

FORMATION CONTINUE – ARTICLE DE SYNTHÈSE

La vaccination comme outil de lutte contre la fièvre aphteuse

DE CLERCQ K.

Centre de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques (CERVA)
 Section de Développement de diagnostic des maladies épizootiques
 Groeselenberg 99, B-1180 Bruxelles (Uccle), Belgique.

Correspondance : Kris De Clercq; email : kris.de.clercq@var.fgov.be

RESUME : Pour la lutte contre la fièvre aphteuse la plupart des pays européens adapteront à une stratégie de non vaccination complétée d'une vaccination d'urgence. Cette vaccination d'urgence peut être réalisée de deux façons : sous forme d'une vaccination destinée à protéger un périmètre ou bien sous la forme d'une vaccination suppressive afin de réduire l'excrétion du virus. Plusieurs formulations de vaccins (sur base de protéines, peptide, ADN) sont développés mais seul le vaccin conventionnel a prouvé son efficacité sur le terrain. Il sera crucial de différencier sans retard les anticorps induits par une vaccination de ceux synthétisés suite à une infection. Lorsqu'un foyer est déclaré et qu'une vaccination d'urgence est appliquée, le délai d'attente pour pouvoir récupérer le statut de "pays indemne" sera fixé à 6 mois, pour autant qu'un examen sérologique basé sur la détection d'anticorps dirigés contre les protéines virales non structurales démontre l'absence d'infection dans la population vaccinée. Si l'on envisage de passer à une politique de vaccination prophylactique de routine, il faut prendre en considération qu'il y a 7 sérotypes du virus fièvre aphteuse qui ont chacun de nombreux sous-types et que les avions et les bateaux peuvent faire entrer dans le pays des sous-types éloignés.

Conférence donnée à l'assemblée générale de l'Association d'Epidémiologie et de Santé Animale (AESA) le 12 octobre 2001 à Bruxelles

INTRODUCTION

La fièvre aphteuse est une maladie du bétail extrêmement contagieuse et destructrice, qui est connue depuis au moins quatre siècles et dont l'agent causal a été pour la première fois identifié en 1897. Toutes les espèces de ruminants y sont sensibles. Les pertes financières consécutives à la fièvre aphteuse peuvent être importantes. Elle cause des pertes directes dues à la mortalité parmi les jeunes animaux, des pertes au niveau du rendement en lait et en viande, et des baisses de productivité. Les coûts associés à l'éradication de la maladie ou à la lutte contre celle-ci peuvent être importants. De plus, il y a des pertes indirectes résultant des restrictions commerciales imposées (Brooksby, 1982).

La fièvre aphteuse est l'un des deux

membres du genre *Aphthovirus*, de la famille des *Picornaviridae*. Le virus de la fièvre aphteuse est antigéniquement hétérogène. Il existe sept sérotypes distincts, à savoir O, A, C, ASIA1, SAT1, SAT2, SAT3 (SAT = *Southern African Territories*). Un animal qui a surmonté une infection par un sérotype donné est résistant aux attaques du même sérotype mais demeure sensible à une infection causée par tout autre sérotype. De plus, il existe au sein de chaque sérotype une diversité antigénique considérable. C'est surtout vrai pour le type A (Belsham, 1993). En Europe, la fièvre aphteuse avait été éradiquée par une combinaison d'abattages sanitaires (*stamping out*) et de vaccination. L'introduction, dans les années cinquante et soixante, d'une vaccination annuelle massive obligatoire des bovins a réduit l'incidence de la mala-

die à un point tel que durant les années nonante, on n'a pas enregistré de foyers en Europe. La vaccination des bovins contre la fièvre aphteuse a été arrêtée en 1990-91 dans l'Union Européenne (UE) et dans la plus grande partie de l'Europe continentale. Ceci s'est traduit par la présence d'une importante population d'animaux très sensibles, et des attaques répétées de souches de la fièvre aphteuse provenant du Moyen-Orient ont été enregistrées depuis l'arrêt des vaccinations (Kitching, 1998), en Bulgarie en 1993 et 1996, en Italie en 1993, en Albanie/République de Macédoine/Kosovo en 1996, en Grèce le sérotype O en 1994 et 1996 et le sérotype ASIA1 en 2000, en Turquie (Thrace) 1995 et 2001, en Russie en 1995 et 2000. Ces attaques sont tout à fait différentes de celles enregistrées au Royaume Uni en

2001 (type O Pan Asia), avec des contaminations en France, en Irlande et aux Pays-Bas, dans une zone à concentration d'animaux fort dense.

Ce qui est particulièrement préoccupant pour l'Europe, c'est la situation en Turquie d'Asie, en Iran et en Irak (présence simultanée des sérotypes O/A et Asia1) et dans certains pays de la Communauté des Etats Indépendants (CEI) comme la Géorgie, l'Arménie et le Kazakhstan, où les sérotypes O/A et Asia1 sont présents à l'état endémique.

LA VACCINATION

La lutte contre la fièvre aphteuse dans les zones où elle est endémique est mise en œuvre par une *vaccination régulière* (Sobrino *et al.*, 2001). L'abattage sanitaire est appliqué comme stade final d'une campagne d'éradication, en vue d'éliminer le virus une fois que la maladie a été contrôlée. Par après, une *vaccination prophylactique* est poursuivie pendant plusieurs années. De cette manière, en utilisant des vaccins monovalents ou multivalents contre la fièvre aphteuse, plusieurs pays du Moyen-Orient, d'Afrique, d'Amérique du Sud et d'Asie essaient de garder la fièvre aphteuse sous contrôle et l'ont éradiquée. Pendant un moment on a cru que l'Uruguay et l'Argentine y étaient parvenus, mais la fièvre aphteuse est revenue en 2001 dans ces pays. En Arabie Saoudite, des vaccins contenant 7 sous-types différents sont utilisés en quatre vaccinations par an.

Au cours des deux dernières décennies, la plupart des pays européens sont graduellement passés à une stratégie de non vaccination complétée d'une *vaccination d'urgence*. Alors que ces pays comptent essentiellement sur l'abattage, les restrictions de mouvement et les mesures de contrôle zoosanitaire (Donaldson et Doel, 1992), les mesures que leur offrent ce type de vaccination leur seront d'un grand secours au cas où le foyer tend à s'étendre. Cette vaccination d'urgence peut être réalisée sous forme d'une *vaccination destinée à protéger un périmètre, une région ou un pays*, à une certaine distance autour du foyer (troupeau atteint) de fièvre aphteuse, en vue de protéger les animaux, ou bien sous la forme d'une *vaccination suppressive* à proximité immédiate du ou même

dans le foyer de fièvre aphteuse, afin de réduire la propagation et l'excrétion du virus. Dans les deux cas, les animaux vaccinés peuvent être laissés en vie et entrer dans la chaîne alimentaire interne au pays (Israël, Argentine, Uruguay), ou bien ils peuvent être abattus et détruits (Pays-Bas).

En vue du contrôle d'un grave épisode de la maladie, la vaccination devra toujours être complétée par des contrôles stricts des mouvements d'animaux et d'être humains. L'infection peut facilement se répandre par contact direct entre animaux. La maladie peut se propager de manière extrêmement rapide dans les zones d'élevage intensif à cause de la forte densité de bétail et du niveau de pression infectieuse venant aussi bien des animaux infectés que de l'environnement (salive, matières fécales). La transmission indirecte de l'infection par contact avec des personnes (vétérinaires) ou du matériel contaminé est également importante.

LES VACCINS

Vaccins conventionnels

Les vaccins conventionnels contre la fièvre aphteuse sont basés sur des virus chimiquement inactivés (Barteling et Vreeswijk, 1991). La première substance inactivante utilisée pour leur production a été la formol; toutefois, son utilisation a été associée à des inactivations incomplètes du virus (Beck et Strohmaier, 1987) et elle a été remplacée par l'éthylèneimine binaire. Avant l'inactivation, il est important que les cultures de virus soient bien purifiées. C'est également essentiel pour pouvoir différencier les animaux vaccinés des animaux infectés. La formulation efficace des vaccins inactivés contre la fièvre aphteuse requiert des adjuvants; les adjuvants communément utilisés sont le Al(OH)₃/saponine (pour les ruminants), et des formulations à base d'huile incomplète (pour les porcs et les bovins) (Doel, 1999). Les formulations de vaccins comprennent fréquemment des virus de différents sérotypes, et la préparation du vaccin implique la production de grandes quantités de virus en culture de tissu; des équipements de haut niveau de biosécurité sont donc requis. La vaccination n'empêche pas l'infection des ruminants protégés par

le virus de la fièvre aphteuse (Salt, 1993). L'établissement de l'état de porteur est indépendant du statut d'immunité de l'animal au moment de l'exposition à l'infection, en d'autres termes une immunité préexistante à l'égard de la fièvre aphteuse, sous forme d'anticorps en circulants, n'empêche pas les animaux de devenir porteurs du virus. La transmission de la maladie clinique du porteur aux bovins sensibles n'a jamais été démontrée dans des conditions expérimentales. Cependant, les faits tendent à prouver de plus en plus, notamment en Afrique, que la transmission peut se faire de bovins ou buffles porteurs à des bovins sensibles avec lesquels ils sont en contact étroit (Thomson, 1997).

Vaccins d'urgence

De nombreux pays conservent une réserve stratégique de vaccins anti-fièvre aphteuse pour le cas où la maladie se déclarerait. Les réserves, ou banques, consistent soit en vaccins tout prêts, soit en stocks d'antigènes concentrés conservés dans l'azote liquide, et dont on peut rapidement faire des vaccins. Contrairement aux vaccins conventionnels, les vaccins d'urgence ont souvent une plus grande puissance (≥ 6 doses protectrices 50 (PD50)) afin d'assurer à la fois une immunité rapide (4 jours) (Salt *et al.*, 1998 ; Cox *et al.*, 1999) et une plus grande immunité croisée.

Protéines, fragments de protéines et sous-unités virales

La protéine VP1 est le seul produit de capsid virale capable d'induire des anticorps neutralisants et de conférer une protection partielle (Bachrach *et al.*, 1975 ; Meloen et Barteling, 1986). Son faible caractère immunogène peut s'expliquer par une structure tridimensionnelle inadéquate de la VP1 en solution. Des niveaux élevés d'anticorps neutralisants ont été relatés récemment chez des souris immunisées avec une VP1 obtenue à partir de plantes transgéniques (Carrillo *et al.*, 1998).

Les capsides vides conservent la majeure partie des propriétés immunogènes et antigéniques des particules virales, c'est pourquoi leur production dans des vecteurs recombinants à des fins de fabrication de vaccins a retenu l'attention de dif-

férents groupes. Néanmoins, d'autres travaux sont encore nécessaires pour améliorer l'efficacité de la formulation en capsides vides (Grubman *et al.*, 1993).

Vaccins à base de peptides

La grande quantité d'informations disponibles sur la structure antigénique du virus a permis la fabrication de vaccins à base de peptides synthétiques correspondant à des épitopes de cellules B identifiées sur la capside virale (Brown, 1988). Le caractère immunogène de ces constructions de peptides dans une série d'espèces hôtes était sensiblement inférieur à celui des vaccins conventionnels. Il a été relaté que différents peptides induisaient une protection partielle à l'égard d'une infection virale, le pourcentage de bovins protégés allant de 23 à 39 % (Taboga *et al.*, 1997). Dans 41 % des lésions décelées sur les animaux non protégés, on a trouvé des virus mutants de la fièvre aphteuse.

L'utilisation de mélanges de peptides couvrant différentes variantes antigéniques peut réduire les chances de sélection de mutants rescapés. De même, l'insertion d'épitopes de cellules T immunodominantes (Blanco *et al.*, 2000) dans des protéines structurales et non structurales du virus de la fièvre aphteuse pourrait aboutir à la fabrication de vaccins anti-fièvre aphteuse à base de peptides plus sûrs et plus efficaces.

Expression de protéines virales dans des vecteurs de réplication

L'induction plus efficace d'une immunité protectrice par des vaccins vivants, comparée à celle obtenue par des antigènes inactivés, a été relatée pour un certain nombre de virus, y compris de la famille des *Picornaviridae* (Usherwood et Nash, 1995). Une stratégie utilisée en vue d'atteindre ce but consiste à présenter un antigène étranger sous une forme répliquative exprimée à partir de vecteurs viraux recombinants. Il a été démontré que l'adénovirus recombinant exprimant la P1 donne une protection partielle à l'égard d'une infection expérimentale du virus de la fièvre aphteuse chez les bovins (Sanz-Parra *et al.*, 1999a) et les porcs (Sanz-Parra *et al.*, 1999b). En contraste avec les observations chez les vaccins inactivés, la protection

rencontrée avec ce vaccin vecteur avait été obtenue en l'absence d'anticorps antiviraux détectables, et il est probable qu'elle est provoquée principalement par l'intermédiaire d'une réaction immunitaire type cellulaire (Sanz-Parra *et al.*, 1999b).

Souches vivantes atténuées

Les souches classiques atténuées du virus de la fièvre aphteuse obtenues par l'adaptation et des passages supplémentaires de virus virulents dans des hôtes non sensibles (Sagedahl *et al.*, 1987) tels que les lapins sont utilisées comme vaccins en Chine et dans quelques pays de la CEI (République de Kirghizistan). Le risque inhérent à la réversion fréquente de virus atténués à des formes virulentes (Mason *et al.*, 1997), ainsi que le fait que les souches virales atténuées pour un hôte donné peuvent être virulentes pour d'autres hôtes naturels (Sagedahl *et al.*, 1987), a constitué un obstacle à l'utilisation de tels vaccins.

Les nouveaux vaccins à base de virus atténués ont été obtenus par génie génétique (Chinsangaram *et al.*, 1998). Des virus chimères faits, par exemple, de parties de virus de la polio et de la fièvre aphteuse, ont induit une protection chez des hôtes naturels. Une étude prudente de la stabilité et de la pathogénicité de nouveaux vaccins recombinants est nécessaire avant qu'on puisse envisager de les tester sur le terrain.

Vaccins à base d'ADN

Récemment a été rapportée l'induction d'une protection chez des porcs immunisés par un vaccin à base d'ADN contenant un clone infectieux atténué du virus de la fièvre aphteuse (Ward *et al.*, 1997). L'efficacité des vaccins d'ADN peut être potentialisée par la co-expression d'immunogènes du virus de la fièvre aphteuse et de cytokines appropriées pour l'induction d'une immunité de protectrice (Lai et Bennett, 1998).

DIFFÉRENCIATION DES ANIMAUX VACCINÉS DES ANIMAUX INFECTÉS

Si l'on trouve des anticorps du virus de la fièvre aphteuse chez des animaux importés, il est crucial de diffé-

rencier sans retard les anticorps provenant d'une vaccination de ceux provenant d'une infection. Un test de laboratoire permettant de faire la distinction entre les deux types d'anticorps pourrait aussi être utilisé pour identifier les animaux infectés dans les régions où une vaccination d'urgence a été appliquée, étant donné que les animaux vaccinés peuvent être infectés sans présenter de signes cliniques. Si on détecte des anticorps contre les protéines non structurales (NSP) du virus de la fièvre aphteuse au moyen du test NSP-ELISA (De Diego *et al.*, 1997), c'est l'indice d'une infection antérieure. Les NSP ne sont produites que durant le cycle de multiplication du virus. Les NSP sont également produites pendant le processus de culture *in vitro* du virus de la fièvre aphteuse utilisé pour la production de vaccins. Ces cultures du virus doivent être extrêmement purifiées avant leur utilisation dans la formulation de vaccins, de telle sorte que toutes les NSP soient éliminées. Grâce à ce traitement, il n'y aura pas de formation d'anticorps contre les NSP après vaccination, et il sera possible de différencier les animaux vaccinés des animaux infectés.

Un système distinctif est ainsi instauré, quoiqu'on ne dispose pas encore de réels vaccins marqueurs. Le test de distinction sera très précieux lors de la séro-surveillance après une vaccination d'urgence, en vue de déclarer le troupeau "indemne d'infection". Le test qui a la meilleure valeur de validation en Europe est le 3-ABC-ELISA. Le problème de la disponibilité de réactifs pour un screening de masse sera bientôt résolu par la production de kits commerciaux (Bommeli Diagnostics-Intervet). Un ELISA à base de peptide avait été utilisé après l'épidémie de Taiwan (1997) (United Biomedical Inc.).

VACCINATION ET ÉCHANGES COMMERCIAUX

La vaccination a de sérieuses implications sur le commerce. Les règles régissant les échanges d'animaux et de produits animaux sont reprises dans le "code de l'Office International des Epizooties (OIE)" (OIE, 2001). Les règles de l'OIE sont en révision et les propositions sont les suivantes :
Catégories distinctes :
- pays indemne d'infection de fièvre

- aphteuse où n'est pas pratiquée la vaccination
- pays indemne d'infection de fièvre aphteuse où est pratiquée la vaccination
- zone indemne d'infection de fièvre aphteuse où n'est pas pratiquée la vaccination
- zone indemne d'infection de fièvre aphteuse où est pratiquée la vaccination

Un pays ou une zone indemne d'infection de fièvre aphteuse ne peut importer d'animaux vaccinés, sous peine de perdre son statut.

Lorsqu'une infection de fièvre aphteuse se produit dans un pays ou une zone indemne d'infection de fièvre aphteuse où n'est pas pratiquée la vaccination, les délais d'attente suivants sont proposés (dans le nouveau projet de code OIE) pour pouvoir récupérer le statut de "pays/zone indemne d'infection fièvre aphteuse où n'est pas pratiquée la vaccination":

- a) 3 mois après le dernier cas, là où l'abattage sanitaire et la surveillance sérologique sont appliqués; ou
- b) 3 mois après l'abattage du dernier animal vacciné, là où l'abattage sanitaire, une surveillance sérologique et une vaccination d'urgence sont appliqués (par ex. aux Pays-Bas);
- c) 6 mois après la dernière vaccination, là où l'abattage sanitaire, une surveillance sérologique et une vaccination préventive d'urgence sont appliqués, pour autant qu'une inspection sérologique basée sur la détection d'anticorps de protéines non structurales démontre l'absence d'infection dans la population vaccinée;
- d) 2 ans après la dernière vaccination là où l'abattage sanitaire et l'abattage des animaux vaccinés ne sont pas pratiqués, et pour autant qu'une inspection sérologique basée sur la détection d'anticorps de protéines non structurales du virus de la fièvre aphteuse démontre l'absence d'infection dans la population vaccinée.

Lorsqu'une infection de fièvre aphteuse se produit dans un pays ou une zone indemne de fièvre aphteuse où est pratiquée la vaccination, les délais d'attente suivants sont proposés (dans le nouveau projet du code OIE) pour pouvoir récupérer le statut de "pays/zone indemne d'infection de fièvre aphteuse où est pratiquée la

vaccination":

- a) 6 mois après le dernier cas si une étude sérologique basée sur la détection d'anticorps des protéines non structurales démontre l'absence d'infection dans le pays ou la zone où sont appliqués l'abattage sanitaire, une surveillance sérologique et une vaccination d'urgence;
- b) 12 mois après le dernier cas là où l'abattage sanitaire est appliqué;
- c) 2 ans après le dernier cas en l'absence d'abattage sanitaire,

pour autant qu'une surveillance efficace se sera exercée.

Si un pays indemne d'infection fièvre aphteuse où est pratiquée la vaccination souhaite changer son statut en 'pays indemne d'infection de fièvre aphteuse où n'est pas pratiquée la vaccination',

- a) une période d'attente de 12 mois après la cessation des vaccinations est requise;
- b) le pays doit prouver que l'infection par le virus de la fièvre aphteuse n'a pas eu lieu au cours des 12 derniers mois.

CONCLUSIONS

Si on envisage de passer d'une politique de non vaccination à une politique de vaccination prophylactique de routine, il faut prendre en considération toutes les conséquences que ce changement entraîne sur le plan des échanges commerciaux. Tous les secteurs (agriculture, industrie, bien-être des animaux, tourisme, etc.) doivent être impliqués dans la décision et prendre leurs responsabilités. Commencer par demander un changement de politique, pour reprocher ensuite à l'Etat les conséquences négatives de ce changement est trop facile. Une discussion à l'échelle mondiale est nécessaire à propos de l'acceptation des produits venant d'animaux vaccinés. L'Europe, et ultérieurement même les USA, ont accepté pendant de nombreuses années de la viande désossée d'animaux vaccinés provenant d'Argentine.

Un aspect important à considérer est le choix des sous-types du virus à inclure dans le vaccin (il y a 7 sérotypes qui ont chacun de nombreux sous-types). Ce choix pourrait être basé sur une analyse de risque. L'épidémie au Royaume-Uni a montré clairement qu'un facteur auquel un faible risque est attribué pouvait

encore survenir. Les avions et les bateaux peuvent faire entrer dans le pays des sous-types éloignés.

Si on conserve une politique de non vaccination, les actions à prendre en cas d'apparition de la maladie doivent être consignées dans un plan d'urgence. Si le seul abattage sanitaire (y compris l'abattage préventif) est appliqué, il faut que les ressources tant matérielles qu'humaines soient adéquates. Après le dernier foyer, la preuve doit être apportée de l'absence de circulation du virus, surtout si des ovins sont concernés. A l'avenir, les décideurs seront confrontés à une opposition croissante à l'égard de l'abattage massif d'animaux.

L'abattage sanitaire (y compris l'abattage préventif) doit être complété d'une vaccination d'urgence, surtout si la capacité d'abattage et de destruction est trop faible (dans les zones à peuplement élevé) ou s'il y a un risque accru que des porcs soient concernés. Ces actions ont pour but de stopper la propagation du virus avant l'apparition de signes cliniques. Les animaux vaccinés peuvent être traités de deux façons. S'ils sont abattus et détruits, le marché d'exportation sera réouvert après 3 mois, mais il faut s'attendre à une opposition croissante contre la destruction de cette viande. Si les animaux vaccinés sont laissés en vie, le risque d'avoir des porteurs de virus est réel, et une période d'attente de 6 mois pour l'exportation sera appliquée, avec une inspection soignée en vue de détecter le virus en circulation. S'il est question d'une infection subclinique, comme chez les ovins, et que le virus de la fièvre aphteuse s'est propagé sur une région plus étendue, il faut vacciner toute la région afin de stopper la propagation du virus.

SUMMARY

Vaccination as a tool to control foot-and-mouth disease.

For the control of foot-and-mouth disease most European countries will move toward a non- vaccination strategy supplemented with emergency vaccination. This emergency vaccination can be done as a ring vaccination or as a suppressive vaccination for damping down the virus excretion. Several different sorts of vaccines (based on proteins, peptides, DNA) were developed but only the conventional vaccine has proven to be effective in the field. It will be crucial to differentiate without delay between antibodies from a vaccination and from infection. When an outbreak occurs and emergency vaccination is applied, the waiting period to regain the "FMD free" status is 6 months if a serosurvey based on the detection of antibodies to non-structural proteins demonstrates the absence of infection in the vaccinated population. If a change to a prophylactic routine vaccination policy is considered then it has to be taken into account that foot-and-mouth disease virus has 7 serotypes with each many subtypes and that airplanes and boats can bring far-away subtypes into the country.

BIBLIOGRAPHIE

- BACHRACH H.L., MOORE D.M., MCKERCHER P.D., POLATNICK J. Immune and antibody responses to an isolated capsid protein of foot-and-mouth disease virus. *J. Immunol.*, 1975, **115**, 1636-1641.
- BARTELING S.J., VREESWIJK J. Developments in foot-and-mouth disease vaccines. *Vaccine*, 1991, **9**, 75-88.
- BECK E., STROHMAIER K. Subtyping of European foot-and-mouth disease virus strains by nucleotide sequence determination. *J. Virol.*, 1987, **61**, 1621-1629.
- BELSHAM G.J. Distinctive features of foot-and-mouth disease virus, a member of the picornavirus family; aspects of virus protein synthesis, protein processing and structure. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 1993, **60**, 241-260.
- BLANCO E., MCCULLOUGH K., SUMMERFIELD A., FIORINI J., ANDREU D., CHIVA C., BORRAS E., BARNETT P., SOBRINO F. Interspecies major histocompatibility complex-restricted Th cell epitope on foot-and-mouth disease virus capsid protein VP4. *J. Virol.*, 2000, **74**, 4902-4907.
- BROOKSBY J.B. Portraits of viruses: foot-and-mouth disease virus. *Intervirology*, 1982, **18**, 1-23.
- BROWN F. Use of peptides for immunization against foot-and-mouth disease. *Vaccine*, 1988, **6**, 180-182.
- CARRILLO C., WIGDOROVITZ A., OLIVEROS J.C., ZAMORANO P.I., SADIR A.M., GOMEZ N., SALINAS J., ESCRIBANO J.M., BORCA M.V. Protective immune response to foot-and-mouth disease virus with VP1 expressed in transgenic plants. *J. Virol.*, 1998, **72**, 1688-1690.
- CHINSANGARAM J., MASON P.W., GRUBMAN M.J. Protection of swine by live and inactivated vaccines prepared from a leader proteinase-deficient serotype A12 foot-and-mouth disease virus. *Vaccine*, 1998, **16**, 1516-1522.
- COX S.J., BARNETT P.V., DANI P., SALT J.S. Emergency vaccination of sheep against foot-and-mouth disease: protection against disease and reduction in contact transmission. *Vaccine*, 1999, **17**, 1858-1868.
- DE DIEGO M., BROCCHI E., MACKAY D., DE SIMONE F. The non-structural polyprotein 3ABC of foot-and-mouth disease virus as a diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle. *Arch. Virol.*, 1997, **142**, 2021-2033.
- DOEL T.R. Optimisation of the immune response to foot-and-mouth disease vaccines. *Vaccine*, 1999, **17**, 1767-1771.
- DONALDSON A.I., DOEL T.R. Foot-and-mouth disease: the risk for Great Britain after 1992. *Vet. Rec.*, 1992, **131**, 114-120.
- GRUBMAN M.J., LEWIS S.A., MORGAN D.O. Protection of swine against foot-and-mouth disease with viral capsid proteins expressed in heterologous systems. *Vaccine*, 1993, **11**, 825-829.
- KITCHING R.P. A recent history of foot-and-mouth disease. *J. Comp. Pathol.*, 1998, **118**, 89-108.
- LAI W.C., BENNETT M. DNA vaccines. *Crit. Rev. Immunol.*, 1998, **18**, 449-84.
- MASON P.W., PICCONE M.E., MCKENNA T.S., CHINSANGARAM J., GRUBMAN M.J. Evaluation of a live-attenuated foot-and-mouth disease virus as a vaccine candidate. *Virology*, 1997, **227**, 96-102.
- MELOEN R.H., BARTELING S.J. An epitope located at the C terminus of isolated VP1 of foot-and-mouth disease virus type O induces neutralizing activity but poor protection. *J. Gen. Virol.*, 1986, **67**, 289-294.
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. Fièvre aphteuse. In: Office International des épizooties, Code zoosanitaire international : mammifères, oiseaux, et abeilles. 10e édition. Office International des Epizooties : Paris, 2001, 67-80.
- SAGEDAHL A., GIRAUDDO A.T., DE MELLO P.A., BERGMANN I.E., LA TORRE J.L., SCODELLER E.A. Biochemical characterization of an aphthovirus type C3 strain Resende attenuated for cattle by serial passages in chicken embryos. *Virology*, 1987, **157**, 366-374.
- SALT J.S. The carrier state in foot and mouth disease--an immunological review. *Br. Vet. J.*, 1993, **149**, 207-223.
- SALT J.S., BARNETT P.V., DANI P., WILLIAMS L. Emergency vaccination of pigs against foot-and-mouth disease: protection against disease and reduction in contact transmission. *Vaccine*, 1998, **16**, 746-754.
- SANZ-PARRA A., JIMENEZ-CLAVERO M.A., GARCIA-BRIONES M.M., BLANCO E., SOBRINO F., LEY V. Recombinant viruses expressing the foot-and-mouth disease virus capsid precursor polypeptide (P1) induce cellular but not humoral antiviral immunity and partial protection in pigs. *Virology*, 1999b, **259**, 129-134.
- SANZ-PARRA A., VAZQUEZ B., SOBRINO F., COX S.J., LEY V., SALT J.S. Evidence of partial protection against foot-and-mouth disease in cattle immunized with a recombinant adenovirus vector expressing the precursor polypeptide (P1) of foot-and-mouth disease virus capsid proteins. *J. Gen. Virol.*, 1999a, **80**, 671-679.
- SOBRINO F., SAIZ M., JIMENEZ-CLAVERO M.A., NUNEZ J.I., ROSAS M.F., BARANOWSKI E., LEY V. Foot-and-mouth disease virus: a long known virus, but a current threat. *Vet. Res.*, 2001, **32**, 1-30.
- TABOGA O., TAMI C., CARRILLO E., NUNEZ J.I., RODRIGUEZ A., SAIZ J.C., BLANCO E., VALERO M.L., ROIG X., CAMARERO J.A., ANDREU D., MATEU M.G., GIRALT E., DOMINGO E., SOBRINO F., PALMA E.L. A large-scale evaluation of peptide vaccines against foot-and-mouth disease: lack of solid protection in cattle and isolation of escape mutants. *J. Virol.*, 1997, **71**, 2606-2614.
- THOMSON G.R. The role of carrier animals in the transmission of foot and mouth disease. *OIE report 6498* on technical items presented to International Committee, 1997, 87-103.
- USHERWOOD E.J., NASH A.A. Lymphocyte recognition of picornaviruses. *J. Gen. Virol.*, 1995, **76**, 499-508.
- WARD G., RIEDER E., MASON P.W. Plasmid DNA encoding replicating foot-and-mouth disease virus genomes induces antiviral immune responses in swine. *J. Virol.*, 1997, **71**, 7442-7447.