GRIPAVI

Observatoire Mali
2010

Sophie Molia & Julien Cappelle

Introduction

Bien qu'aucun foyer d'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) H5N1 n'ait été déclaré au Mali depuis l'introduction du virus sur le continent africain en février 2006, le pays est considéré à risque pour plusieurs raisons :

- le delta intérieur du fleuve Niger (DIN) attire chaque année des millions d'oiseaux sauvages migrateurs (paléarctiques et afrotropicaux) potentiellement porteurs du virus IAHP H5N1
- le pays est très dépendant des importations pour les intrants nécessaires à la filière avicole, notamment les poussins d'un jour et les œufs embryonnés
- les échanges transfrontaliers sont très dynamiques et sont faiblement contrôlés
- le système de surveillance sanitaire souffre d'un manque de moyens
- la surveillance de l'IAHP H5N1 est compliquée par l'endémicité de la maladie de Newcastle

L'objectif de l'observatoire Mali du projet GRIPAVI est de contribuer à produire des connaissances sur l'éco-épidémiologie des pestes aviaires (influenza aviaire et maladie de Newcastle) dans un contexte de pays sahélien à risque d'infection par voie migratoire (oiseaux sauvages) et commerciale, et de produire des recommandations pour améliorer les stratégies de surveillance et de contrôle.

Questions de recherche

Composante Oiseaux domestiques

Les questions de recherche pour la composante domestique sont les suivantes:

1. Quelle est la prévalence de l'influenza aviaire (IA) et de la maladie de Newcastle (MN) dans la volaille domestique au Mali ? Cette prévalence varie-t-elle en fonction de facteurs de risque tels que l'espèce de volaille, le secteur de production (traditionnel et commercial), la zone climatique et la saison ?
2. Quelles sont les souches d'influenza aviaire et de maladie de Newcastle circulant chez la volaille domestique au Mali ?
3. Quelles sont les caractéristiques des systèmes de production et de commercialisation de la volaille au Mali et en quoi peuvent-elles contribuer à la dissémination de l'IA et la MN ?
4. Comment est organisé le système de surveillance des pestes aviaires, comment fonctionne-t-il et quelles sont ses points forts et ses points faibles ?

Composante avifaune sauvage

Les questions de recherche de la composante avifaune sauvage sont regroupées en deux activités principales, l'analyse structurelle et fonctionnelle de la communauté d'oiseaux sauvages, et la détermination des profils épidémiologiques de l'avifaune sauvage dans le Delta Intérieur du Niger

1. Analyse structurelle et fonctionnelle de la communauté d'oiseaux sauvages

a) Distribution spatiale de la communauté d'oiseaux sauvages

L'étude de la distribution spatiale des espèces d'oiseaux sauvages du DIN a pour but de préciser les contacts existants entre les différents groupes d'oiseaux sauvages ainsi qu'avec les volailles domestiques. D'autre part cette spatialisation facilitera la mise en place de campagnes de surveillance de la faune sauvage en optimisant la sélection des sites les plus sujets à une circulation de virus de peste aviaire.

b) Analyse des facteurs de risques à l'échelle de la communauté

Le but de cette analyse est de permettre de répondre à la question : quelles sont les associations « espèce – habitat – saison » présentant des risques élevés de circulation de virus de peste aviaire ? Ce travail constitue le cœur du travail de thèse de Bouba FOFANA.

2. Détermination des profils épidémiologiques de l'avifaune sauvage dans le Delta Intérieur du Niger

Le projet Gripavi donne l'opportunité de récolter pour la première fois des données épidémiologiques longitudinales sur la circulation de virus de peste aviaire (Influenza aviaire et maladie de Newcastle) en Afrique de l'Ouest. La principale question étant de savoir si ces virus circulent de manière continue tout au long de l'année dans les différents groupes d'oiseaux sauvages du DIN.

Méthodologie

Composante Oiseaux domestiques

Question de recherche 1 : Prévalence

Une étude pilote a été menée en février 2007 dans le cadre du projet Mesures d'urgence et a permis de fournir les premières estimations de la prévalence de l'IA au Mali. Une enquête transversale de prévalence de l'IA et la MN a ensuite été menée en 2008 dans deux zones considérées à risque pour l'IAHP. Sur la base de ces résultats, une enquête longitudinale plus représentative et de plus grande envergure géographique a été initiée fin 2009.

Rappel sur la méthodologie des deux premières années
Une enquête transversale de prévalence a été menée en 2008 sur deux espèces (poulets et canards), deux systèmes de production (traditionnel et commercial), dans deux zones agro-climatiques (sahélienne et soudanienne) et à deux saisons différentes (saison sèche froide et saison sèche chaude). Une taille d'échantillon de 1250 a été définie sur la base des résultats de l'étude pilote de février 2007 et avec l'objectif de montrer avec une confiance de 90% et une puissance de 80% que la séroprévalence de l'IA était deux fois plus forte chez les volailles traditionnelles que chez les volailles commerciales (en raison d'une moindre biosécurité), deux fois plus forte en zone soudanienne qu'en zone sahélienne (en raison d'une humidité plus forte favorisant la survie du virus dans l'environnement), et deux fois plus forte en saison froide qu'en saison chaude (en raison de températures favorisant la survie du virus).
Trois zones d'études ont été choisies :

- La région de Bamako et sa périphérie car elle comprend la grande majorité des élevages commerciaux
- La région de Mopti (zone sahélienne) considérée à haut risque pour l'IAHP car elle inclue le DIN et est donc fréquentée par des millions d'oiseaux migrateurs
- La région de Sikasso (zone soudanienne) considérée à haut risque pour l'IAHP car elle est frontalière avec deux pays ayant connu des foyers de H5N1 (Burkina Faso et Côte d'Ivoire)

Les volailles prélevées incluaient des poulets et canards de basse-cour dans les régions de Mopti et Sikasso, et des volailles commerciales dans la région de Bamako. Les villages enquêtés étaient choisis par échantillonnage de complaisance en raison de l'absence d'une liste de village et des contraintes temporelles et logistiques. Trois types de prélèvements ont été systématiquement réalisés sur chaque oiseau : écouvillonnage trachéal, écouvillonnage cloacal et prise de sang. Les écouvillons étaient déposés dans des cryotubes contenant un milieu de transport adapté et aussitôt placés dans une glacière contenant des accumulateurs de froid. Les sérums étaient laissés à l'ombre à température ambiante le temps de coaguler puis placés dans la glacière. Le soir, les écouvillons étaient placés dans une bonbonne d'azote liquide ou directement stockés dans le congélateur à -80°C du LCV. Les sérums étaient centrifugés le soir même et placés dans des Eppendorfs stockés dans un congélateur à -20°C.

Les techniques de diagnostic incluaient une analyse par PCR en temps réel (initialement prévues au LCV, ces analyses ont finalement du être conduites à Montpellier car la machine à PCR en temps réel du LCV est tombée en panne et n'a pu être remise en route que début 2010) pour le diagnostic moléculaire de l'IA et la MN, et l'utilisation de kits ELISA pour l'analyse sérologique (kits FluA®, H5®, et H7® de IdVET, et kits AVINDV® et SVANOVIR® de LSI).

Méthodologie de la troisième année

Une enquête représentative longitudinale de quinze mois a été initiée en novembre 2009 sur la volaille traditionnelle de cinq régions situées dans la moitié sud du pays (Kayes, Koulikoro, Sikasso, Ségou et Mopti). Les trois régions de la moitié nord (Tombouctou, Gao et Kidal) n'ont pas été inclues dans l'étude car elles représentent seulement 2% de la population total de volailles du pays, elles sont difficiles d'accès et rendues dangereuses par la présence d'éléments d'Al Qaïda du Maghreb Islamique. Les élevages commerciaux ont été exclus de l'étude car ils représentent seulement 6% de la population totale de volailles, sont moins propices à l'étude des facteurs de risque associés à la séroprévalence (la plupart des oiseaux y sont vaccinés contre la MN et les conditions environnementales y sont contrôlées) et parce que des estimés de prévalence ont déjà été obtenus pour eux durant les deux premières années du projet.

Cette étude longitudinale consiste en six campagnes de collecte de prélèvements dans les mêmes villages tous les trois mois (novembre 2009, février 2010, mai 2010, août 2010, novembre 2010 et février 2011), avec l'objectif de prélever environ 1000 volailles lors de chaque campagne. Un plan d'échantillonnage à deux niveaux a été défini en fonction des résultats de prévalence de l'enquête transversale de 2008 et d'après la formule décrite par Thrusfield (2007) : 32 volailles ont ainsi été prélevées dans chacun de 32 villages sélectionnés de façon aléatoire par la méthode de probabilité proportionnelle à la taille (Bennett et al., 1991). Les 32 villages sont représentés sur la figure suivante :

Dans chaque village, quatre maisons étaient sélectionnées de façon aléatoire par le chef du village et huit volailles étaient prélevées dans chaque maison. Afin de réduire les coûts diagnostiques, des échantillons de sang étaient prélevés sur chaque oiseau mais des écouvillons sur seulement un oiseau sur huit.

Les mêmes types de chaîne du froid et d'analyse diagnostique qu'en 2008 étaient employés mais un questionnaire était en prime utilisé pour récolter des informations sur le nombre d'oiseaux présents, leur logement, les maladies et la vaccination éventuelles.

Un thésard en virologie, Mr Martin Dakouo a été recruté et a commencé sa thèse en septembre 2009. Il sera notamment en charge des toutes les analyses de PCR en temps réel, et du travail subséquent sur l'identification et la phylogénie des souches de virus.

Question de recherche 2 : Souches de virus

Les écouvillons récoltés dans le cadre de l'étude prévalence sont analysés en laboratoire de façon à pouvoir détecter la présence de virus IA et MN mais aussi d'isoler et de typer les souches de virus. Sur le plan méthodologique, la détection moléculaire des gènes M du virus de l'IA et du virus de la MN et celle des sous-types (H5 et H7) de l'IA se font par des techniques de RT-PCR en temps réel (RRT-PCR). Le protocole de PCR en temps réel (RRT-PCR) utilisé pour la détection du virus influenza aviaire type A est celui recommandé par le laboratoire de référence du VLA de Weybridge avec quelques adaptations faites au CIRAD pour optimiser la qualité des résultats. Les protocoles RRT-PCR utilisés pour la détection du virus influenza aviaire de sous-type H5 et H7 sont ceux recommandés par le laboratoire européen de référence du VLA. La détection du virus de la MN se fait par une RRT-PCR basée sur le gène F développée par le CIRAD permettant le pathotypage de l'échantillon à l'aide du séquençage utilisé comme outil d'appui.
Les échantillons positifs en IA ou MN sont soumis à l'isolement sur œufs embryonnés. Pour l'isolement, une sélection des échantillons avec une charge virale plus importante (normalement <36 Ct pour AIV et <38 Ct pour NDV) est faite afin d'augmenter les chances d'isolement. Une fois les souches isolées les gènes F et HN sont amplifiés par PCR dans un premier temps et les produits d'amplification sont envoyés au séquençage chez une société spécialisée, la totalité du génome est ensuite séquencée en fonction de l'intérêt phylogénétique.

Question de recherche 3 : Systèmes de production et commercialisation de la volaille

La première année du projet a servi à établir une première bibliographie sur l'élevage aviaire et à rencontrer les partenaires de l'interprofession avicole. Il a ainsi été identifié la nécessité de travailler au niveau des marchés, des élevages commerciaux puis des élevages plus traditionnels.

Etude des marchés
Un stagiaire de l'IPR/IFRA de Katibougou, Mr Boubacar Coulibaly, a effectué une première enquête entre juin et novembre 2009 au niveau des 56 marchés de volaille du district de Bamako. Ces enquêtes consistaient en une visite des marchés pour observer les pratiques et les conditions environnementales et de biosécurité. Un questionnaire était aussi rempli en interrogeant le chef de marché (ou les vendeurs en l'absence de chef de marché) afin de récolter des informations sur le nombre, l'origine et les acheteurs des volailles vendues.
Sur la base des résultats de cette étude, une deuxième étude de plus grande envergure a été lancée durant la troisième année du projet, en collaboration avec l'Institut d'Economie Rurale (IER). Le questionnaire a été amélioré et des enquêtes ont été menées entre juin et novembre 2010 dans les marchés des cinq premières régions du Mali (Kayes, Koulikoro, Sikasso, Ségou et Mopti).
Par ailleurs et toujours sur la base des résultats de l'étude des marchés de Bamako, une étude de type analyse de réseaux sociaux (social network analysis ou SNA) a été menée dans le cercle de Sikasso par un stagiaire de Master 2 de l'Université Montpellier II, Mr Ismaël Boly. Cette méthode vise à comprendre les contacts et échanges entre individus d'une population et est une approche qui a récemment été utilisée en épidémiologie animale (Martinez-Lopez et al., 2009). Elle permet de construire un réseau de contact des volailles, de l'analyser et d'identifier in fine des cibles de surveillance. Des enquêtes et des rencontres ont ainsi été organisées entre mai et juillet 2010 auprès des différents acteurs de la filière avicole (marchands, collecteurs, responsables des structures d'appui à la filière

avicole,…). Ces enquêtes adressées aux différents acteurs de la filière ont porté sur l'origine, la destination, l'effectif, la fréquence des achats et des ventes et les moyens de transport des volailles.

Etude des élevages commerciaux
L'étude bibliographique a mis en avant le manque d'informations sur les élevages commerciaux avicoles au Mali. La profession étant très peu organisée et structurée, il n'existe aucune liste des élevages commerciaux. Un premier travail partiel de recensement avait été mené par Bourma en 2008 mais n'avait pu recenser que 148 élevages sur un nombre estimé à plus de 300. Une nouvelle enquête a donc été menée dans le cadre de GRIPAVI par un stagiaire de l'IPR/IFRA de Katibougou, Mr Idrissa Traoré, au niveau des cinq premières régions du Mali (Kayes, Koulikoro, Sikasso, Ségou et Mopti). Cette enquête, menée entre juin et novembre 2010, a consisté à rencontrer différents intervenants de la filière (agents du PALCEGA, agents du SPINAP-AHI, importateurs de poussins d'un jour, accouveurs d'œufs, provendiers) afin d'obtenir une liste d'élevages puis à se rendre sur ses sites des élevages afin de prendre leurs coordonnées GPS et de remplir un questionnaire. Les points traités par le questionnaire incluaient la spéculation, l'effectif, l'approvisionnement en poussin et la production (quantité de viande de volaille par an, quantité d'œufs de consommation).

Etude des élevages traditionnels
Les estimations des effectifs de la volaille traditionnelle malienne (estimés à 31 846 922 sujets en 2008) sont réalisées par la DNPIA et ses directions régionales sur la base des effectifs du recensement agricole de 2004 auquel un taux de croissance de 1,8% est appliqué chaque année. Un recensement général de la population et de l'habitat (RGPH) est actuellement en cours de finalisation au Mali qui fournira des données actualisées sur le nombre de ménages et de concessions dans tout le Mali. Il est prévu, en quatrième année du projet, de voir si une corrélation peut être établie entre le nombre de volailles traditionnelles présentes dans un village et le nombre de concessions ou de ménages. Si tel est le cas, il serait alors possible d'extrapoler les effectifs de volaille de chaque village à partir des données du RGPH et d'avoir ainsi des données chiffrées plus précises sur le secteur de l'élevage traditionnel qui représente plus de 90% des effectifs de volaille au Mali.

<u>Question de recherche 4 : Système de surveillance des pestes aviaires</u>

La méthodologie d'évaluation semi-quantitative développée par Squarzoni (2005) pour la surveillance de la peste bovine dans le cadre du PACE, a servi de base pour élaborer la grille d'évaluation utilisée dans notre étude sur la surveillance de l'IAHP au Mali. Une grille d'évaluation spécifique à l'IAHP a été construite regroupant 28 critères répartis dans 8 rubriques thématiques : Organisation du réseau d'épidémiosurveillance, Stratégie de surveillance, Fonctionnement sur le terrain, Laboratoire de diagnostic, Gestion des données, Restitution et diffusion de l'information, Animation du réseau, et Suivi de l'efficacité. L'ensemble de ces critères permettait d'apprécier tous les aspects de l'organisation et du fonctionnement du réseau EPIVET pour la surveillance de l'IAHP et à chaque critère correspondait un certain nombre de sous-critères (de 2 à 13 en fonction du critère).
Des enquêtes de terrain ont été conduites entre avril et août 2009 par une stagiaire de Master SAEPS de Montpellier, M^{elle} Stéphanie Lapeyre, afin de rencontrer les différents acteurs du réseau EPIVET et de remplir des questionnaires. Toutes les unités régionales et tous les postes de surveillance sauf deux ont été visités dans les cinq régions de la zone d'étude (Kayes, Koulikoro, Sikasso, Ségou et Mopti).

Composante avifaune sauvage

Les questions de recherche de la composante avifaune sauvage sont regroupées en deux activités principales, l'analyse structurelle et fonctionnelle de la communauté d'oiseaux sauvages, et la détermination des profils épidémiologiques de l'avifaune sauvage dans le Delta Intérieur du Niger

1. Analyse structurelle et fonctionnelle de la communauté d'oiseaux sauvages

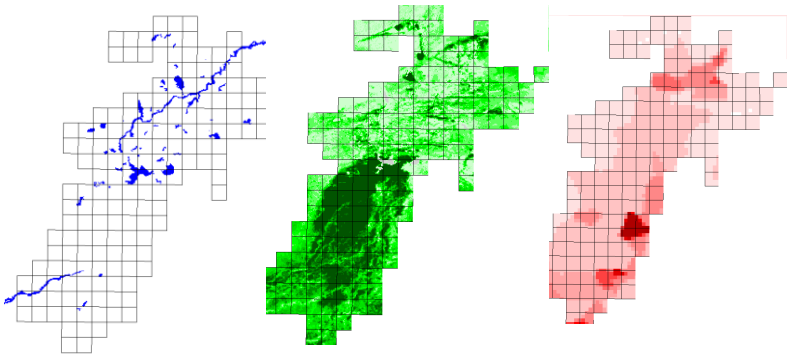
    a) Distribution spatiale de la communauté d'oiseaux sauvages

L'étude de la distribution spatiale des espèces d'oiseaux sauvages du DIN a pour but de préciser les contacts existants entre les différents groupes d'oiseaux sauvages ainsi qu'avec les volailles domestiques. D'autre part cette spatialisation facilitera la mise en place de campagnes de surveillance de la faune sauvage en optimisant la sélection des sites les plus sujets à une circulation de virus de peste aviaire.

A l'échelle du DIN, ce travail se base sur les comptages aériens réalisés par l'ONCFS en janvier 1999, 2000, 2001, 2006, 2007, et 2008 (appui du projet Gripavi). Une modélisation statistique (Modèle linéaire généralisé et Arbres de régression) permet de prévoir la présence et l'abondance des oiseaux sauvages dans le DIN en fonction de variables environnementales :

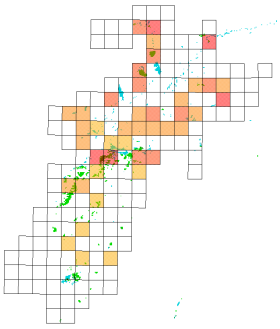
Abondance ~ NDWI (eau) + NDVI (végétation) + Dens. Pop. Hum. + Niv. Eau

Ce modèle permet ensuite de produire des cartes prévoyant la distribution spatiale des oiseaux sauvages selon les conditions environnementales particulières d'une année donnée (cf fig. ci-après).



Comptages aériens ~ Indicateurs environnementaux (Télédétection, Densité de population, Niveau de crue)

Abondance ~ NDWI (eau) + NDVI (vegetation) + Dens. Pop. Hum. + Niv. Eau



Méthodologie utilisée pour la production de cartes de prévision de la distribution spatiale des oiseaux sauvages dans le DIN

Ce modèle a fait l'objet d'un article qui a été publié dans la revue EcoHealth :

Cappelle, J., B. Fofana, O. Girard, et al. (2010) Ecological modelling of the spatial distribution of wild waterbirds to identify main areas of avian influenza viruses circulation in the Inner Niger Delta, Mali. EcoHealth, Online First.

b) Analyse des facteurs de risques à l'échelle de la communauté

Le but de cette analyse est de permettre de répondre à la question : quelles sont les associations « espèce – habitat – saison » présentant des risques élevés de circulation de virus de peste aviaire ? Ce travail constitue le cœur du travail de thèse de Bouba Fofana.

2. Détermination des profils épidémiologiques de l'avifaune sauvage dans le Delta Intérieur du Niger

a) Les virus Influenza aviaires

Les virus IAFP ont fait l'objet de nombreuses études dans l'hémisphère nord. Par contre, très peu d'études ont été menées en zone tropicale. L'émergence et la propagation du H5N1 HP a conduit à la mise en place de vastes campagnes de surveillance chez les oiseaux sauvages en Eurasie et en Afrique. Ainsi, en Janvier 2006 et Février 2007, des prélèvements effectués chez les oiseaux sauvages du DIN dans le cadre d'une surveillance en Afrique (Gaidet et al., 2007) n'ont révélé la présence d'aucun virus IAHP. Ces campagnes ont par contre permis de mettre en évidence la présence de virus IAFP chez différentes espèces d'oiseaux sauvages, notamment chez les Anatidés migrateurs paléarctiques et afro-tropicaux, montrant ainsi que les écosystèmes tropicaux africains sont favorables à la circulation de virus IAFP.

Ces campagnes ont donc permis d'obtenir quelques informations sur l'écologie et l'épidémiologie des virus IAFP lors de l'hivernage. Par contre, aucune information n'est disponible sur les autres périodes de l'année, notamment lors de l'absence des migrateurs paléarctiques. On peut alors se poser la question de la circulation annuelle des virus IAFP dans le DIN. Le virus se maintient-il toute l'année dans le DIN et existe-t-il un cycle africain ? On peut faire l'hypothèse que les virus IAFP se maintiennent au cours de l'année dans la communauté d'oiseaux sauvages du DIN au bénéfice de conditions écologiques favorables chez différentes espèces successivement, malgré l'absence de canards afro-tropicaux du genre *Anas* en Afrique de l'ouest. A l'inverse, on peut penser que les fortes températures en fin de saison sèche - défavorables à la survie du virus dans le milieu extérieur (Stallknecht et al., 1990) - combinées à l'absence de canards de surface du genre *Anas*, principaux réservoirs des virus IAFP, conduisent à l'extinction du cycle épidémiologique qui ne serait alors alimenté qu'une fois par an par l'arrivée des anatidés sauvages migrateurs paléarctiques.

Afin de tester ces deux hypothèses de cycle endémique africain ou de cycle entretenu par l'introduction de virus par les migrateurs paléarctiques, nous avons mis en place un programme de suivi longitudinal des virus IA dans l'avifaune sauvage du DIN. Nous avons réalisé pendant deux années successives des campagnes de prélèvements chez les oiseaux sauvages du DIN lors de chacune des 3 principales phases du cycle hydrologique du DIN, la crue, la décrue, et l'étiage. Le protocole mis en place, les résultats et les conclusions de cette étude ont fait l'objet d'un article prêt à être soumis.

b) Les virus de la maladie de Newcastle

Hypothèse de circulation des vNDV dans le DIN

Très peu de données sont disponibles sur l'éco-épidémiologie des vNDV dans l'avifaune sauvage africaine alors que l'on sait que ces virus circulent dans la volaille

domestique africaine (Awan et al., 1994). Les principales références à des infections par des vNDV dans l'avifaune sauvage africaine concernent des oiseaux d'ornement (surtout des Psittacidés) importés en Europe et en Amérique du nord depuis l'Afrique (Clavijo et al., 2000). Mais il est probable que ces oiseaux s'infectent une fois captifs au contact des oiseaux domestiques, juste avant leur exportation d'Afrique (Leighton and Heckert, 2007).

En se basant sur ce qui est connu hors Afrique du potentiel de circulation des vNDV, on peut considérer que la communauté d'oiseaux sauvages du DIN a le potentiel pour permettre la circulation de ce type de virus. D'une part, parmi la grande diversité d'oiseaux sauvages présents dans le DIN, certaines espèces sont très proches phylogénétiquement et écologiquement des espèces chez lesquelles ont été détecté des circulations de vNDV, comme le cormoran africain et le moineau doré. D'autre part, le DIN accueille une abondante population d'anatidés et de limicoles sauvages paléarctiques et afro-tropicaux.

L'hypothèse d'une circulation de vNDV dans la communauté d'oiseaux sauvages du DIN apparait donc possible. Que cela soit via les espèces d'anatidés et de limicoles sauvages, réservoir de souches loNDV à l'origine de souches vNDV, ou via des espèces directement réservoir de vNDV. Afin de tester cette hypothèse, nous avons adapté le protocole de suivi longitudinal mis en place pour l'IA.

Matériel et méthodes

L'étude de la MN n'était pas l'objectif premier du projet Gripavi et durant la première année les protocoles d'échantillonnages se sont focalisés sur les espèces à risque pour les virus IA, i.e. les oiseaux d'eau et en particulier les Anatidés. Cependant, aux vus des premiers résultats indiquant une forte circulation de MN chez la majorité des espèces testées, il fut décidé d'élargir l'échantillonnage aux espèces terrestres, qui peuvent jouer un rôle dans l'épidémiologie de la MN. Les prélèvements effectués ont couverts les 3 principales phases du cycle hydrologique du DIN sur deux ans : l'étiage en fin de saison sèche (Juin) en 2008 et 2009, la crue en fin de saison des pluies (Septembre-Octobre) en 2008 et 2009, et la décrue à la fin de la période d'hivernage des oiseaux migrateurs Paléarctiques (Février-Mars) en 2009. Ces échantillons ont ensuite été analysés par RT-PCR afin de détecter des virus de classe II de la MN. Des isolements sur œuf ont ensuite été tentés sur les échantillons positifs.

Etat des lieux : résultats de l'observatoire à la fin 2010

Composante Oiseaux domestiques

Question de recherche 1 : Prévalence

Les résultats de l'étude pilote de février 2007 sur la prévalence de l'IA (3,6% des oiseaux positifs en PCR en temps réel et 13,7% positifs en sérologie, voir détails dans le Tableau 1) ont été publiés en 2010 dans le journal Tropical Animal Health and Production (Molia et al. 2010a).

Tableau 1: Résultats de l'étude pilote 2007 sur la prévalence de l'IA

	PCR temps réel		ELISA		
	Négatif	positif	Négatif	Douteux	positif
Canard	127	7 (5.2%)	85	4	19 (18.3%)
Poulet	85	1 (1.2%)	72	1	7 (8.9%)
Pintade	3	0 (0.0%)	2	0	0 (0.0%)
Femelle	148	5 (3.2%)	104	3	18 (14.9%)
Mâle	67	3 (4.3%)	55	2	8 (12.7%)
Jeune (<6 mois)	31	0 (0.0%)	26	0	2 (7.1%)
Adulte	184	8 (4.2%)	133	5	24 (15.3%)
Total	215	8 (3.6%)	159	5	26 (13.7%)

L'analyse des 1250 écouvillons trachéaux, 1250 écouvillons cloacaux et 1237 sérums récoltés en 2008 lors de l'enquête transversale de prévalence a été menée à terme. Tous les écouvillons n'ont pas été testés en PCR à temps réel en raison du coût élevé des analyses et quelques sérums n'ont pas pu être testés car ils étaient hémolysés.

Tableau 2: Résultats de PCR en temps réel pour les échantillons de 2007 et 2008

					IA		**MN**	
Année	Saison	Zone	Type	Espèce	Nombre testé	Nombre positive (%)	Nombre testé	Nombre positive (%)
2007	Sèche froide	Sahélienne	Basse-cour	Poulet	86	1 (1.2%)	86	2 (2.3%)
				Canard	134	7 (5.2%)	134	0 (0.0%)
				Pintade	3	0 (0.0%)	3	1 (33.3%)
				Total 2007	**223**	**8 (3.6%)**	**223**	**3 (1.3%)**
2008	Sèche froide	Sahélienne	Basse-cour	Poulet	125	0 (0.0%)	125	2 (1.6%)
				Canard	125	0 (0.0%)	125	0 (0.0%)
		Soudanienne	Basse-cour	Poulet	31	0 (0.0%)	31	1 (3.2%)
				Canard	34	0 (0.0%)	34	0 (0.0%)
			Commercial	Poulet	27	0 (0.0%)	27	0 (0.0%)
	Sèche chaude	Sahélienne	Basse-cour	Poulet	34	0 (0.0%)	34	1 (2.9%)
				Canard	31	0 (0.0%)	31	2 (6.5%)
		Soudanienne	Basse-cour	Poulet	36	0 (0.0%)	36	8 (22.2%)
				Canard	34	0 (0.0%)	34	2 (5.9%)
			Commercial	Poulet	0	0 (0.0%)	0	0 (0.0%)
				Total 2008	**477**	**0 (0.0%)**	**477**	**16 (3.4%)**

Tableau 3: Résultat de sérologie pour les échantillons de 2007 et 2008

					IA		MN	
Année	Saison	Zone	Type	Espèce	Nombre testé	Nombre positive (%)	Nombre testé	Nombre positive (%)
2007	Sèche froide	Sahélienne	Basse-cour	Poulet	79	7 (8.9%)	82	14 (17.1%)
				Canard	104	19 (18.3%)	127	36 (28.3%)
				Pintade	2	0 (0.0%)	3	0 (0.0%)
				Total 2007	**185**	**26 (14.1%)**	**212**	**50 (23.6%)**
2008	Sèche froide	Sahélienne	Basse-cour	Poulet	117	10 (8.5%)	118	105 (89.0%)
				Canard	112	3 (2.7%)	107	38 (35.5%)
		Soudanienne	Basse-cour	Poulet	122	1 (0.8%)	123	100 (81.3%)
				Canard	119	0 (0.0%)	115	80 (69.6%)
			Commercial	Poulet	121	1 (0.8%)	123	123 (100%)
	Sèche chaude	Sahélienne	Basse-cour	Poulet	120	4 (3.3%)	122	51 (41.8%)
				Canard	119	6 (5.0%)	114	72 (63.2%)
		Soudanienne	Basse-cour	Poulet	122	10 (8.2%)	122	107 (87.7%)
				Canard	121	1 (0.8%)	119	94 (79.0%)
			Commercial	Poulet	112	1 (0.9%)	111	110 (99.1%)
				Total 2008	**1185**	**37 (3.1%)**	**1174**	**880 (75.0%)**

Le pourcentage d'échantillons positifs pour l'IA est faible en PCR (0%) et en sérologie (3,1%) en 2008. Le pourcentage d'échantillons positifs pour la MN est faible en PCR (3,4%) mais élevé en sérologie (75,0%). Ce pourcentage élevé d'échantillons positifs en sérologie Newcastle témoigne à la fois d'un excellent taux de séroconversion (99,6%) chez les volailles commerciales vaccinées et d'une très forte circulation du virus de la MN chez les volailles traditionnelles puisque la plupart ne sont pas vaccinées.
L'analyse des facteurs de risque associés à la séroprévalence est actuellement en cours de finalisation. Les résultats de la régression logistique semblent indiquer que parmi les facteurs testés (espèce, sexe, âge, zone agro-climatique et période), seules la zone et la période sont significativement associées avec le statut sérologique IA et seuls l'espèce, le sexe, l'âge, et la zone sont significativement associées avec le statut sérologique MN. Ces résultats vont prochainement être soumis à publication.

L'enquête longitudinale de prévalence mise en place en novembre 2009 est actuellement en cours. Le nombre d'écouvillons et de sérums récoltés a été respectivement de 1024 et 256 en novembre 2009, 1024 et 256 en février 2010, 1007 et 256 en mai 2010, et 887 et 222 en septembre 2010. La campagne de prélèvements d'août 2010 a du être retardée d'un mois en raison de conditions de terrain extrêmement difficiles (inondations et routes impraticables) et il a été impossible d'accéder à trois villages (Banesso, Koulou et Kourou).
Les résultats préliminaires des analyses de laboratoire sont fournis dans les tableaux 4 et 5.

Tableau 4: Résultat de sérologie IA pour les échantillons de 2009 et 2010

	Novembre 2009		Février 2010		Mai 2010	
Espèce	Nombre testés*	Nombre positifs (%)	Nombre testés*	Nombre positifs (%)	Nombre testés**	Nombre positifs (%)
Poulet	923	51 (5.5%)	932	18 (1.9%)	916	24 (2.6%)
Canard	21	0 (0%)	22	0 (0%)	23	0 (0%)
Pintade	43	0 (0%)	28	2 (7%)	37	0 (0%)
Oie	2	0 (0%)	2	2 (100%)	2	0 (0%)
Pigeon	14	0 (0%)	21	0 (0%)	9	0 (0%)
Dinde	6	0 (0%)	6	1 (17%)	3	0 (0%)
Total	**1009**	**51 (5.1%)**	**1011**	**23 (2.3%)**	**990**	**24 (2.4%)**

Tableau 5: Résultat de sérologie MN pour les échantillons de 2009 et 2010

		Novembre 2009		Février 2010		Mai 2010	
Espèce	Vaccinés contre MN	Nombre testés	Nombre positifs (%)	Nombre testés	Nombre positifs (%)	Nombre testés	Nombre positifs (%)
Poulet	Non	382	308 (81%)	437	212 (49%)	364	290 (80%)
	Oui	555	513 (92%)	481	419 (87%)	569	527 (93%)
Canard	Non	15	5 (33%)	16	9 (56%)	11	7 (63%)
	Oui	4	1 (25%)	5	3 (60%)	12	11 (92%)
Pintade	Non	21	5 (24%)	15	7 (47%)	19	16 (84%)
	Oui	22	12 (54%)	13	11 (85%)	17	16 (94%)
Oie	Non	2	0 (0%)	1	0 (0%)	2	2 (100%)
	Oui	0	NA	0	NA	0	NA
Pigeon	Non	8	2 (25%)	15	8 (53%)	4	0 (0%)
	Oui	6	1 (16%)	5	1 (20%)	5	2 (40%)
Dinde	Non	5	5 (100%)	4	4 (100%)	3	3 (100%)
	Oui	1	1 (100%)	2	1 (50%)	0	0 (0%)
Total	**Non**	**433**	**325 (75.1%)**	**488**	**240 (49.2%)**	**403**	**318 (78.9%)**
	Oui	**588**	**528 (89.8%)**	**506**	**435 (86.0%)**	**603**	**556 (92.2%)**

Question de recherche 2 : Souches de virus

Pour rappel, deux souches de virus de la MN ont été isolées en 2009 et le séquençage et les analyses phylogénétiques de ces deux souches ont montré qu'elles étaient identiques et vélogènes. Les souches isolées au Mali dans le cadre du projet GRIPAVI appartiennent au génotype VII, , actuellement responsable des foyers de MN en Afrique, Asie et Europe. Deux de ces souches appartiennent aux sous-génotypes VIIh et VIIg, récemment décrits comme circulant dans des pays voisins comme le Nigeria et Burkina Faso (Snoeck et al, 2009) tandis que les autres souches forment un cluster phylogénétique assez éloigné de tous les autres sous-génotypes décrits dans la littérature. Pour classer ces souches, un nouveau sous-génotype, le VIIi a ainsi été proposé, et ces résultats ont été publiés (Servan de Almeida et al, 2009).

Parmi les 662 échantillons d'oiseaux domestiques prélevés en 2009 et 2010 et analysés en 2010, aucun n'a été trouvé positif en virus de l'IA et 43 ont été trouvés positifs en virus MN. Les isolements des échantillons positifs sont actuellement en cours. Malgré l'absence des souches, des séquences courtes (95nt sur le gène F) issues de la RRT PCR utilisées pour la première détection du virus de la MN ont pu être exploitées pour certains des échantillons détectés positifs. Les analyses phylogénétiques basées sur ce court fragment montrent une circulation des sous-génotypes VIId, VIIi et VI vélogènes et I et II lentogènes dans le domestique ainsi que dans le sauvage. Comme indiqué dans le paragraphe précédent, le génotype VIIi, , semble être spécifique de l'Afrique de l'ouest (Servan de Almeida, 2009 ; Cattoli et al., 2010). Il est intéressant de noter que ce génotype a été trouvé à la fois sur le prélèvement cloacal et trachéal d'un poulet présentant des signes cliniques alors que le génotype VIId prédominant en Asie est retrouvé dans des volailles apparemment saines Le génotype VI, moins présent actuellement que le VII, a été récemment détecté en Afrique, plus spécifiquement en Ethiopie dans le cadre de ce projet et au Nigéria. Les génotypes I et II sont vraisemblablement des virus vaccinaux qui circulent à bas bruit entre les populations domestique et sauvage.

Question de recherche 3 : Systèmes de production et commercialisation de la volaille

Etude des marchés

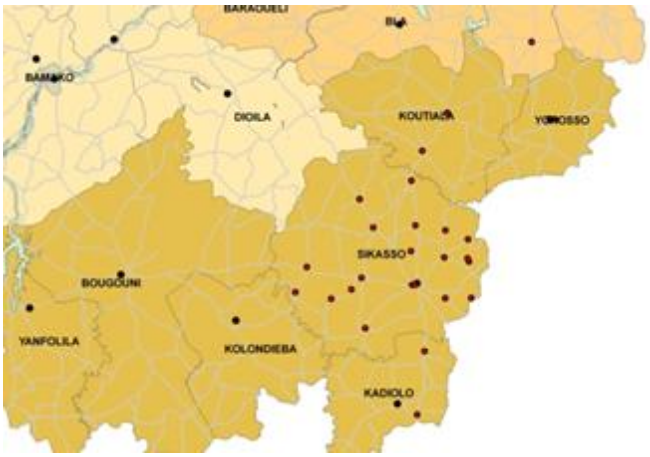
Elle a montré une très grande hétérogénéité parmi les 56 marchés recensés dans le district de Bamako : taille, nombre de vendeurs, nombre de volailles, facilité d'accès, vente à des consommateurs professionnels ou pas. La distribution géographique est représentée sur la figure suivante :

La biosécurité est insuffisante dans tous les marchés avec une absence de contrôle sanitaire des animaux à leur arrivée, un mélange de différentes espèces dans les mêmes cages, un accès limité à l'eau et l'électricité et une absence d'utilisation de produits de désinfection pour nettoyer les cages et le sol.

Pour la volaille traditionnelle, le point névralgique d'arrivée des volailles vendues sur les marchés de Bamako est le bord de la route située entre l'arrière de l'hôtel de l'Amitié et le fleuve Niger. Des camions en provenance des régions du Mali, en majorité Sikasso et Ségou, y livrent tôt le matin et plusieurs fois par semaine des centaines de cages contenant de 50 à 100 volailles. Les volailles sont ensuite acheminées vers les différents marchés, principalement en pousse-pousse. Cet approvisionnement se fait de façon régulière avec une moyenne de 343 volailles livrées 4 fois par semaine sur chaque marché. Les poules sont l'espèce la plus vendue (en moyenne 1502 par semaine et par marché) loin devant les pintades (en moyenne 204 par semaine et par marché), les pigeons (en moyenne 69 par semaine et par marché), les canards (en moyenne 25 par semaine et par marché), et les dindes et oies (en moyenne moins d'une par semaine et par marché). Parmi les poules, ce sont les poules de race locale qui sont principalement vendues. En moyenne, un total de 95 000 volailles sont vendues par semaine sur Bamako sachant que cet estimé est à prendre avec précaution puisqu'il reflète seulement la période d'enquête (juillet à octobre). Les ventes sont en effet très saisonnières avec des pics de vente importants durant les fêtes de fin d'année, le Ramadan et les autres fêtes religieuses.

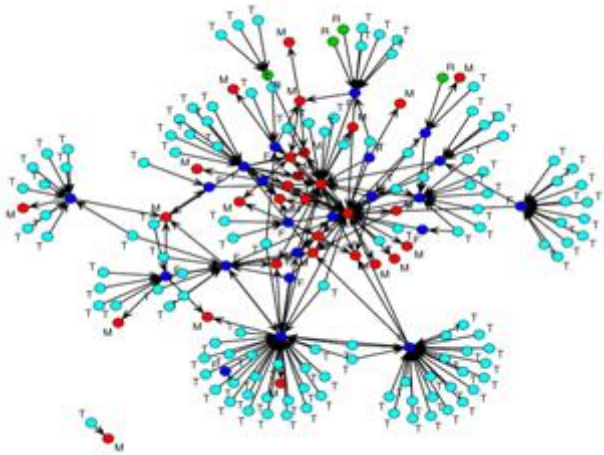
Les données de l'enquête dans les marchés des cinq premières régions ont été saisies et sont actuellement en cours d'analyse.

L'étude SNA a permis d'identifier 23 foires et 4 marchés dans le cercle de Sikasso par la méthode d'échantillonnage snowball. Au total 171 acteurs ont été interrogés pour les fins de l'étude. Il s'agit de 70 collecteurs, 78 marchands secondaires (acteur dont l'activité est le plus caractérisée par l'achat de volailles dans les foires et la vente à un marchand primaire de Sikasso) et 23 marchands primaires (acteur est installé au marché à volailles de Sikasso et qui achète la volaille auprès des marchands secondaires pour la transporter et la vendre à des marchands de Bamako).



Carte des foires et marchés visités

Le réseau de commercialisation a été construit sous la forme de graphe et nous informe à première vue que tous les nœuds sont connectés sauf pour la paire de nœuds du bas de la figure.



Graphe du réseau de commercialisation de la volaille à Sikasso

En se basant sur les indices de centralités que sont la « Betweenness » le « Outdegree » et le « Indegree » les foires et marchés les plus centraux du réseau sont le marché de Médine de Sikasso et la foire de Farakala. Ces deux lieux reçoivent et envoient beaucoup de volailles et sont des éléments clés dans le réseau commercial de Sikasso. De plus amples analyses sont actuellement en cours et seront publiés durant la dernière année du projet.

Etude des élevages commerciaux

Les données de l'enquête sur les élevages commerciaux des cinq premières régions ont été saisies et sont actuellement en cours d'analyse.

Question de recherche 4 : Système de surveillance des pestes aviaires

Le réseau d'épidémiosurveillance de l'IAHP au Mali a obtenu une note globale de 3,05 sur 4, correspondant à une organisation et un fonctionnement satisfaisants des activités du réseau. Le détail des notes synthétiques attribuées à chacune des huit rubriques et à chacun des 28 critères de la grille d'évaluation est présenté dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Notes synthétiques attribuées pour chaque critère et chaque rubrique de la grille d'évaluation du réseau d'épidémiosurveillance de l'IAHP au Mali

Rubrique	Critère	Note du critère	Note de la rubrique
1.Organisation du réseau	1.1 Organisation du réseau documentée	4,0	3,4
	1.2 Comité de pilotage existant et fonctionnel	3,0	
	1.3 Comité technique de coordination existant et fonctionnel	3,4	
	1.4 Unité centrale existante et fonctionnelle	3,7	
2.Stratégie de surveillance	2.1 Législation existante	4,0	3,4
	2.2 Plan de surveillance existant et effectif	3,7	
	2.3 Financement existant et adéquat	2,0	
3.Fonctionnalité sur le terrain	3.1 Unités régionales existantes et fonctionnelles	2,9	2,9
	3.2 Postes de surveillance existants et fonctionnels	2,8	
	3.3 Equipe mobile existante et fonctionnelle	3,6	
	3.4 Intégration des partenaires existante et effective	2,5	
4.Laboratoire de diagnostic	4.1 Implication du laboratoire officielle et formalisée	3,0	3,2
	4.2 Approvisionnement en échantillons régulier et efficace	3,1	
	4.3 Capacités diagnostiques existantes et fonctionnelles	3,3	
	4.4 Procédure d'assurance qualité existante et fonctionnelle	3,4	
5.Gestion des données	5.1 Base de données informatisée existante et fonctionnelle	2,9	2,9
	5.2 Saisie des données performante	2,9	
	5.3 Analyse des données performante	2,9	
6.Restitution/diffusion info	6.1 Restitution effective des résultats de laboratoire	3,4	3,1
	6.2 Bulletin d'information existant et à large diffusion	3,9	
	6.3 Diffusion effective d'informations par supports variés	2,3	
7.Animation du réseau	7.1 Visites de terrain par l'Unité centrale existantes	3,3	2,5
	7.2 Formation continue des agents du réseau existante	3,0	
	7.3 Campagnes de sensibilisation existantes et régulières	2,5	
	7.4 Initiatives d'encouragement existantes	1,0	
8.Suivi de l'efficacité	8.1 Indicateurs de performance existants et fonctionnels	2,0	2,3
	8.2 Exercices de simulation existants	4,0	
	8.3 Audits existants	1,0	

Certaines rubriques fonctionnent particulièrement bien (organisation du réseau, stratégie de surveillance, laboratoire de diagnostic et restitution et diffusion des informations), tandis que d'autres ont des notes moindres (fonctionnalité sur le terrain, animation du réseau, gestion des données, et suivi de l'efficacité). Une restitution partielle de ces résultats a eu lieu en 2009 à la DNSV et un article a été publié en 2010 (Molia et al., 2010b).

Composante avifaune sauvage

L'année 2010 a marqué la fin du travail de terrain pour la composante avifaune sauvage et le début du processus de valorisation des données récoltées lors des deux premières années du projet.

Deux doctorants, Bouba Fofana et Julien Cappelle, sont impliqués dans cette composante du projet. L'année 2010 marque la fin de la thèse pour Julien Cappelle dont la soutenance a eu lieu le vendredi 17 décembre. La soutenance de Bouba Fofana étant programmée pour fin 2011. Un article a été publié en 2010 et trois autres articles sont prêts à être soumis début 2011.

Les principaux résultats obtenus en 2010 sont présentés ci-après selon la même structure que pour les parties précédentes :

1. Analyse structurelle et fonctionnelle de la communauté d'oiseaux sauvages

c) Distribution spatiale de la communauté d'oiseaux sauvages

Notre modèle de distribution spatiale permet de mieux cibler la surveillance des virus Influenza Aviaires dans l'avifaune sauvage et permet donc un meilleur contrôle de ces virus dans le DIN.

Ce modèle a fait l'objet d'un article qui a été publié dans la revue EcoHealth :

Cappelle, J., B. Fofana, O. Girard, et al. (2010) Ecological modelling of the spatial distribution of wild waterbirds to identify main areas of avian influenza viruses circulation in the Inner Niger Delta, Mali. EcoHealth, Online First.

d) Analyse des facteurs de risques à l'échelle de la communauté

Le but de cette analyse est de permettre de répondre à la question : quelles sont les associations « espèce – habitat – saison » présentant des risques élevés de circulation de virus de peste aviaire ? Ce travail constitue le cœur du travail de thèse de Bouba FOFANA.

En 2010, Bouba Fofana a bien avancé dans la rédaction de sa thèse, notamment lors d'un séjour de huit semaines à Montpellier. Les analyses en cours des données espèces – habitats –saisons indiquent que trois migrateurs paléarctiques (Sarcelle d'été, Canard pilet, Bécasseau combattant) génèrent ensemble 60% des risques de circulation des virus, essentiellement en hiver (78% des risques) et en automne (12%). Les habitats « végétation inondée » et « eau libre » sont les habitats les plus favorables à la circulation des virus (54% et 30% des risques). Un article décrivant ces résultats est en préparation et sera soumis à une revue mi 2011 au plus tard.

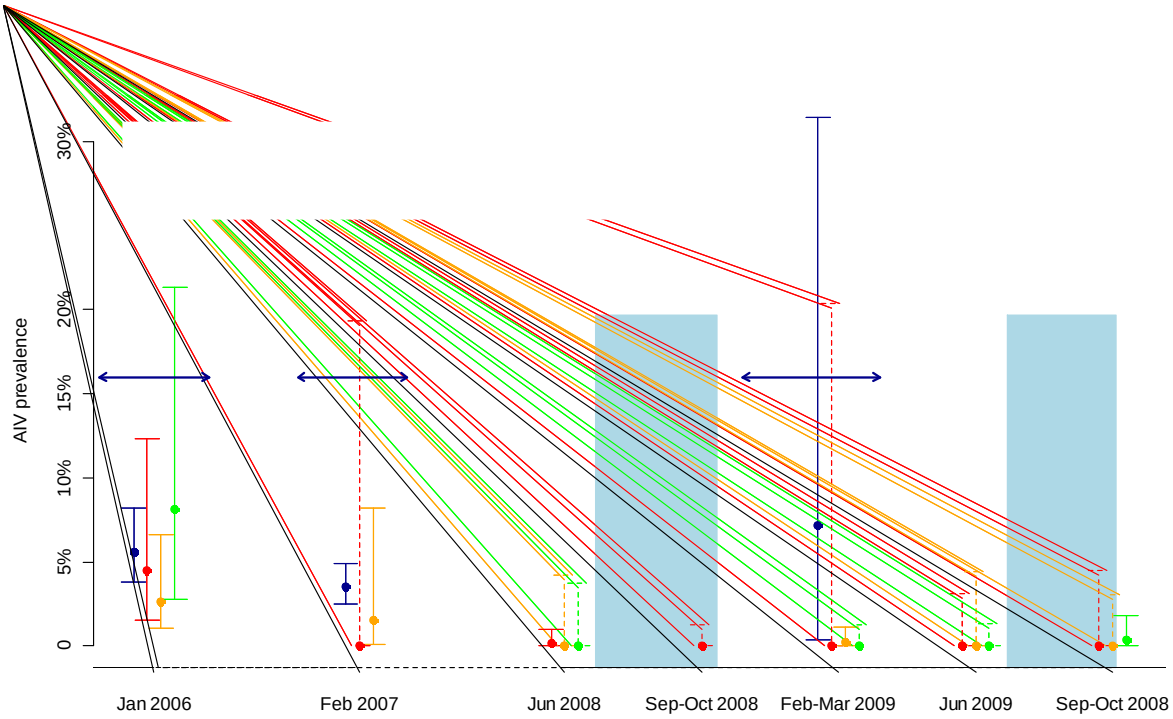
2. Détermination des profils épidémiologiques de l'avifaune sauvage dans le Delta Intérieur du Niger

a) Les virus Influenza aviaires

Le suivi longitudinal sur deux années consécutives (2008 et 2009) a permis de collecter plus de 5000 échantillons biologiques sur plus de 3000 oiseaux. Les principaux résultats sont synthétisés dans le tableau et la figure ci-après.

Groupe	Année	Fev - Mar		Juin		Sep - Oct	
		Testé (pos.)	Prév.	Testé (pos.)	Prév.	Testé (pos.)	Prév.
Anatidés Paléarctiques	2009	14 **(1)**	7.14%				
Anatidés Afro-tropicaux	2008			589 **(1)**	0.17%	305 (0)	
	2009	15 (0)		120 (0)		82 (0)	
Limicoles	2008			88 (0)			
	2009	239 (0)		83 (0)		122 (0)	
Laridés	2009	249 **(1)**	0.40%				
Ardéidés	2008			30 (0)			
	2009	44 (0)		94 (0)			
Rallidés	2008			57 (0)			
	2009			120 (0)		117 (0)	
Passereaux	2009	99 (0)		69 (0)		212 **(1)**	0.47%
Autres	2009	40 (0)				94 (0)	
Total		**700 (2)**		**1250 (1)**		**932 (1)**	

Nombre d'oiseaux testés en RT-PCR pour la détection de virus Influenza Aviaire type A, par groupe d'espèces, saison et année. Le nombre d'oiseaux positifs est indiqué entre parenthèse. Aucun virus n'a pu être isolé.



Prévalences moyennes et intervalles de confiance à 95% mesurées sur différents groupes d'oiseaux sauvages au Mali. Les résultats des prélèvements réalisés en 2006 et 2007 dans le DIN sont également montrés. Le fond bleu correspond à la saison des pluies et les différentes couleurs correspondent à quatre groupes d'oiseaux sauvages distincts : les anatidés paléarctiques en bleu, les anatidés afro-tropicaux en rouge, les limicoles en orange, et les autres oiseaux sauvages en vert. Les flèches horizontales bleues correspondent à la période de présence des oiseaux migrateurs paléarctiques dans le DIN.

Conclusions sur la circulation des virus Influenza aviaires dans le DIN :

Les virus IAFP circulent très majoritairement dans le DIN lors de la présence des migrateurs paléarctiques de novembre à mars. On détecte les plus fortes prévalences chez les Anatidés migrateurs paléarctiques, représentés essentiellement par deux espèces de canards de surface du genre *Anas (*la Sarcelle d'été et le canard Pilet*)*. Ces espèces quittent l'Europe majoritairement en aout (pour la sarcelle d'été) et septembre (pour le canard pilet) à une époque de forte circulation de virus IAFP. Ces espèces pourraient donc jouer un rôle dans l'introduction de virus IA dans le DIN. Ceci semble confirmé par la très faible circulation de ces virus dans le DIN avant l'arrivée de ces migrateurs, les prévalences détectées en hiver étant alors la résultante d'une circulation alimentée principalement par ces virus introduits lors de la migration d'automne.

Les taux de prévalence enregistrés chez ces espèces en hiver sont relativement élevés (3% à 7%) par rapport à ceux classiquement enregistrés à la même époque chez les espèces du genre *Anas* hivernant en Europe (de l'ordre de 1%). Cela pourrait être dû au fait que les espèces hivernant dans le DIN se regroupent massivement plus tardivement (après la migration d'automne) que les espèces hivernant en Europe. Ce regroupement tardif serait

l'origine d'un pic de circulation plus tardif que celui enregistré en Europe (classiquement en septembre-octobre). La sarcelle d'été et le canard pilet arriveraient alors dans le DIN avec un taux de prévalence relativement peu élevé qui augmenterait pour atteindre un pic lors des regroupements massifs ayant lieu plusieurs mois après l'arrivée dans le DIN (entre janvier et mars).

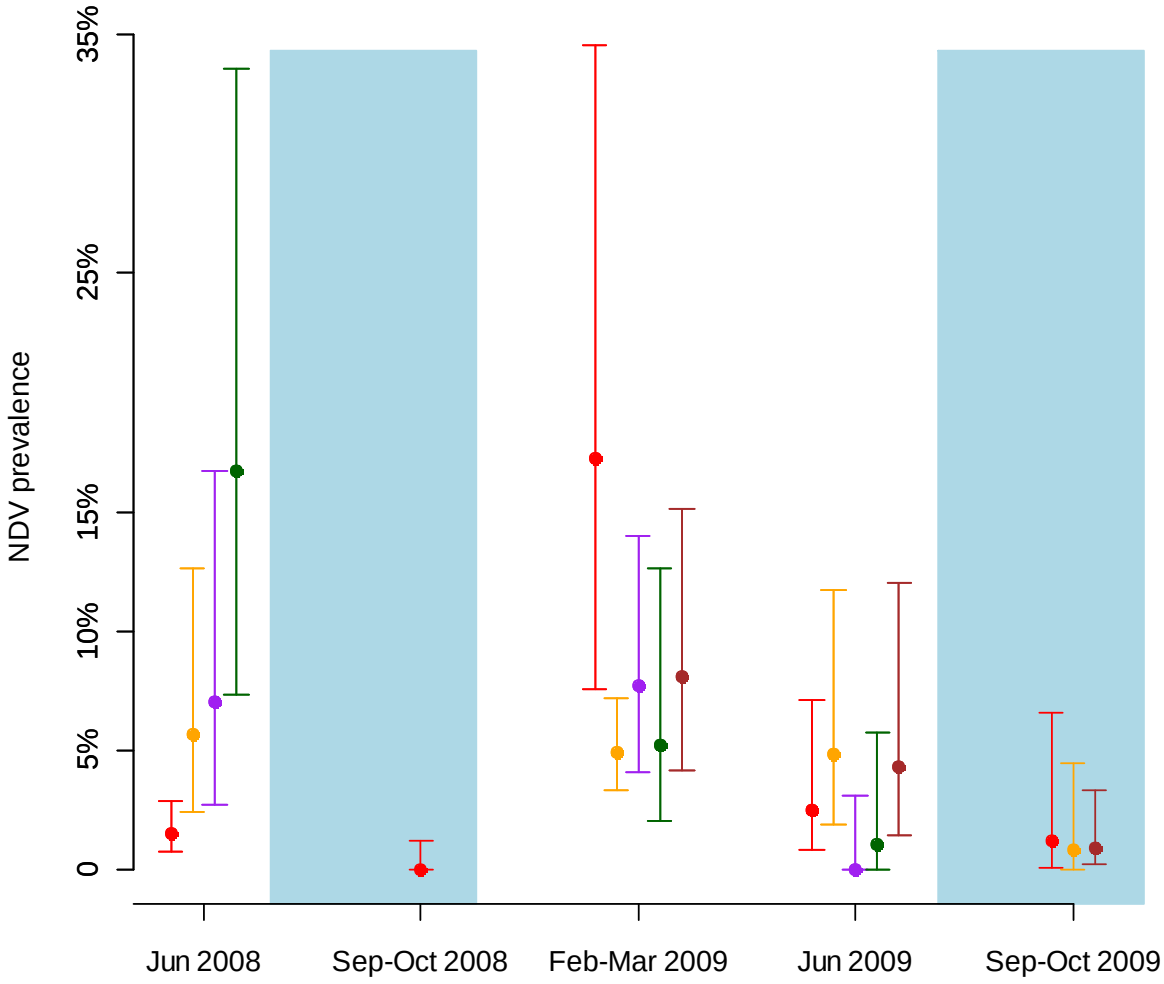
Ces deux espèces migratrices constitueraient alors à la fois une source d'introduction et un apport considérable d'hôtes particulièrement sensibles aux virus IA dans le DIN, permettant ainsi une circulation efficace de ces virus au cours de l'hiver. La sarcelle d'été et le canard pilet semblent donc être le moteur de la circulation annuelle des virus IA dans le DIN.

Les résultats de notre suivi longitudinal montrent une très faible circulation des virus IAFP en fin de saison sèche et lors de la saison des pluies. En effet, suite au départ des migrateurs, seule une circulation résiduelle très faible a pu être détectée. Trois principaux facteurs jouent un rôle dans cette faible circulation : des températures en fin de saison sèche très élevées tant dans l'air (40-41°C en moyenne pour les températures maximales observées sur le terrain en juin 2008 et juin 2009) que dans l'eau (par exemple nous avons mesuré des températures supérieures à 35°C sur les berges du lac Fati en Juin 2008) défavorables à la survie du virus dans l'environnement, l'absence d'Anatidés sauvages du genre *Anas* dans le DIN, et la très faible densité des Anatidés afro-tropicaux lors de leur période de reproduction débutant avec la saison des pluies.

b) les virus de la Maladie de Newcastle

Résultats

Les résultats de détection virologique par RT-PCR montrent une circulation importante des virus de la MN dans la communauté d'oiseaux sauvages du DIN (Figure 9). On retrouve des oiseaux positifs chez tous les groupes d'oiseaux sauvages testés (63 espèces) et à toute les saisons. On note néanmoins une circulation moindre en fin de saison des pluies, ceci pouvant être dû à une modification du comportement de ces oiseaux sauvages. En effet, la saison des pluies correspond pour la plupart des espèces d'oiseaux sauvages du DIN à la saison de la reproduction. Celle-ci s'accompagne d'un changement de comportement social pour la majorité des espèces grégaires, qui passent de groupes importants à de petits groupes dispersés sur l'ensemble des mares mises en eau par les pluies. Ceci induit une diminution des contacts entre oiseaux sauvages et donc probablement une diminution de la circulation des pathogènes entre individus.

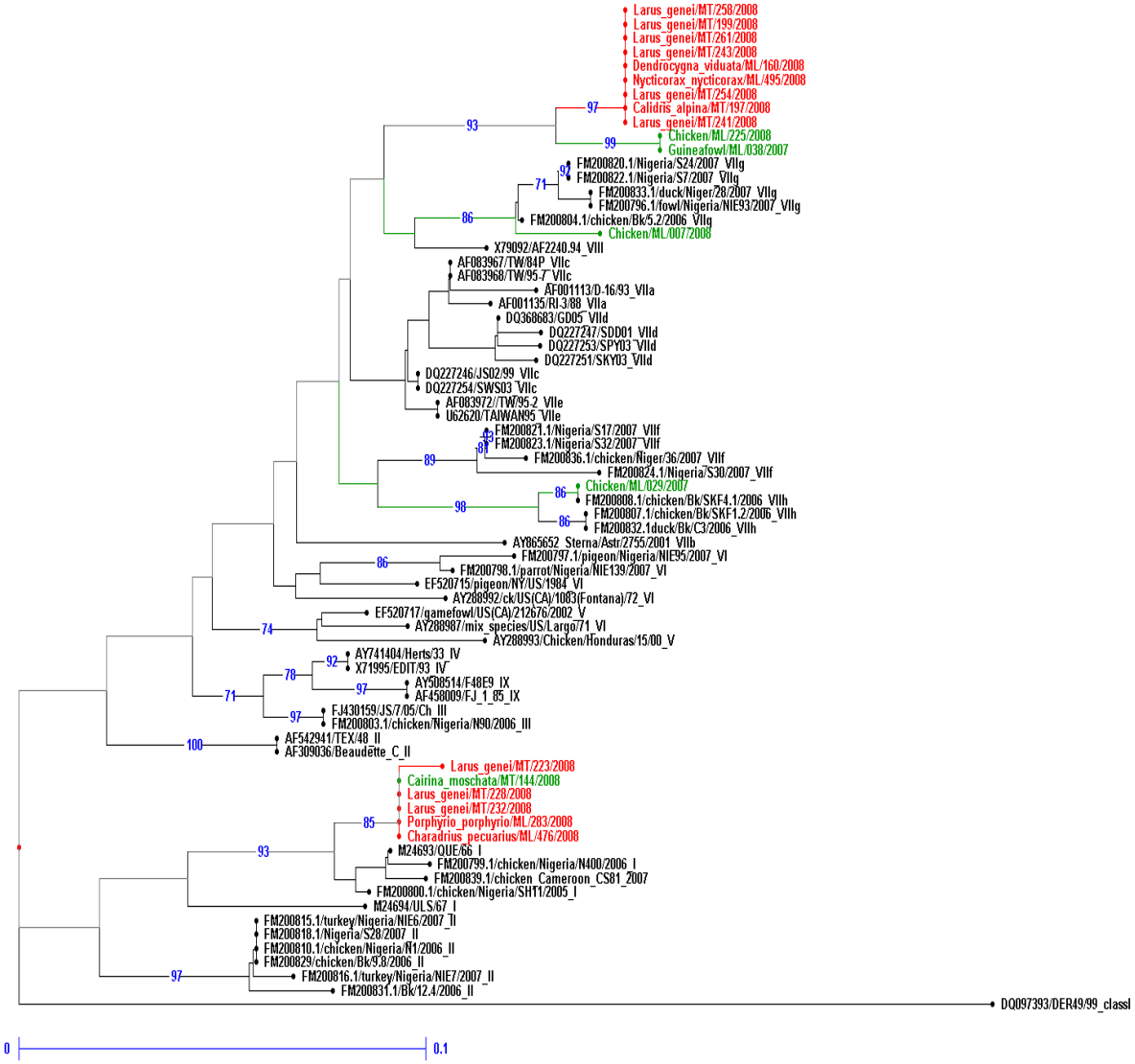


Suivi longitudinal de la prévalence (avec IC à 95%) de la MN chez différents groupes d'oiseaux sauvages dans le DIN. Le fond bleu correspond à la saison des pluies et les différentes couleurs correspondent à cinq groupes d'oiseaux sauvages distincts : les Anatidés en rouge, les limicoles en orange, les Rallidés en violet, les Ardéidés en vert, et les Passereaux en marron.

Le pathotypage et le séquençage partiel des échantillons positifs en RT-PCR n'a été possible que pour 4 échantillons sur les 107 détectés positifs, aucun virus n'a pu être isolé. Les résultats du séquençage de ces échantillons ainsi que des échantillons obtenus dans des élevages domestiques du DIN au Mali et chez d'autres espèces d'oiseaux sauvages du Banc d'Arguin en Mauritanie sont présentés dans le Manuscrit soumis par Hammoumi *et al* dont est issue la figure ci-après. Ce manuscrit propose l'existence de trois sous-génotypes appartenant à la classe II de souches de vNDV circulant en Afrique de l'ouest : les sous-génotypes VIIg, VIIh et VIIi. Nous retiendrons deux principaux résultats issus de ce manuscrit en lien avec notre étude.

Premièrement, le séquençage partiel des souches caractérisées montre que des souches de génotype vNDV appartenant au sous-génotype VIIi circulent chez deux espèces d'oiseaux sauvages du DIN, le Dendrocygne veuf et le Bihorau gris (*Nycticorax nycticorax*). N'ayant pu être isolées, la virulence de ces souches n'a pu être confirmée. Cependant, ces souches sont phylogénétiquement très proches de souches du même sous-génotype VIIi isolées chez la volaille domestique du DIN, et pour lesquelles la forte pathogénicité chez le poulet a pu être confirmée expérimentalement. Mis à part les génotype I et II constitués de nombreuses souches loNDV, les génotypes de la classe II des virus de la MN ne sont constitués que de souches vNDV. Il semble donc très probable que le sous-génotype VIIi soit un génotype de souches vNDV, comme en atteste la séquence du site de clivage de la protéine F. Ces résultats montrent donc que des souches de vNDV, pouvant provoquer des épidémies à forte mortalité dans la volaille domestique, sont partagées par des oiseaux sauvages et domestiques du DIN. Nous montrons donc que des voies de circulation entre différentes espèces d'oiseaux sauvages et des oiseaux domestiques existent dans le DIN pour des virus de peste aviaire.

Deuxièmement, ces résultats montrent la diversité d'espèces d'oiseaux sauvages potentiellement porteuses de vNDV. En effet les deux espèces (dendrocygne veuf et bihoreau gris) détectées positives au vNDN du sous-génotype VIIi appartiennent à des groupes d'oiseaux ayant des écologies différentes, même si ce sont deux espèces d'oiseaux d'eau pouvant partager les mêmes habitats et donc entrer en contact indirect propice à une transmission de vNDV. Cette diversité est amplifiée par les résultats obtenus en Mauritanie montrant que deux autres espèces, le Goéland railleur (*Larus genei*) et le Bécasseau variable (*Calidris alpina*), peuvent également être infectées par des souches de ce sous-génotype VIIi. Nous avons donc des souches de vNDV dans quatre groupes différents d'oiseaux d'eau sauvages d'Afrique de l'ouest : une espèce de canard afro-tropicale fréquentant principalement les mares et lacs d'eau douce, une espèce d'Ardéidé fréquentant principalement les zones de végétation inondée, une espèce de Laridé et une espèce de limicoles fréquentant principalement les zones côtières. Le lien épidémiologique entre d'une part les espèces côtières de Mauritanie et d'autre part les espèces continentales du DIN n'est pas évident. En effet, très peu d'espèces d'oiseaux sauvages sont communes aux deux sites. Un lien serait néanmoins envisageable par des espèces d'oiseaux sauvages moins abondantes à travers d'autres sites relais d'Afrique de l'ouest. Un lien via le commerce de volaille domestique est également envisageable. Ces résultats montrent donc une large circulation de vNDV de ce sous-génotype VIIi dans l'avifaune sauvage d'Afrique de l'ouest et donc l'existence de connections épidémiologiques entre différentes espèces d'oiseaux sauvages pour des virus de peste aviaire.



Analyse phylogénétique de 72 séquences basées sur des séquences partielles du gène F (nucléotides 295 à 389). Les séquences issues d'oiseaux sauvages du Mali (ML) et de Mauritanie (MT) sont en rouge alors que les séquences issues d'oiseaux domestiques sont en vert (adapté du Manuscrit soumis par Hammoumi et al).

Nos résultats montrent donc une importante circulation de virus de la MN dans le DIN, mis à part en saison des pluies, chez les oiseaux sauvages et la volaille domestique. Il ressort notamment que des vNDV circulent dans le DIN entre oiseaux sauvages et oiseaux domestiques, et en Afrique de l'ouest entre des oiseaux sauvages du DIN d'autres espèces d'oiseaux sauvages en Mauritanie.

Chercheurs impliqués sur l'observatoire GRIPAVI Mali

Chercheurs CIRAD
Julien Cappelle, Patricia Gil, Saliha Hammoumi, Sophie Molia, Renata Servan de Almeida, Gilles Balança, Nicolas Gaidet.

Partenaires ayant participé au montage des protocoles, aux enquêtes de terrain ou aux interprétations de données

- ANAM : Seydou Sow
- ATAVI : Yaya Dolo
- DNEF et DREF : Mamadou Diarra, Bouba Fofana, Bourama Niagaté, Boubacar Nialibouly
- DNPIA : Ousmane Coulibaly
- DNSV et DRSV : Souleymane Camara, Kassoum Diakité, Lassina Doumbia, Maïmouna Sanogo, Kadiatou Sissoko, Idrissa Sissoko, Alphonse Témé, Cheick Oumar Kayentao
- FIFAM : Diaraté Traoré, Lamine Traoré
- IER : Sekouba Keita, Modibo Sylla
- IPR : Amadou Doumbia
- FAO: Jacques Conforti, Fallou Gueye
- LCV : Martin Dakouo, Adama Diakité, Abbas Diarra, Badian Kamissoko, Souleymane Magassa, Mamadou Niang, Fatoumata Niangaly, Kassoum Samaké, Satigui Sidibé, Issa Traoré
- Stagiaires : Boubacar Coulibaly, Stéphanie Lapeyre, Gaëlle Nicolas, Ismaël Boly, Idrissa Traoré

Bibliographie

- Bennett, S., Woods, T., Liyanage, W. M., Smith, D. L., 1991, A simplified general method for cluster-sample surveys of health in developing countries. World Health Stat Q 44 (3), 98-106
- Bourma, I.B., 2008, Atlas et répertoire des fermes avicoles commerciales au Mali. Mémoire de fin de cycle ingénieur IPR/IFRA, 58 pp
- Cattoli G, Fusaro A, Monne I, Molia S, LeMenach A, Maregeya B, Nchare A, Bangana I, Garba Maina A, N'Goran Koffi JN, Thiam H, Bezeid OEM, Salviato A, Nisi R, Terregino C, Capua I. Emergence of a new genetic lineage of Newcastle disease virus in West and Central Africa - Implications for diagnosis and control. Vet Microbiol 2010 (142) 168-176
- Gaidet, N., Dodman, T., Caron, A., Balanca, G., Desvaux, S., Goutard, F., Cattoli, G., Lamarque, F., Hagemeijer, W., Monicat, F., 2007, Avian influenza viruses in water birds, Africa. Emerg Infect Dis 13, 626-629.
- Molia S, Traoré A, Gil P, Hammoumi S, Lesceu S, Servan de Almeida R Albina E, Chevalier V. Avian influenza in backyard poultry of the Mopti region, Mali. Trop Anim Health Prod 2010 (42) 807-09
- Martinez-Lopez, B., Perez, A.M., Sanchez-Vizcaino, J.M., 2009, Social Network Analysis. Review of general concepts and use in preventive veterinary medicine. Transb Emerg Dis 56, 109-120
- Molia S, Lapeyre S, Sidibé MS, Sissoko KD, N'Diaye MR, Diall M, Doumbia L. Semi-quantitative evaluation of the epidemiosurveillance network for highly pathogenic avian influenza in Mali. Epidémiol et santé anim 2010 (57) 91-103
- Servan de Almeida R, Maminiaina OF, Gil P, Hammoumi S, Molia S, Chevalier V, Koko M, Rasamoelina Andriamanivo H, Traoré A, Samaké K, Diarra A, Grillet C, Martinez D, Albina E. Africa, an unsuspected reservoir of new virulent strains of Newcastle disease virus? Vaccine 2009 (27) 3127-3129
- Snoeck, C.J., Ducatez, M.F., Owoade, A.A., Faleke, O.O., Alkali, B.R., Tahita, M.C., Tarnagda, Z., Ouedraogo, J.B., Maikano, I., Mbah, P.O., Kremer, J.R., Muller, C.P., 2009, Newcastle disease virus in West Africa: new virulent strains identified in non-commercial farms. Arch Virol 154, 47-54
- Spackman, E., Senne, D.A., Myers, T.J., Bulaga, L.L., Garber, L.P., Perdue, M.L., Lohman, K., Daum, L.T., Suarez, D.L., 2002, Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. J Clin Microbiol 40, 3256-3260
- Squarzoni, C., Bendali, F., Denormandie, N., Bastiaensen, P., Diop, B., 2005, Les réseaux d'épidémiosurveillance dans treize pays d'Afrique de l'ouest du PACE. Epidémiologie et santé animale 48, 69-80
- Sylla, M., Traoré, B., Sidibé, S., Keita, S., Diallo, F.C., Koné, B., Ballo, A., Sangaré, M., Koné, N.G., 2003, Epidémiologie de la disease de Newcastle en milieu rural au Mali. Rev Elev Med Vet Pays Trop 56, 7-12
- Traoré, A. 2006. Première évaluation de la structure et de l'importance du secteur avicole commercial et familial au Mali (FAO), p. 23pp
- Thrusfield, M, 2007, Veterinary Epidemiology. Third Edition. Blackwell Science, London, 624 pp

Publications et communications

Publications acceptées

- Servan de Almeida R, Maminiaina OF, Gil P, Hammoumi S, Molia S, Chevalier V, Koko M, Rasamoelina Andriamanivo H, Traoré A, Samaké K, Diarra A, Grillet C, Martinez D, Albina E. Africa, an unsuspected reservoir of new virulent strains of Newcastle disease virus? Vaccine 2009 (27) 3127-3129
- Molia S, Traoré A, Gil P, Hammoumi S, Lesceu S, Servan de Almeida R Albina E, Chevalier V. Avian influenza in backyard poultry of the Mopti region, Mali. Trop Anim Health Prod 2010 (42) 807-09
- Cappelle, J., B. Fofana, O. Girard, et al. (2010) Ecological modelling of the spatial distribution of wild waterbirds to identify main areas of avian influenza viruses circulation in the Inner Niger Delta, Mali. EcoHealth, Online First.
- Molia S, Lapeyre S, Sidibé MS, Sissoko KD, N'Diaye MR, Diall M, Doumbia L. Semi-quantitative evaluation of the epidemiosurveillance network for highly pathogenic avian influenza in Mali. Epidémiol et santé anim 2010 (57) 91-103

Publications soumises

- Hammoumi S., Servan de Almeida R., Gil P., Molia S., Gaidet N., Cappelle J., Chevalier V., Balança G., Traoré A., Grillet C., Samaké K., Diarra A., Martinez D., Albina E. New virulent subgenotypes of Newcastle disease virus in West-Africa, implication of wild birds.

Communications orales

- Molia S, Samaké K, Diarra A, Kanté S, Kamissoko B, Diakité A, Sidibé MS, Doumbia L, Camara S, Gil P, Hammoumi S, Servan de Almeida R, Albina E. Varying circulation levels of avian influenza and Newcastle disease viruses in domestic poulets and canards of the Mopti and Sikasso regions, Mali, in 2008. 12th Conference of the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics, Durban, South Africa, August 10-14 2009
- Gil P., Servan de Almeida R., Hammoumi S., Molia S., Chevalier V., Traore A., Samake K., Albina E. (2009). Molecular Characterization of virulent Newcastle disease viruses isolated in Mali in 2007 and 2008. Third Annual Meeting Epizone, Antalya, Turkey.
- Molia S, Lapeyre S, Sanogo Sidibé M, Sissoko K, N'Diaye MR, Diall M, Doumbia L. Evaluation semi-quantitative de la surveillance de l'influenza aviaire hautement pathogène au Mali. Journées Scientifiques de l'AEEMA, Paris, France, 20-21 mai 2010
- Cappelle, J., O. Girard, B. Fofana, et al. Improving surveillance: Ecological modelling of the spatial distribution of wild waterbirds to identify main areas of avian influenza viruses circulation in the Inner Niger Delta, Mali. In 59th Annual International Conference of the Wildlife Disease Association. Juin 2010.
- Cappelle, J. M. Spatial distribution of wild waterbirds in the Inner Niger Delta in Mali. "Host-Pathogen Community Interaction: from Mobility to Contact" ATP Emergence First Meeting, 28-29 avril 2009, Montpellier, France.

Posters

- Molia S, Traoré A, Gil P, Hammoumi S, Lesceu S, Servan de Almeida R, Albina E, Chevalier V. Avian influenza in the Mopti region, Mali" 2009 meeting of the Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine, London, UK, 1st-3rd April 2009
- Molia S, Traoré A, Gil P, Hammoumi S, Lesceu S, Servan de Almeida R, Albina E, Chevalier V. Avian influenza in the Mopti region, Mali" 2009 meeting of the Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine, Nantes, France, 24-26 March 2010

ANNEXE 1: Abréviations

AIEA	Agence Internationale de l'Energie Atomique
A&W	Antenburg and Wymenga
ANAM	Association Nationale des Aviculteurs Modernes
ANSSA	Agence Nationale de la Sécurité Sanitaire des Aliments
ATAVI	Association des Techniciens de l'Aviculture
CIRAD	Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
CTC	Comité Technique de Coordination pour la lutte contre la grippe aviaire
DIN	Delta intérieur du fleuve Niger
DNCN	Direction Nationale de la Conservation de la Nature
DNPA	Direction Nationale des Productions Animales
DNSV	Direction Nationale des Services Vétérinaires
DRCN	Direction Régionale de la Conservation de la Nature
DRSV	Direction Régionale des Services Vétérinaires
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
FAST	Faculté des Sciences Techniques de l'Université de Bamako
FSP	Fonds de solidarité prioritaire
IA	Influenza aviaire
IAHP	Influenza aviaire hautement pathogène
IER	Institut de l'Elevage Rural
IPR/IFRA	Institut Polytechnique Rural de Formation et de Recherche Appliquée
LCV	Laboratoire Central Vétérinaire de Bamako
MAE	Ministère des Affaires Etrangères (France)
MEP	Ministère de l'Elevage et de la Pêche (Mali)
MN	Maladie de Newcastle
OIE	Organisation Mondiale de la Santé Animale
ONCFS	Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (France)
ONG	Organisation non gouvernementale
PDAM	Projet de développement de l'aviculture au Mali
PALCGA	Plan d'Action de Lutte Contre la Grippe Aviaire
SAEPS	Santé animale et épidémiosurveillance dans les pays du Sud
TCP	Programme de Coopération Technique de la FAO
WI	Wetlands International