse ait été rétabli conformément à l'article 59.

2. Les États membres s'assurent que les mouvements d'animaux des espèces sensibles entre exploitations situées dans la zone de vaccination soient soumis à autorisation.

3. Les mouvements d'animaux des espèces sensibles vers l'extérieur de la zone de vaccination sont interdits. Par dérogation à l'interdiction susvisée, le transport direct d'animaux des espèces sensibles jusqu'à un abattoir en vue d'un abattage immédiat peut être autorisé dans les conditions prévues à l'article 55, paragraphe 3.

4. Par dérogation à l'interdiction prévue au paragraphe 2, les autorités compétentes peuvent autoriser le transport d'animaux non vaccinés des espèces sensibles conformément aux dispositions suivantes :

- a) dans un délai de 24 heures après le chargement, tous les animaux des espèces sensibles de l'exploitation ont été soumis à un examen clinique et ne présentent pas de signes cliniques de la fièvre aphteuse ; et
- b) les animaux ont subi une immobilisation dans l'exploitation d'origine pendant au moins trente jours, durant laquelle aucun animal des espèces sensibles n'a été introduit dans l'exploitation ; et
- c) l'exploitation d'origine n'est pas située dans une zone de protection ou de surveillance ; et
- d) soit les animaux destinés au transport ont été soumis individuellement, avec des résultats négatifs, à des tests de détection d'anticorps dirigés contre le virus aphteux à la fin de la période d'isolement, ou une enquête sérologique a été effectuée dans

l'exploitation conformément à l'annexe III, point 2.2, indépendamment des espèces concernées ;

**e)** les animaux n'ont été exposés à aucune source d'infection pendant leur transport de l'exploitation d'origine au lieu de destination.

**5.** Les descendants non vaccinés des femelles reproductrices vaccinées ne peuvent quitter leur exploitation d'origine, à moins qu'ils ne soient transportés :

**a)** jusqu'à une exploitation de la zone de vaccination ayant le même statut que l'exploitation d'origine ;

**b)** jusqu'à un abattoir pour abattage immédiat ;

**c)** jusqu'à une exploitation désignée par l'autorité compétente, depuis laquelle ils seront directement transportés jusqu'à l'abattoir ;

**d)** jusqu'à une exploitation quelconque, après qu'un test sérologique de détection des anticorps dirigés contre le virus aphteux, réalisé à partir d'un échantillon sanguin prélevé avant l'expédition depuis l'exploitation d'origine, a abouti à un résultat négatif.

**6.** Les viandes fraîches issues d'animaux non vaccinés des espèces sensibles peuvent être mises sur le marché à l'intérieur et à l'extérieur de la zone de vaccination dans les conditions suivantes :

**a)** soit les mesures prévues à l'article 57, paragraphe 3, ont été exécutées dans l'ensemble de la zone de vaccination, soit les animaux sont transportés à l'abattoir dans les conditions prévues au paragraphe 3 ou au paragraphe 4, point d) ;

**b)** l'établissement est soumis à un contrôle vétérinaire rigoureux ;

**c)** seules les viandes fraîches issues d'animaux visés au point a) ou d'animaux élevés et/ou abattus hors de la zone de vaccination ou les viandes fraîches visées au paragraphe 8 sont transformées dans l'établissement ;

**d)** toutes les viandes fraîches susvisées sont munies de la marque de salubrité conformément au chapitre XI de l'annexe I de la directive 64/433/CEE ou, dans le cas des viandes issues d'autres bi-ongulés, de la marque de salubrité prévue au chapitre III de l'annexe I de la directive 91/495/CEE, ou encore, dans le cas des viandes hachées et préparations de viandes, de la marque de salubrité prévue à l'annexe I, chapitre VI, de la directive 94/65/CE ;

**e)** pendant toute la durée du processus de production, les viandes fraîches sont clairement identifiées et sont transportées et stockées séparément des viandes d'un autre niveau zoo-sanitaire conformément à la présente directive.

**7.** Les viandes fraîches issues d'animaux vaccinés des espèces sensibles ou des descendants séropositifs non vaccinés de femelles reproductrices vaccinées abattues pendant la période visée au paragraphe 1 sont munies de la marque de salubrité prévue par la directive 2002/99/CE et sont transportées et stockées séparément des viandes qui ne sont pas munies de cette marque. Elles sont ensuite transportées dans des récipients hermétiquement clos jusqu'à un établissement désigné par les autorités compétentes pour y être traitées conformément aux dispositions de l'annexe VII, partie A, point 1.

**8.** Par dérogation aux dispositions du paragraphe 7, les viandes fraîches et les abats préparés issus de petits et de grands ruminants vaccinés ou de leurs descendants séropositifs non vaccinés peuvent être mis sur le marché à l'intérieur et à l'extérieur de la zone de vaccination dans les conditions suivantes :

**a)** l'établissement est soumis à un contrôle vétérinaire rigoureux ;

**b)** seules les viandes fraîches, à l'exclusion des abats, soumises au traitement décrit à l'annexe VIII, partie A, points 1, 3 et 4, ou les viandes fraîches visées au

paragraphe 6 ou issues d'animaux élevés et/ou abattus hors de la zone de vaccination sont transformées dans l'établissement ;

**c)** toutes les viandes fraîches susvisées sont munies de la marque de salubrité conformément au chapitre XI de l'annexe I de la directive 64/433/CEE ou, dans le cas des viandes issues d'autres bi-ongulés, de la marque de salubrité prévue au chapitre III de l'annexe I de la directive 91/495/CEE, ou encore, dans le cas des viandes hachées et préparations de viandes, de la marque de salubrité prévue au chapitre VI de l'annexe I de la directive 94/65/CE ;

**d)** pendant toute la durée du processus de production, les viandes fraîches sont clairement identifiées et sont transportées et stockées séparément des viandes d'un autre niveau zoo-sanitaire conformément à la présente directive.

**9.** Par dérogation aux dispositions du paragraphe 7, les viandes fraîches issues d'animaux de l'espèce porcine vaccinés et de leurs descendants séropositifs non vaccinés, produites pendant la période commençant au début de l'enquête et s'achevant lorsque les mesures prévues à l'article 57 ont été exécutées dans l'ensemble de la zone de vaccination et qu'au moins trois mois se sont écoulés depuis la dernière apparition d'un foyer de fièvre aphteuse dans cette zone, peuvent être mises sur le marché national de l'État membre d'origine à l'intérieur et à l'extérieur de la zone de vaccination uniquement dans les conditions suivantes :

**a)** l'établissement est soumis à un contrôle vétérinaire rigoureux ;

**b)** seules les viandes fraîches issues d'animaux provenant d'établissements conformes aux exigences énoncées à l'article 57, paragraphe 5, ou les viandes fraîches issues d'animaux élevés et abattus à l'extérieur de la zone de vaccination sont transformées dans l'établissement ;

**c)** toutes les viandes fraîches susvisées sont munies d'une marque de salubrité à déterminer conformément à la directive 2002/99/CE, article 4, paragraphe 3 ;

**d)** pendant toute la durée du processus de production, les viandes fraîches sont clairement identifiées et sont transportées et stockées séparément des viandes d'un autre niveau zoo-sanitaire conformément à la présente directive.

**10.** Un État membre autre que l'État membre visé au paragraphe 9 peut demander une décision selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3, en vue d'étendre la commercialisation des viandes visées au paragraphe 9 à son territoire ou à une partie de son territoire dans des conditions à fixer conformément à la même procédure.

**11.** Les règles régissant l'expédition depuis la zone de vaccination de viandes fraîches issues d'animaux de l'espèce porcine vaccinés et produites après la période visée au paragraphe 9 et jusqu'au rétablissement du statut indemne de maladie/d'infection conformément à l'article 61 sont fixées selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3.

**12.** L'autorité compétente certifie que les conditions prévues aux paragraphes 6 et 8 et le cas échéant conformément aux dispositions du paragraphe 10 en ce qui concerne les viandes fraîches destinées aux échanges intracommunautaires sont respectées. L'autorité compétente supervise le contrôle de conformité effectué par les autorités vétérinaires locales et, dans le cas des échanges intracommunautaires, communique aux autres États membres et à la Commission une liste des établissements qui ont été approuvés aux fins de la certification.

**13.** Par dérogation aux dispositions du paragraphe 8, il peut être décidé, conformément à la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3, d'apposer une marque de salubrité spéciale, qui ne peut pas être confondue avec la marque de salubrité visée au paragraphe 8, point c)

et au paragraphe 9, point c), sur les viandes fraîches issues de ruminants non soumis au traitement prévu à la partie A de l'annexe VIII, ainsi que sur les viandes hachées et les préparations à base de viande produites au départ des viandes fraîches susvisées, qui sont destinées à être mises sur le marché dans une région précise de l'État membre d'origine.

**14.** Le lait et les produits laitiers issus d'animaux vaccinés peuvent être mis sur le marché à l'intérieur ou à l'extérieur de la zone de vaccination, pour autant que ce lait et ces produits laitiers, selon qu'ils sont destinés ou non à la consommation humaine, aient subi au moins un des traitements visés à l'annexe IX, parties A et B. Ce traitement aura été exécuté dans un établissement de la zone de vaccination ou conformément aux dispositions de l'article 54, paragraphes 4 à 7.

**15.** La collecte et le transport d'échantillons de lait cru d'animaux des espèces sensibles provenant d'exploitations situées dans la zone de surveillance vers un laboratoire autre qu'un laboratoire de diagnostic vétérinaire agréé pour le diagnostic de la fièvre aphteuse ainsi que la transformation du lait dans ce type de laboratoire sont soumis à une autorisation officielle et à des mesures appropriées visant à éviter toute propagation éventuelle du virus aphteux.

**16.** La mise sur le marché de produits d'origine animale autres que ceux visés aux paragraphes 6 à 11 et 13 à 15 est soumise aux conditions prévues aux articles 30, 31, 32 et 42.

## **SECTION 9**

### **RÉTABLISSEMENT DU STATUT INDEMNE DE MALADIE ET D'INFECTION AU REGARD DE LA FIÈVRE APHTEUSE**

#### **Article 59 : Rétablissement du statut indemne de maladie et d'infection au regard de la fièvre aphteuse**

Le statut indemne de maladie/d'infection au regard de la fièvre aphteuse d'un État membre ou d'une région est rétabli selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3, compte tenu des conditions énoncées aux articles 60 et 61.

#### **Article 60 : Rétablissement du statut à la suite d'une éradication de la fièvre aphteuse sans vaccination d'urgence**

**1.** Un État membre ou une zone d'un État membre dont le territoire a été régionalisé conformément à l'article 45 recouvre son statut antérieur d'indemne de maladie/d'infection au regard de la fièvre aphteuse après mise en oeuvre des mesures de lutte et éradication, sans vaccination, d'un ou de plusieurs foyers, dans les conditions suivantes :

- a)** toutes les mesures prévues par les articles 36 et 44 ont été mises en oeuvre ;
- b)** au moins une des conditions suivantes est remplie :
  - i) les recommandations pertinentes du chapitre «Fièvre aphteuse», tel que modifié en dernier lieu, du code zoosanitaire de l'OIE ont été respectées ;
  - ii) une période minimale de trois mois s'est écoulée depuis la dernière apparition d'un foyer de fièvre aphteuse et la surveillance clinique et les examens de laboratoire, réalisés conformément à l'annexe III, ont confirmé l'absence d'infection par le virus aphteux dans l'État membre ou la région en cause.



2. Les décisions relatives au rétablissement du statut indemne de maladie/d'infection au regard de la fièvre aphteuse sont adoptées selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3.

**Article 61 : Rétablissement du statut à la suite d'une éradication de la fièvre aphteuse au moyen de la vaccination**

1. Un État membre ou une zone d'un État membre dont le territoire a été régionalisé conformément à l'article 45 recouvre son statut antérieur d'indemne de maladie/d'infection au regard de la fièvre aphteuse après mise en oeuvre des mesures de lutte et éradication d'un ou de plusieurs foyers au moyen de la vaccination, dans les conditions suivantes :

a) toutes les mesures prévues par les articles 36, 44, 54, 55,56 et 57 ont été mises en oeuvre ;

b) au moins une des conditions suivantes est remplie :

i) les recommandations pertinentes du chapitre «Fièvre aphteuse», tel que modifié en dernier lieu, du code zoo-sanitaire de l'OIE ont été respectées ;

ii) une période minimale de trois mois s'est écoulée depuis l'abattage du dernier animal vacciné et une surveillance sérologique a été mise en oeuvre conformément aux lignes directrices établies en application de l'article 70, paragraphe 3 ;

iii) une période minimale de six mois s'est écoulée depuis la dernière apparition d'un foyer de fièvre aphteuse ou la fin de la vaccination d'urgence, si celle-ci est intervenue plus tard, et une enquête sérologique fondée sur la détection des anticorps antiprotéines non structurales du virus aphteux a démontré l'absence d'infection chez les animaux vaccinés, conformément aux lignes directrices établies en application de l'article 70, paragraphe 3.

2. Les décisions relatives au rétablissement du statut indemne de maladie/d'infection au regard de la fièvre aphteuse sont adoptées selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3.

**Article 62 : Modification des conditions relatives au rétablissement du statut indemne de maladie/d'infection au regard de la fièvre aphteuse**

1. Par dérogation à l'article 60, il peut être décidé, selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3, de lever les restrictions appliquées en vertu de la présente directive après que les exigences fixées par les articles 36 et 44 ont été satisfaites et que l'enquête clinique et sérologique a été menée et a confirmé l'absence d'infection par le virus aphteux.

2. Par dérogation à l'article 61, il peut être décidé, selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3, de lever les restrictions appliquées en vertu de la présente directive après que l'enquête clinique et sérologique prévue à l'article 56 et les mesures établies par l'article 57 ont été menées et ont confirmé l'absence d'infection par le virus aphteux.

3. Sans préjudice des paragraphes 1 et 2, il peut être décidé, selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3, d'interdire tout mouvement d'animaux des espèces sensibles entre le territoire ou la région de l'État membre où le foyer de fièvre aphteuse est apparu et un autre État membre jusqu'à ce que le statut d'indemne de maladie/d'infection ait été rétabli conformément aux prescriptions du code zoo-sanitaire de l'OIE, à moins que les animaux en question:

a) n'aient pas été vaccinés et qu'ils soient directement acheminés vers un abattoir pour abattage immédiat; ou

b) aient été isolés durant une période minimale de trente jours avant le chargement et qu'ils aient subi un test sérologique de détection des anticorps anti-protéines non structurales du virus aphteux, réalisé sur des échantillons prélevés pendant les dix jours précédant le chargement et dont le résultat s'est révélé négatif.

4. Sans préjudice du paragraphe 2 et selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3, il peut être décidé, jusqu'au rétablissement du statut d'indemne de maladie/d'infection au regard de la fièvre aphteuse en application des prescriptions du code zoo-sanitaire de l'OIE, de réduire le rayon de surveillance autour de la zone de vaccination visée à l'article 52, paragraphe 2, après que les mesures prévues à l'article 57 auront été exécutées avec succès.

### **Article 89 : Comitologie**

1. La Commission est assistée par le comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale institué par le règlement (CE) no 178/2002.

2. Dans le cas où il est fait référence au présent paragraphe, les articles 5 et 7 de la décision 1999/468/CE s'appliquent. La période visée à l'article 5, paragraphe 6, de la décision 1999/468/CE est fixée à trois mois.

3. Dans le cas où il est fait référence au présent paragraphe, les articles 5 et 7 de la décision 1999/468/CE s'appliquent. La période visée à l'article 5, paragraphe 6, de la décision 1999/468/CE est fixée à quinze jours.

4. Le comité adopte son règlement intérieur.

## **SECTION 14**

### **BANQUES D'ANTIGÈNES ET DE VACCINS**

#### **Article 79 : Banques nationales d'antigènes et de vaccins**

1. Dans le cadre du plan d'intervention, les États membres peuvent constituer ou maintenir des banques nationales d'antigènes et de vaccins en vue de stocker les quantités de réserve destinées aux vaccinations d'urgence, compte tenu des dispositions de la directive 2001/82/CE.

2. Les États membres peuvent se doter d'établissements spécialisés dans l'emballage et le stockage de vaccins aux fins de la vaccination d'urgence.

3. Les États membres veillent à ce que les antigènes et les vaccins formulés dans les banques nationales répondent aux normes minimales établies en matière de sécurité, de stérilité et de teneur en protéines non structurales pour les banques communautaires d'antigènes et de vaccins.

4. Les États membres possédant une banque nationale d'antigènes et de vaccins tiennent la Commission informée des stocks disponibles. Ces informations sont communiquées à la Commission tous les douze mois au titre des informations exigées à l'article 8 de la directive 64/432/CEE. Les informations relatives aux quantités et sous-types d'antigènes ou aux

vaccins autorisés stockés dans les banques nationales d'antigènes et de vaccins communautaires revêtent un caractère confidentiel qui en interdit notamment la publication.

### **Article 80 : Banque communautaire de vaccins et d'antigènes**

1. Une banque communautaire d'antigènes et de vaccins est constituée selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 2.

2. La Commission veille à ce que les réserves communautaires d'antigènes concentrés inactivés, destinés à la fabrication de vaccins contre la fièvre aphteuse, soient stockées dans les locaux de la banque. À cet effet, le nombre de doses et la diversité des souches et sous-types d'antigènes de virus aphteux et, si nécessaire, des vaccins autorisés conformément à la directive 2001/82/CE stockés dans les banques communautaires d'antigènes sont décidés selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 2, compte tenu des exigences relevées dans le contexte des plans d'intervention visés à l'article 72 et de la situation épidémiologique, le cas échéant après consultation du laboratoire communautaire de référence.

3. Les informations relatives aux quantités et sous-types d'antigènes ou aux vaccins autorisés stockés dans la banque communautaire revêtent un caractère confidentiel qui en interdit notamment la publication.

4. Les conditions d'établissement et de gestion de réserves communautaires d'antigènes et de vaccins autorisés dans les locaux d'au moins deux établissements de fabrication, de préférence, sont spécifiées dans des contrats conclus entre la Commission et les établissements en question. Ces contrats contiennent au moins les éléments suivants :

- a) des conditions de fourniture des quantités et des sous types d'antigènes concentrés inactivés ;
- b) des conditions relatives au stockage en toute sécurité des antigènes et des vaccins autorisés ;
- c) des garanties et conditions relatives à la formulation, à la fabrication, à l'embouteillage, à l'étiquetage et à la distribution rapides des vaccins.

5. Les conditions et garanties visées au paragraphe 4, points a) à c), peuvent être modifiées selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 3.

### **Article 81 : Fourniture et stockage d'antigènes concentrés inactivés**

La Commission s'assure que le fabricant sous contrat de l'antigène concentré inactivé fourni à la banque communautaire d'antigènes et de vaccins est en mesure de garantir, pour la fourniture et le stockage d'antigènes concentrés inactivés de virus aphteux, des conditions au moins équivalentes à celles qui sont énoncées au point 1 de l'annexe XIV.

### **Article 82 : Formulation, fabrication, embouteillage, étiquetage et distribution des vaccins**

1. La Commission s'assure que le fabricant sous contrat de l'antigène concentré inactivé fourni à la banque communautaire d'antigènes et de vaccins visé à l'article 81 est en mesure de garantir, pour la formulation, la finition, l'embouteillage, l'étiquetage et la distribution des vaccins reconstitués à partir d'antigènes, des conditions au moins équivalentes à celles qui sont énoncées à l'annexe XIV, point 2.

2. En cas d'urgence et compte dûment tenu de la situation épidémiologique, la Commission est autorisée à organiser la fabrication, l'embouteillage, l'étiquetage, le stockage temporaire et la distribution des quantités nécessaires de vaccins reconstitués à partir d'un antigène approprié.

### **Article 83 : Accès à la banque communautaire de vaccins et d'antigènes**

1. Sur demande adressée à la Commission, les États membres ont accès à la banque communautaire d'antigènes et de vaccins. Dans les limites des réserves communautaires d'antigènes et de vaccins, la Commission organise sans délai, notamment en application de l'article 51, la formulation, la fabrication, l'embouteillage, l'étiquetage et la distribution des quantités et des sous-types de vaccins nécessaires.

2. Les États membres gérant une banque nationale d'antigènes et de vaccins ou les États membres associés à une banque internationale d'antigènes et de vaccins ont à l'égard de la banque communautaire les mêmes droits et obligations que tout autre État membre ne disposant pas de réserves nationales.

3. Lorsque l'intérêt de la Communauté est en jeu, la Commission peut fournir ou prêter à des pays tiers des antigènes provenant des réserves communautaires ou des vaccins reconstitués à partir de ces antigènes. Sans préjudice des accords conclus entre la Communauté et les pays tiers, l'accès de ces derniers à la banque communautaire d'antigènes et de vaccins est autorisé selon la procédure prévue à l'article 89 paragraphe 2, sous réserve des dispositions en matière de coopération financière et technique à adopter entre la Commission et le pays tiers dans le cadre de cette procédure.

4. Après utilisation de l'antigène ou du vaccin provenant des réserves communautaires, la Commission veille à ce que l'antigène ou le vaccin utilisé soit remplacé dès que possible et en fonction de la situation épidémiologique.

### **Article 84 : Contrôle des vaccins anti-aphteux**

1. La Commission est responsable de l'organisation de tests indépendants visant à contrôler l'activité et l'innocuité des vaccins reconstitués à partir des antigènes stockés dans la banque communautaire d'antigènes et de vaccins, ainsi que des vaccins reconstitués à partir d'autres antigènes et destinés à être utilisés dans le cadre de l'aide communautaire à la mise en oeuvre de mesures de lutte contre la fièvre aphteuse dans les pays tiers, conformément aux articles 82, paragraphe 2, et 83, paragraphe 3.

2. Aux fins des tests visés au paragraphe 1, la Commission peut faire appel aux services d'un institut communautaire de coordination indépendant. S'il est nécessaire de désigner l'institut communautaire de coordination, les modalités relatives à ses fonctions et responsabilités ainsi qu'aux contributions financières communautaires sont adoptées selon la procédure prévue à l'article 89, paragraphe 2.

3. Sans préjudice des normes fixées par la législation communautaire en ce qui concerne l'activité, l'innocuité et les procédures de fabrication, les vaccins reconstitués à partir d'antigènes stockés dans la banque communautaire d'antigènes et de vaccins répondent au moins aux normes minimales établies, en ce qui concerne l'activité, l'innocuité et les procédures de fabrication, dans la pharmacopée européenne et les dispositions pertinentes du manuel de l'OIE.

**Annexe 5 : Exigences du Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE pour le recouvrement du statut de pays ou de zone indemne de fièvre aphteuse**

Le lien suivant permet un accès direct au texte complet du Code de l'OIE pour les animaux terrestres (version 2007)

[http://www.oie.int/fr/normes/mcode/fr\\_chapitre\\_2.2.10.htm](http://www.oie.int/fr/normes/mcode/fr_chapitre_2.2.10.htm)

**Article 2.2.10.8. Recouvrement du statut de pays ou de zone indemne de fièvre aphteuse**

En cas de survenue d'un foyer de fièvre aphteuse ou de présence d'une infection par le virus responsable de cette maladie dans un pays ou une zone qui en est indemne et où n'est pas pratiquée la vaccination, le recouvrement du statut de pays ou de zone indemne de fièvre aphteuse où n'est pas pratiquée la vaccination interviendra au terme d'une des périodes d'attente suivantes :

- 3 mois après le dernier cas là où sont pratiquées des opérations d'abattage sanitaire et où est mis en place un dispositif de surveillance sérologique conforme aux dispositions de l'annexe 3.8.7.,

**ou**

- 3 mois après l'abattage de tous les animaux vaccinés là où sont pratiquées des opérations d'abattage sanitaire, complétées par une vaccination d'urgence, et où est mis en place un dispositif de surveillance sérologique conforme aux dispositions de l'annexe 3.8.7.,

**ou**

- 6 mois après le dernier cas ou la dernière vaccination (selon l'événement intervenant en dernier) là où sont pratiqués des opérations d'abattage sanitaire, complétées par une vaccination d'urgence et sans recours à l'abattage total des animaux vaccinés, et où est mis en place un dispositif de surveillance sérologique conforme aux dispositions de l'annexe 3.8.7., sous réserve que les résultats issus de la surveillance sérologique visant à détecter les anticorps dirigés contre les protéines non structurales du virus de la fièvre aphteuse démontrent l'absence d'infection dans la population vaccinée restante.

En cas de non-recours à l'abattage sanitaire, les périodes d'attente susmentionnées ne s'appliqueront pas, mais les dispositions de l'article 2.2.10.2. ou de l'article 2.2.10.4. devront être respectées.

En cas de survenue d'un foyer de fièvre aphteuse ou de présence d'une infection par le virus responsable de cette maladie dans un pays ou une zone qui en est indemne et où est pratiquée la vaccination, le recouvrement du statut de pays ou de zone indemne de fièvre aphteuse où est pratiquée la vaccination interviendra au terme d'une des périodes d'attente suivantes :

- 6 mois après le dernier cas là où sont pratiquées des opérations d'abattage sanitaire, complétées par une vaccination d'urgence, et où est exercée une surveillance sérologique conforme aux dispositions de l'annexe 3.8.7., sous réserve que les résultats issus de la surveillance sérologique visant à détecter les anticorps dirigés contre les protéines non structurales du virus de la fièvre aphteuse démontrent l'absence de circulation du virus,

**ou**

- 18 mois après le dernier cas là où ne sont pas pratiquées des opérations d'abattage sanitaire, mais où est pratiquée une vaccination d'urgence et où est exercée une surveillance sérologique conforme aux dispositions de l'annexe 3.8.7., sous réserve que les résultats issus de la surveillance sérologique visant à détecter les anticorps dirigés contre les protéines non structurales du virus de la fièvre aphteuse démontrent l'absence de circulation du virus.