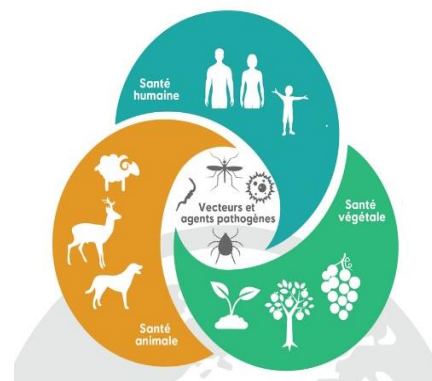


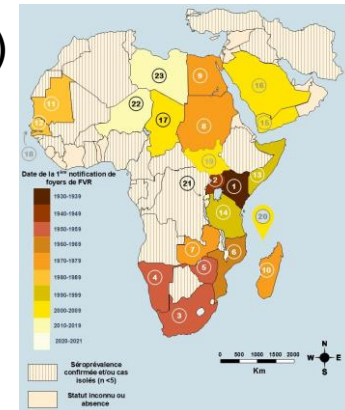
Développement d'un test de détection rapide (TDR) pour le diagnostic de la fièvre de la vallée du Rift (FVR) applicable aux santés humaine et animale

*Catherine CETRE-SOSSAH, CIRAD, UMR ASTRE
catherine.cetre-sossah@cirad.fr*

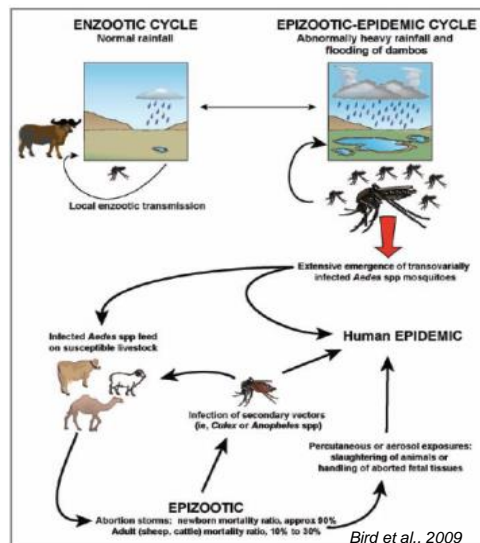


Qu'est ce que la FVR ?

- **Zoonose** majeure virale transmise par des arthropodes (au moins 6 genres de vecteurs démontrés (*Aedes spp.*, *Culex spp.*)
- **Epizooties / Epidémies majeures**
 - ➔ en Afrique : Egypte 1977, Mauritanie 1987, 2010-2013, 2020
Sénégal 2013, Kenya 2007/2008, RSA 2011/2018
 - ➔ au Moyen-Orient en 2000 (Arabie Saoudite/Yémen)
 - ➔ dans l'Océan Indien: Mayotte (2018/2019) et Madagascar (2021)



Quellec et al., 2021



Plusieurs facteurs influençant la périodicité des épizooties/ enzooties

- Diversité et compétence des vecteurs
- Facteurs climatiques
- Facteurs environnementaux
- Mouvements Animaux sur pieds
- Immunité des hôtes

Comment diagnostiquer la FVR en période épizootique/épidémique chez ses hôtes ?

■ Diagnostic clinique chez l'animal

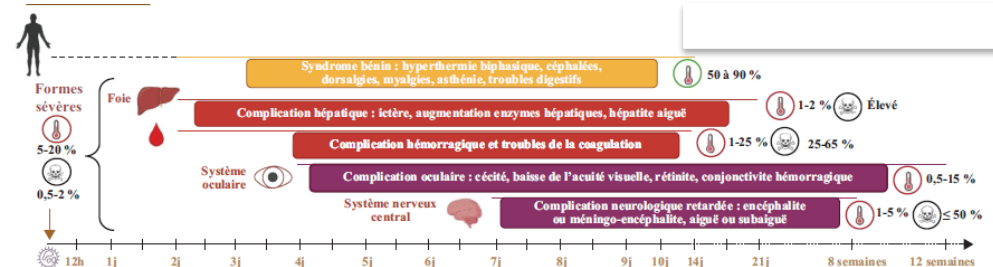
Hyperthermie, taux de mortalité très élevé, vagues d'avortements



EL Mamy et al., 2011

■ Diagnostic clinique chez l'homme

Arbovirose (Forte fièvre, céphalées, myalgies), complications hépatiques, hémorragiques, oculaires, neurologiques (5-20%)



Comment lutter/contrôler contre la FVR ?

- Promouvoir les systèmes de surveillance permettant une alerte précoce de la maladie chez les animaux et chez l'Homme (approche One Health) et prédire les zones à risque par modélisation
- Améliorer les systèmes de détection précoce de la maladie avec les techniques de diagnostic de laboratoire adaptées (sérologie ELISA de type IgM, amplification génomique (RT-PCR, LAMP), TDR) dans les laboratoires régionaux, chez l'hôte et chez le vecteur
- Développer des stratégies vaccinales adaptées permettant de limiter l'expansion de la maladie (vaccins vectorisés ou de type inactivés)

Pourquoi un TDR Antigène pour la FVR?

1. S'affranchir des conditions contrôlées contraignantes (laboratoire de contigence niveau 3 avec coût d'équipement et de maintenance élevé)

2. Test rapide au pied de l'homme et de l'animal, permettant une réactivité des personnels vétérinaires et médicaux → meilleure gestion de la maladie permettant de prendre les mesures de contrôle adaptées surtout pour certains pays avec des conditions géopolitiques parfois compliquées

How to Diagnose RVF ?

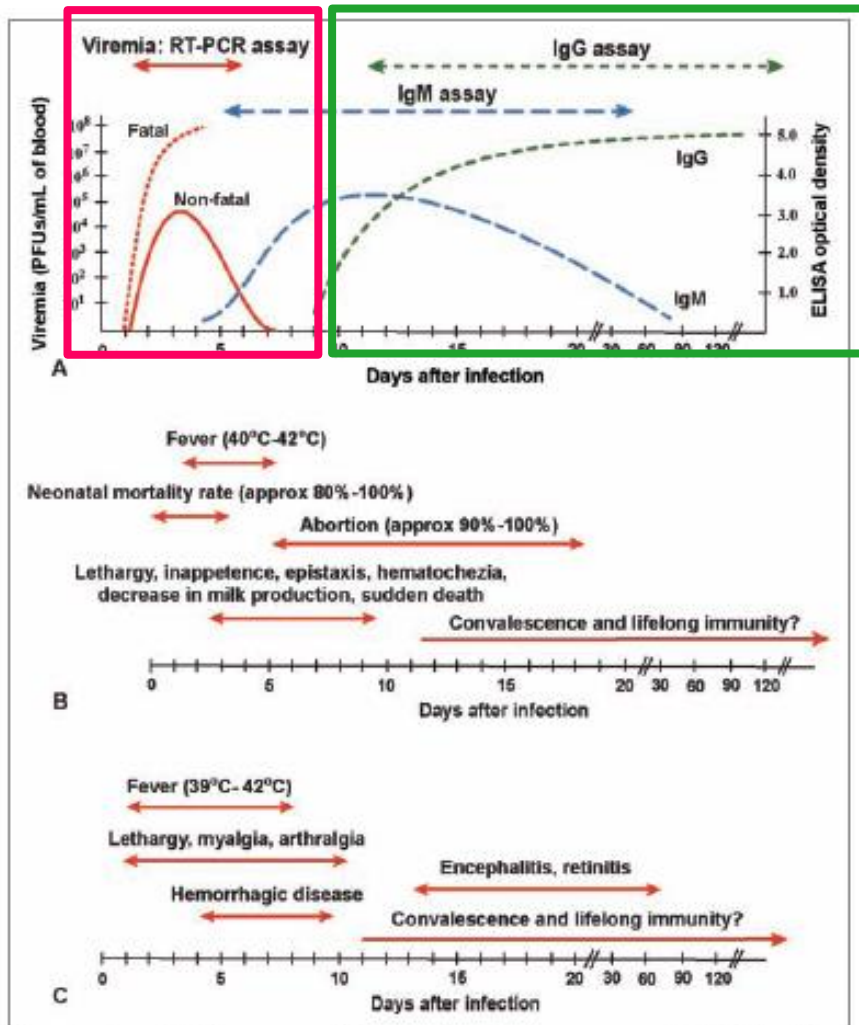


Figure 3—Generalized time course of viremia and antibody response against RVF virus in livestock (A) and the development of RVF disease among livestock (B) and humans (C). In panel A, the intervals during which diagnostic testing involving nucleic acid-based (RT-PCR assays) and serologic (RVF virus-specific IgM or IgG) assays are appropriate are indicated in relation to the period of viremia. To convert degrees Celsius to degrees Fahrenheit, multiply by 9/5 and add 32.

1. Identification the virus during the acute phase of the infection (1-7 days post infection)

2. Antibody detection at a later stage of infection (> 8 days post infection)

Développement du TDR FVR, plusieurs étapes ...

- Identification des protéines immuno-dominantes détectables lors d'une infection naturelle
→ dans notre cas, la nucléoprotéine N et les protéines de G_N/G_c
- Production de ces protéines en système d'expression (bactéries, baculovirus, levures) sous forme de VLPs
- Production des anticorps monoclonaux dirigés contre ces protéines par fusion de cellules immortelles de type Sp2O et de cellules spléniques de souris immunisées (Société Biotem)

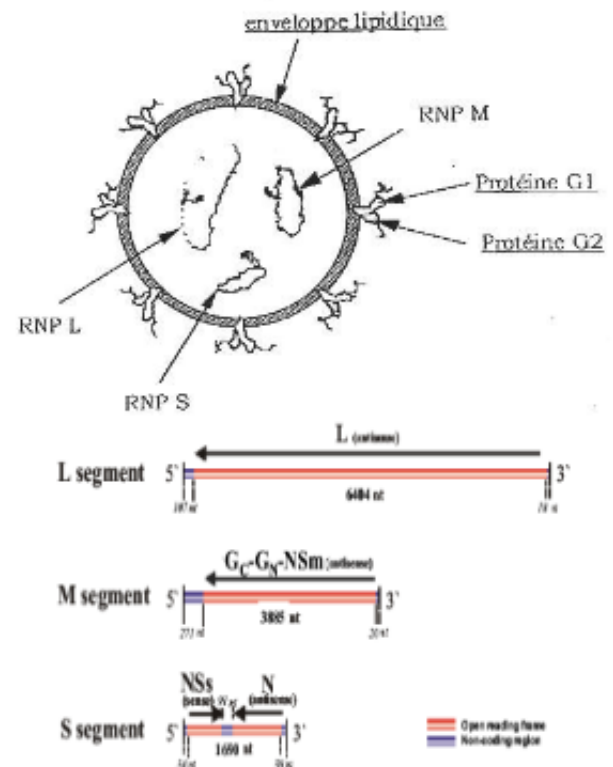
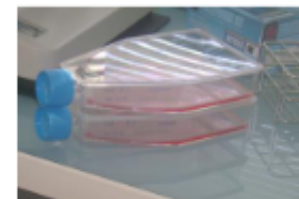
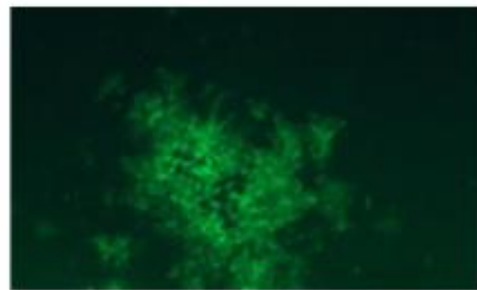


Figure 1. Schematic representation of the genome organization of RVFV MP12 strain. The overall segment length as well as the length of the flanking non-coding regions are indicated. L: viral RNA-dependent RNA polymerase. G_c : glycoprotein located at the C-terminus of the precursor molecule. G_s : glycoprotein located at the N-terminus of the precursor molecule. NSM: M segment-derived non-structural protein. NSs: S segment-derived non-structural protein.

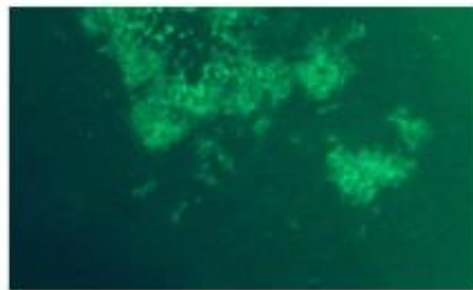


Développement du TDR FVR, plusieurs étapes ...

- Obtention de plusieurs hybridomes producteurs d'anticorps, choix de 2 Mab 10H3-4E4-3D5 and Mab 8E10-4A4
- Validation de leurs reconnaissances par différents tests: ELISA, IFAT ou Western Blot



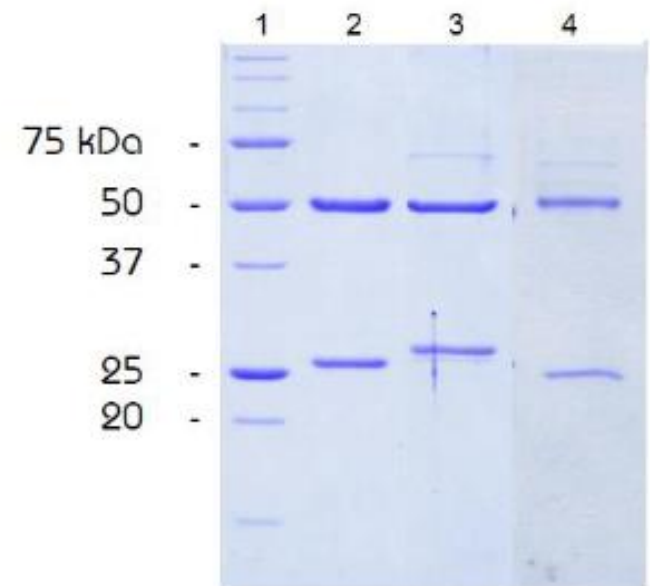
8 E10-4A4



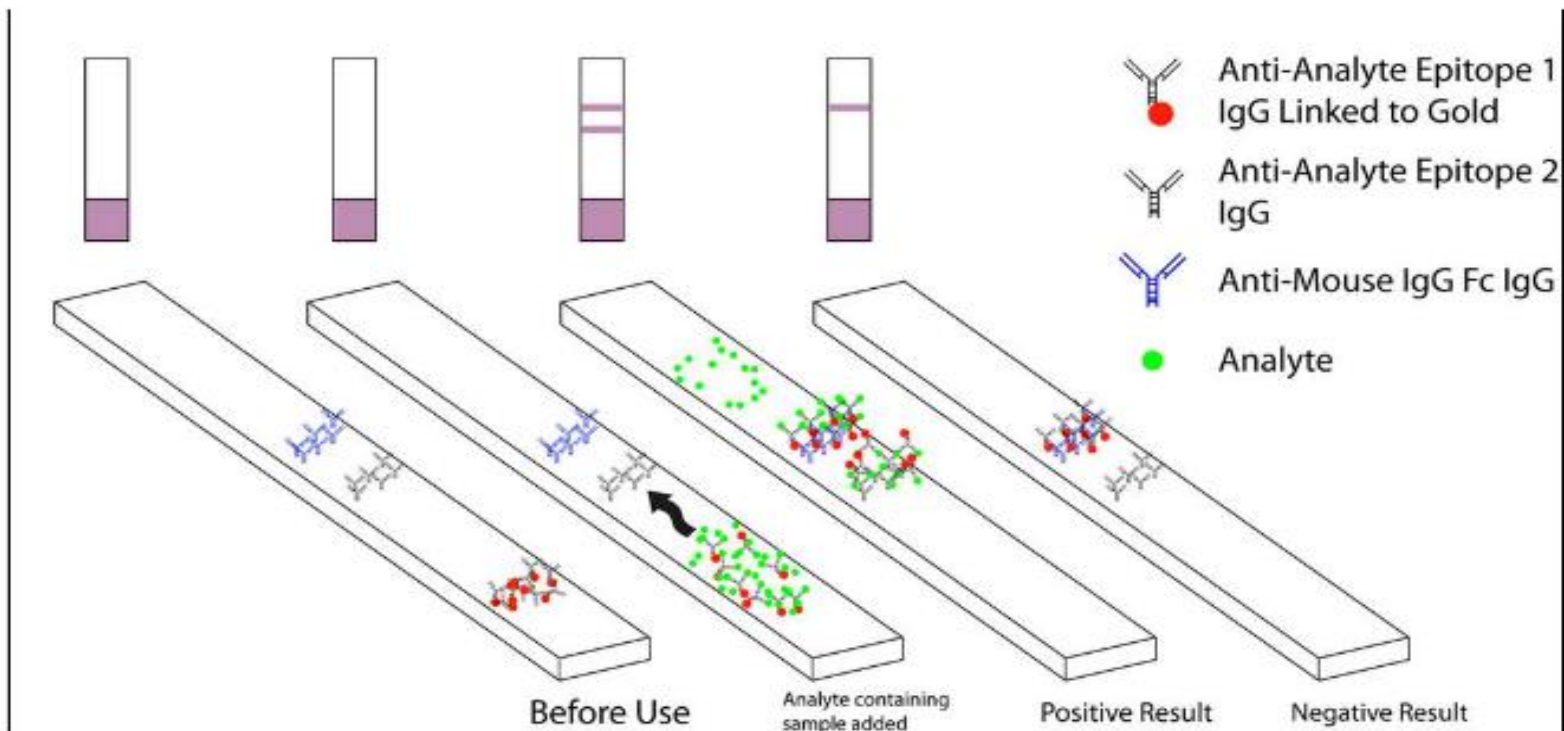
10H3 -4E4-3D5



Negative control



Développement du TDR FVR, plusieurs étapes ...



Dans notre cas :

- Choix d'une combinaison de 2 Mab 10H3-4E4-3D5 comme anticorps de coating et Mab 8E10-4A4 comme anticorps conjugué, marqué à l'or colloïdal (Montage et validation du test: Svanova Boehringer Mannheim, Suède)

Evaluation de la spécificité, sensibilité et détectabilité du test : comment fait-on ?

Sensibilité



Test de 25 souches de FVR de terrain d'origine géographique différentes

→ DSe = 100% (25/25 détectés)

Spécificité



- Echantillons de statut négatif connu et d'origine variée (n=150)

- 9 souches virales responsables de pathologies similaires (n=9)

→ Aспе = 98,75% (2/159 détectés)

A. Sensitivity and detectability

Genus	Strain/Species	Year of isolation	Country of origin	Source	LFT result
Phlebovirus	RVFV strain Smithburn *	1944	Uganda	mosquito	Positive
Phlebovirus	RVFV strain Lunyo	1955	Uganda	mosquito	Positive
Phlebovirus	RVFV strain AN 1830 *	1956	South Africa	sheep	Positive
Phlebovirus	RVFV strain KEN56/B2653/IB8	1963	Kenya	bovine	Positive
Phlebovirus	RVFV strain 56/74 (WYJIUQWO) *	1974	South Africa	cow	Positive
Phlebovirus	RVFV strain 252/75 *	1975	South Africa	NA	Positive
Phlebovirus	RVFV strain ZH501	1977	Egypt	human	Positive
Phlebovirus	RVFV strain VRL688/78	1978	Zimbabwe	bovine	Positive
Phlebovirus	RVFV strain AR 20368 *	1981	South Africa	mosquito	Positive
Phlebovirus	RVFV ARD 38388	1983	Burkina Faso	mosquito	Positive
Phlebovirus	RVFV ARD 38661	1983	Senegal	mosquito	Positive
Phlebovirus	RVFV 143/83	1983	Namibia	human	Positive
Phlebovirus	RVFV ANK 6087	1984	Guinea	bat	Positive
Phlebovirus	RVFV SPU45/85	1985	Zambia	human	Positive
Phlebovirus	RVFV SPU204/855	1985	Angola	human	Positive
Phlebovirus	RVFV An991	1991	Madagascar	bovine	Positive
Phlebovirus	RVFV Tambul	1994	Egypt	ovine	Positive
Phlebovirus	RVFV SPU12/98/2	1998	Somalia	goat	Positive
Phlebovirus	RVFV strain AR21229	2000	Saudi Arabia	mosquito	Positive
Phlebovirus	RVFV F057	2007	Kenya	human	Positive
Phlebovirus	RVFV AL51 *	2009	Madagascar	mosquito	Positive
Phlebovirus	RVFV HA 09-001 *	2008	Madagascar	bovine	Positive
Phlebovirus	RVFV strain 26010 YK0 *	2010	Mauritania	camel	Positive
Phlebovirus	RVFV strain Field isolate 2687	2013	Mauritania	goat	Positive
Phlebovirus	RVFV strain Field isolate 2	2013	Senegal	goat	Positive

B. Specificity

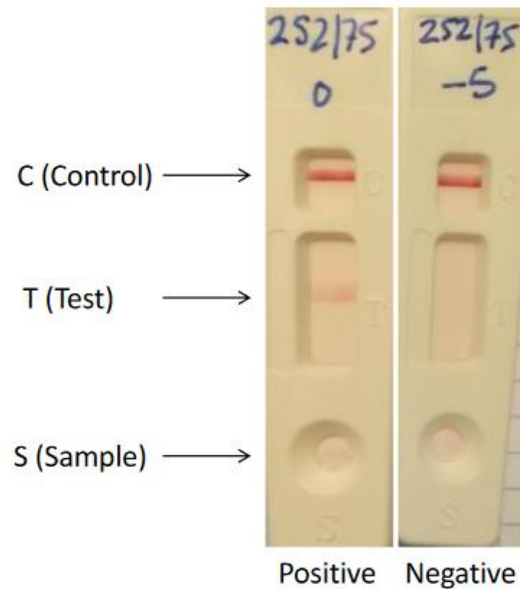
Phlebovirus	Arumowot virus	1963	Sudan	Culex autennatus	Negative
Phlebovirus	Gabek forest virus	1981	Unknown	Unknown	weak band
Phlebovirus	Saint Floris virus	1981	Unknown	Unknown	Negative
Flavivirus	Dengue virus, serotype 2	2012	La Réunion, France	human	Negative
Orthobunyavirus	Akabane virus	1978	Unknown	Unknown	Negative
Orthobunyavirus	Shamonda virus	1972	Unknown	Unknown	Negative
Alphavirus	Chikungunya virus Chik #4	2006	La Réunion, France	human	Negative
Reovirus	Bluetongue virus, serotype 2	2002	Corsica, France	ovine	Negative
Morbillivirus	Peste des petits ruminants strain PPRV 75/1	1975	Nigeria	goat	Negative
NA	Sera samples	2017	mainland France	goat/bovine	Negative
NA	Sera samples	2015	Union of Comoros	goat/bovine	Negative
NA	Sera samples	2016	Reunion, France	bovine	Negative
NA	Sera samples	2010	Tunisia	goat/camel	Negative
NA	Sera samples	2011	Madagascar	goat/bovine	Negative
NA	Sera samples	2016	Mayotte	bovine	Negative

NA/Not Applicable

* tested to determine ASe

Prototype ready to use...

Validated on Mayotte 2019 outbreak field samples



- Améliorer la sensibilité du TDR, combinant la détection antigène/anticorps / précocité d'une alerte épidémique



- Commercialisation d'un premier lot Juin 2022
- Déploiement en santé animale et humaine

iD.vet

Une approche une seule santé ...



Recherche de partenaires industriels pour des tests de diagnostic pour des maladies qui ne touchent pas encore l'Europe mais sont à risque pour l'Europe, et à destination des PVD



Test de détection rapide en santé végétale

A scenic view of a forest path. In the foreground, a large, weathered tree trunk stands on the left. A dirt path winds through a lush green forest, with moss-covered ground and various trees and shrubs. The background shows a hazy, mountainous landscape. Overlaid on the center of the image is the text "Merci pour votre attention" in white, bold, sans-serif font.

**Merci
pour votre attention**