

Analyse et modélisation des risques d'introduction et de diffusion par l'avifaune sauvage des virus influenza aviaire dans des écosystèmes africains et asiatiques

Candidat : **Julien Cappelle**

Superviseurs : S. Morand et M. Gilbert

Institutions : Univ. Montpellier II ; Univ. Libre de Bruxelles

Mots clés :

Influenza aviaire - Communauté d'espèces - Epidémiologie - Ecologie

Résumé :

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence et de comparer les facteurs de circulation et de persistance des virus influenza aviaires (VIA) dans deux agro écosystèmes différents : le Delta Intérieur du Niger au Mali et la zone du Lac Poyang en Chine, en s'intéressant en particulier au rôle de l'avifaune sauvage. Ces deux sites sont très semblables par leur forte inondation annuelle et leur large communauté d'oiseaux sauvages, notamment aquatiques, réservoir des VIA. Ils se différencient par leur densité en volaille domestique et surfaces cultivées, très importantes en Chine à l'inverse du Mali.

A travers des méthodes similaires faisant appel à l'observation ornithologique, l'enquête épidémiologique, l'analyse de risque et la modélisation, nous mettrons en évidence des facteurs de risque dans ces deux systèmes complémentaires.

Contexte :

Les virus Influenza aviaires, dont les canards sauvages sont le réservoir naturel, sont classés en deux catégories en fonction de leur pathogénicité chez les volailles domestiques : les virus faiblement pathogènes et les virus hautement pathogènes (IAHP). Le virus IAHP H5N1 est apparu à Hong-Kong en 1997 puis est réapparu en 2002 dans la même région. Il s'est ensuite propagé à l'ensemble de l'Asie du Sud-est de 2002 à 2005 provoquant de nombreuses épidémies. En 2005 il s'est propagé en Asie centrale puis au Moyen-Orient jusqu'en Europe et finalement a atteint l'Afrique en 2006. Le virus s'est désormais installé dans certaines de ces régions et y persiste, provoquant de nouvelles épidémies comme en Hongrie pour l'Europe ou en Egypte et au Nigeria pour l'Afrique. C'est la première fois qu'un virus IAHP connaît une telle expansion géographique et une persistance aussi importante dans différents écosystèmes.

Il apparaît donc important de s'intéresser aux facteurs expliquant la circulation et la persistance de ce virus dans des écosystèmes variés d'Eurasie et d'Afrique.

Objectif, questions de recherche et perspectives :

L'objectif de cette étude est de comparer les facteurs de circulation et de persistance des virus influenza aviaires dans deux agro écosystèmes différents : le Delta Intérieur du Niger au Mali et la zone du Lac Poyang en Chine, en s'intéressant en particulier au rôle de l'avifaune sauvage.

Delta Intérieur du Niger au Mali

Le Delta Intérieur du Niger (DIN) au Mali est l'une des plus importantes zones inondables de l'Afrique de l'Ouest et est une zone de première importance en terme de densité et

de diversité d'oiseaux sauvage. Elle constitue notamment une des principales zones d'hivernage des oiseaux migrateurs du Paléarctique incluant une importante population de canards migrateurs.

Il existe ainsi des populations de nombreuses espèces d'oiseaux sauvages formant une communauté aviaire. Ces différentes espèces d'oiseaux, suivant les périodes et les ressources en nourriture, partagent les mêmes habitats. Certaines espèces migratrices font le lien entre le DIN et des zones d'Europe et d'Asie centrale touchées par le virus IAHP H5N1, d'autres espèces africaines pourraient faire le lien avec des zones d'Afrique également infectées comme le nord du Nigeria.

Bien qu'à ce jour, aucun virus IAHP n'ait été identifié au Mali, on peut s'interroger sur la circulation du virus en cas d'introduction par un individu d'une de ces espèces. Cette vaste communauté d'espèce, à travers sa diversité et les interactions entre ses différents membres et leur environnement commun, permettrait-elle la persistance d'un virus IAHP dans le DIN ?

D'autre part une importante chasse traditionnelle des oiseaux sauvages et principalement de canards sauvages migrateurs existe dans le DIN pendant la période d'hivernage. La grande majorité de ces produits de chasse sont vendus sur le marché de Mopti, la principale ville du DIN. Dans l'hypothèse d'une introduction du virus dans la population sauvage, existe-t-il un risque de transmission possible à la population aviaire domestique ou à l'homme via cette filière ?

Lac Poyang en Chine

La zone du lac Poyang dans la province du Jiangxi en Chine est également une vaste zone inondable possédant une grande densité et diversité d'espèces d'oiseaux sauvages. Il y existe donc une métapopulation d'oiseaux sauvages connectée à des régions d'Asie du Sud-est et de Sibérie par de nombreuses espèces migratrices. On peut donc se poser des questions identiques à celles soulevées à propos du DIN.

De plus cette zone est fortement anthropisée et de nombreuses rizières jouxtent les zones humides sauvages. Des bandes de canards domestiques élevés extensivement sont régulièrement déplacées dans ces différentes rizières afin de s'y nourrir. A l'inverse du DIN, on a ici de fortes raisons de penser que des virus IAHP de type H5N1 circulent parmi les populations de canards domestiques du lac Poyang, et sont vraisemblablement transmis à certaines espèces sauvages. En effet, des travaux récents indiquent une prévalence importante des virus IAHP H5N1 dans la volaille domestique du sud de la Chine, et ce y compris les canards et les oies, et la région du lac Poyang est la seule où le virus IAHP H5N1 ait été détecté chez 6 canard sauvage apparemment sains. La zone du lac Poyang présente en outre de nombreux intérêts. On se trouve en présence d'une zone de contact particulièrement importante entre les populations d'oiseaux sauvages et les oiseaux domestiques qui pourrait permettre le passage du virus d'une population à l'autre. Sachant que cette zone de Chine correspond au bassin historique d'émergence de nombreuses souches de virus Influenza aviaire, on peut se demander si les contacts entre domestiques et sauvages sont effectifs et suffisants pour permettre une transmission du virus.

Intérêt de la comparaison des deux sites

Ces deux sites sont très semblables par certains aspects, ce sont deux zones inondables accueillant une population d'oiseaux sauvages très importante. L'évolution des habitats est saisonnier et a un impact direct sur les déplacements et le comportement des différentes espèces qui y résident. De ce point de vue des approches très comparables peuvent être envisagées pour estimer la possibilité d'une persistance du virus dans la communauté d'espèce de chaque site, en tenant compte des particularités climatiques de chaque zone.

Par rapport au virus H5N1 en particulier, le Lac Poyang est une zone au contact de la région d'émergence du virus et une zone de contact potentiel entre sauvage et domestique. On peut dès lors considérer le système du Lac Poyang comme une introduction de virus via le commerce de volaille domestique dans l'avifaune sauvage, et s'interroger sur la dispersion possible du virus vers des régions plus distantes en Sibérie par les migrations saisonnières.

A l'inverse on peut envisager le DIN avec une entrée du virus via la population d'oiseaux sauvages migrateurs en provenance d'Asie centrale ou d'Europe et se poser la question de sa persistance dans le DIN et de son éventuelle transmission via la filière de chasse traditionnelle à la zone urbaine de Mopti.

On peut donc constater que l'étude de ces deux zones présente une grande complémentarité par rapport à la circulation du H5N1 et que des méthodes de travail comparables vont pouvoir y être menées en parallèle.

Méthodes envisagées

Afin de comprendre la circulation du virus à travers les différents compartiments de la communauté d'oiseaux sauvages et de la population domestique, il avait été envisagé d'utiliser le séquençage de souches de virus Influenza aviaire. Cependant, au vu de résultats obtenus lors des précédentes campagnes de prélèvements, cette méthode ne semble pas intéressante. En effet, étant donné le faible taux de prévalence des virus Influenza aviaire (1 à 6%) et leur taux d'isolement encore plus faible (< 1%) il ne semble pas possible de tracer leur circulation.

Une approche différente est donc envisagée, proche de l'analyse de risque. Il s'agit dans un premier temps de décrire au mieux possible chaque compartiment dans le temps et l'espace :

- Pour les oiseaux sauvages, le recours à l'observation et à la télémétrie permettra de décrire la distribution, les déplacements et les contacts entre les différentes espèces.
- Des enquêtes seront menées auprès des éleveurs de canards et des chasseurs traditionnels pour décrire au mieux les zones et temps de contacts entre les oiseaux sauvages et domestiques.
- La télédétection permettra de décrire l'environnement et les différents habitats avec leur évolution saisonnière. Ceci en association avec les résultats précédents permettra d'obtenir des cartes évolutives d'occupation de l'espace par les différents acteurs du système.
- Des prélèvements d'échantillons biologiques seront réalisés afin de préciser la prévalence et le types de virus circulants dans les différentes populations aviaires.
- Enfin, une modélisation spatiale de chaque système permettra d'intégrer ces différents éléments pour répondre aux questions de recherche posées, à savoir mettre en évidence et comparer les facteurs de circulation et de persistance des virus influenza aviaires dans les deux sites.

Résultats attendus

Différents résultats sont attendus à l'issu de ces travaux :

- Des cartes de distribution des différentes espèces d'oiseaux sauvages basées sur la dynamique de différents facteurs environnementaux retenus. Ceci permettra de définir les principales zones et périodes de contact entre les différents groupes d'oiseaux.
- Des cartes d'intensité de l'interface entre oiseaux sauvages et domestiques afin d'identifier les zones et périodes clefs les plus propices aux contacts entre sauvage et domestique.
- Des cartes dynamiques de risque intégrant les différentes données écologiques et épidémiologiques et mettant en évidence les zones et périodes principales de circulation de virus.
- Enfin, une analyse comparative entre les deux zones d'études devrait permettre de mieux comprendre les facteurs clefs expliquant les différences de circulation et de persistances de virus.

Conclusion

Dans un contexte de dispersion intercontinentale dans de nombreuses zones différentes du virus IAHP H5N1, une meilleure compréhension des facteurs de sa circulation et de sa persistance est primordiale afin de lutter plus efficacement contre ce pathogène. La possibilité de mener deux études parallèles dans deux agro-écosystèmes apparentés l'un en Chine, potentiellement excréteur de virus vers d'autres régions, et l'autre en Afrique, potentiellement capable de pérenniser le virus, prend alors tout son intérêt.

Collaborations envisagées :

Encadrement :

CIRAD ES – UR 22

ULB – LUBIES

Partenaires Mali :

DNCN (Direction Nationale de la Conservation de la Nature)

LCV (Laboratoire Central Vétérinaire)

DNSV (Direction National des Services Vétérinaires)

Wetlands International

Partenaires Chine :

MoA (Ministry of Agriculture)

IOZ (Institut of zoology)

JAU (Jiangxi Agriculture University)

PLNNR (Poyang lake national nature reserve)

Calendrier prévisionnel :

Activité	Année 1			Année 2			Année 3		
Récolte de données existantes / Bibliographie	■	■	■						
Observation / Comptages ornithologiques		■	■	■	■	■	■	■	■
Prélèvements virologiques / Enquête épidémiologique		■	■	■	■	■	■	■	■
Analyse statistique et spatiale des résultats				■	■	■	■	■	■
Modélisation éco-épidémiologique							■	■	■
Rédaction									■

BILAN DE L'ANNEE 1

Principaux résultats

Cette première année de thèse a été marquée par la mise en place de la thèse d'un point de vue institutionnel et scientifique.

Du point de vue institutionnel cette année a été marquée par la mise en place du volet avifaune sauvage du projet Gripavi au Mali. Ce projet est le support principal du travail de terrain de la thèse. L'année 1 a permis d'une part de formaliser les partenariats locaux (Laboratoire Central Vétérinaire, Direction nationale de la Conservation de la Nature, Wetlands international) par des conventions spécifiques. D'autre part elle a permis la mise en place d'une seconde thèse, liée et complémentaire à celle-ci, réalisée par un étudiant malien.

Du point de vue scientifique cette année a permis la conception et la réalisation des protocoles de terrain (8 mois passés sur le terrain lors de cette 1^e année) relatifs à la thèse ainsi que le début des analyses de données :

- Comptages ornithologiques dans 4 zones d'intérêt de la zone d'étude (Grands lacs du Nord, Plaine inondable de Seri, Complexe Walado-Debo et zone rizicole de Macina) lors des trois phases annuelles du cycle hydrologique de la zone d'étude (Crue, Décruée et Etiage).
- Captures et prélèvements d'anatidés sauvages en fin de saison sèche (1051 prélèvements sur 854 oiseaux) et fin de saison des pluies (333 prélèvements sur 314 oiseaux), afin d'estimer les profils de circulation des virus Influenza aviaire.
- Collecte des données antérieures auprès des partenaires locaux : obtention des données de comptages ornithologiques réalisés dans la zone depuis 1998 et structuration d'une base de données commune.
- Analyse des mouvements des oiseaux sauvages suivis par balise satellitaire (1 article 1^{er} auteur en préparation, 2 articles publiés et 1 en préparation en co-auteur)
- Elaboration du premier modèle de distribution spatiale des oiseaux sauvages dans la zone d'étude : modèle statistique de type GAM (Modèle Additif Généralisé) exprimant la présence/absence d'une espèce en fonction d'indicateurs environnementaux obtenus par télédétection (images Spot 5 et Landsat TM)

Publications scientifiques :

Publiées :

Gaidet N, Newman SH, Hagemeyer W, Dodman T, **Cappelle J**, Hammoumi S, et al. Duck migration and past influenza A (H5N1) outbreak areas. *Emerg Infect Dis* 2008

Gaidet N, Cattoli G, Hammoumi S, Newman SH, Hagemeyer W, Takekawa J, **Cappelle J**, et al. (2008) Evidence of Infection by H5N2 Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses in Healthy Wild Waterfowl. *PLoS Pathog*

En préparation:

Cappelle J, Iverson S, et al. Improving bird satellite tracking with solar-powered transmitters

Gaidet N, Cappelle J, et al. Movement patterns of waterfowl in relation to duration of potential asymptomatic shedding of avian influenza virus.

PERSPECTIVES

La deuxième année de la thèse sera une année de transition entre la prépondérance du travail de terrain par rapport au travail d'analyse et de modélisation. Ainsi quatre à cinq mois devraient être passés sur le terrain en année 2 et le reste de l'année en Europe (CIRAD Montpellier et ULB, Belgique) afin de permettre :

- Poursuite des comptages ornithologiques dans les 4 zones d'intérêt de la zone d'étude (Grands lacs du Nord, Plaine inondable de Seri, Complexe Walado-Debo et zone rizicole de Macina) lors des trois phases annuelles du cycle hydrologique de la zone d'étude (Crue, Décruie et Etiage).
- Poursuite des captures et prélèvements d'anatidés sauvages en fin de saison sèche (200 oiseaux ciblés) et fin de saison des pluies (200 oiseaux ciblés), afin d'affiner l'estimation des profils de circulation des virus Influenza aviaire.
- Captures et prélèvements de différents groupes d'oiseaux sauvages lors de l'hivernage en février 2009. Les groupes ciblés sont : les anatidés paléarctiques migrateurs (250 oiseaux ciblés), les anatidés afro-tropicaux (400 oiseaux ciblés), les limicoles (250 oiseaux ciblés), les ardéidés (250 oiseaux ciblés), les passereaux (250 oiseaux ciblés). Ceci afin d'estimer la prévalence en virus Influenza aviaire chez différents groupes fonctionnels d'oiseaux sauvages.
- Poursuite de l'analyse des mouvements des oiseaux sauvages suivis par balise satellitaire (finalisation des deux articles en cours de rédaction) et début de leur modélisation : obtention de règles de déplacement pouvant alimenter un modèle individu centré.
- Finalisation du premier modèle de distribution spatiale des oiseaux sauvages dans la zone d'étude : modèle statistique de type GAM (Modèle Additif Généralisé) exprimant la présence/absence d'une espèce en fonction d'indicateurs environnementaux obtenus par télédétection (images Spot 5 et Landsat TM)
- Elaboration d'un modèle prédictif d'effectifs d'oiseaux d'eau dans le complexe Walado-Debo basé sur la corrélation entre le niveau d'eau et les effectifs des différentes espèces d'oiseaux d'eau sauvages.
- Début de l'analyse des données produites par les partenaires en Chine sur le Lac Poyang à partir des méthodes mises en place au Mali.

Describing and Understanding Host-Pathogen Community Interactions at the Wildlife/Domestic Interface

Candidat: **Alexandre Caron**, DVM, MSc

Superviseur :Elissa Cameron, MRI Director

Institutions : CIRAD, Dept. Environment & Societies, UR 22 “Wildlife Integrated Management”, Mammal Research Institute, Dept. Zoology & Entomology, U. Of Pretoria

Study context

- CIRAD in Zimbabwe

CIRAD has been implementing research studies in Zimbabwe for more than 10 years and has developed a solid technical and scientific partnership: MOUs have been signed between CIRAD and the University of Zimbabwe (UZ), University of Bulawayo (UB), the Park and Wildlife Management Authority (PWMA) and a MOUs is under preparation with the Veterinary Services of Zimbabwe (VSZ).

Research activities have focused on applied research at the periphery of protected areas using natural resources management as the key driver to sustainable livelihoods in these remote areas.

- *A component of the RP-PCP*

The actions related to Animal Health in the Zimbabwean Lowveld are part of the new scientific platform CIRAD and its partners are implementing in Zimbabwe through the RP-PCP (Research Platform to Produce and Conserve in Partnership). This platform is aiming at applied scientific research in the periphery of protected areas where a lot of development and conservation issues are at stake. At this interface between human-used and natural ecosystems, 4 research topics are targeted: Conservation Agriculture, Community-Based Natural Resource Management, Functional Ecology and Animal Health at the Wildlife/Livestock Interface. The University of Zimbabwe, of Bulawayo, CNRS (French National Centre for Scientific Research) and CIRAD are the four core research institutions which have decided to invest their efforts in these research topics to promote a better understanding and propose management options where the production by communities and the conservation of biodiversity are merging together.

- *CIRAD Animal Health team in Zimbabwe and in Southern Africa*

This topic area is headed for CIRAD in Zimbabwe by Michel de Garine-Wichatitsky, DVM, PhD with the support of the author. Research activities encompassed in this document are supervised by Dr. de Garine with a strong emphasis on the Lowveld study site. A core of Zimbabwean professors from UZ mainly and students (Masters Student as well as Phd Students) constitutes the bulk of the research team. Lots of the research studies proposed in this document will be undertaken with their help and for their research purpose as well.

Some CIRAD researchers work on animal health issue in Southern Africa (Dr. Pascal Bonnet, PRINT project, Botswana; Dr. Ferran Jori, Post-doc U. Of Pretoria, South Africa – CORUS Project) with a regional approach and projects under development.

Study objectives

Preventing disease introduction has proved to be difficult. Recent emergences (multiple FMD emergences in UK since 2001, SARS worldwide and HPAI spread in the world) (1-3) have highlighted the fact that introduction happens despite drastic control measures and defy the odds by relying on very low probability events. Control measures cannot be 100% successful and time and the multiplicity of events assure that they will be inefficient and that introduction of pathogens will occur. The fight against disease emergence will be more efficient if the spread and maintenance of these emerging pathogens are understood and predictable once the introduction has occurred (4).

If one acknowledges that disease introduction will happen, one must try to identify hot spot of emergence which will be where pathogen evolution will be enhanced and potential for interspecies transmission exists (ultimately to a species of interest – from a production, conservation or public health point of view). Therefore, parameters to identify these areas are:

- Biodiversity (of host, of pathogens and at another level of genes) (5-7);
- The multiplicity of production systems (from natural to industrial)(8);
- The degree of human control on the system, mainly from a veterinary point of view (9);

Consequently, tropical and sub-tropical areas where most of biodiversity is concentrated and particularly protected areas with an intensive agricultural development and an inadequate veterinary and public health control will be at risk. Where a wildlife / domestic interface exists is where the risk lies (10).

Describe & Predict disease status and emergence

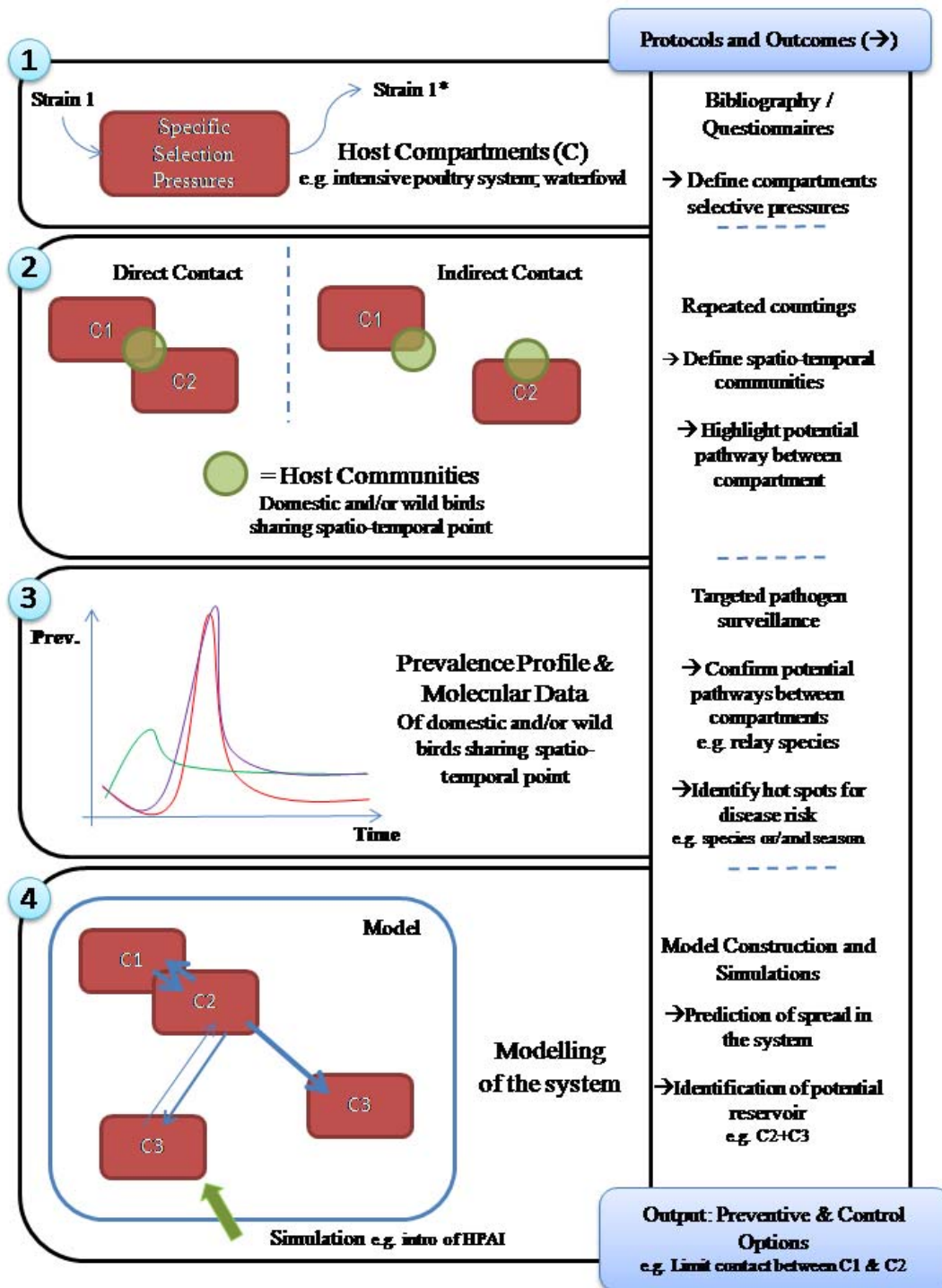
This PhD is looking at transcending the classical “one host- one pathogen” veterinary approach to tackle disease issue (11, 12). This historical approach has failed to provide answers or good predictions for disease emergence at the interface between wild and domestic systems. The originality of this thesis is to consider the species (host or pathogen) of prime interest as an organism living and evolving in a complex biotic and abiotic environment where communities of host and pathogens co-exist. The approach is ecological and epidemiological for wild as well as domestic systems and the evolutionary potential of pathogens under study will be looked at (13, 14). A reservoir for a disease could be a specific interaction of populations in a community responding to a complex spatiotemporal dynamic of ecological factors (12, 15). A reservoir will be in contact with target species in order to spread the disease and these contacts and the movements associated (16) will have to be revealed to understand risk pathways. Using multiple pathogen data to maximize the resource investment in surveillance, we will try to highlight these pathways.

Therefore the main axis of this PhD thesis will be to explore:

1. The concept of a reservoir for a disease played by a community of potential hosts in a spatio-temporal matrix:
 - Can we define such interspecies reservoirs and is this concept more powerful than the classical single host reservoir?
 - Can we set up protocols which can describe such reservoirs?
 - Understanding the interactions inside and between the communities living in an ecosystem, can we predict using risk analysis tools the emergence, maintenance and spread of some diseases?

2. The concept of “Sanitary Identity Card” – SIC which rely on the host-pathogen community description to infer direct and indirect contact and feed risk analysis models:
 - Is the SIC concept usable at the wildlife / domestic interface?
 - Can we use the SIC concept to describe the risk of emergence of pathogens in known ecosystem?

To test these hypotheses, this study will gather data from 2 models, describe in the next section. Only the model specific to avian influenza is presented here.



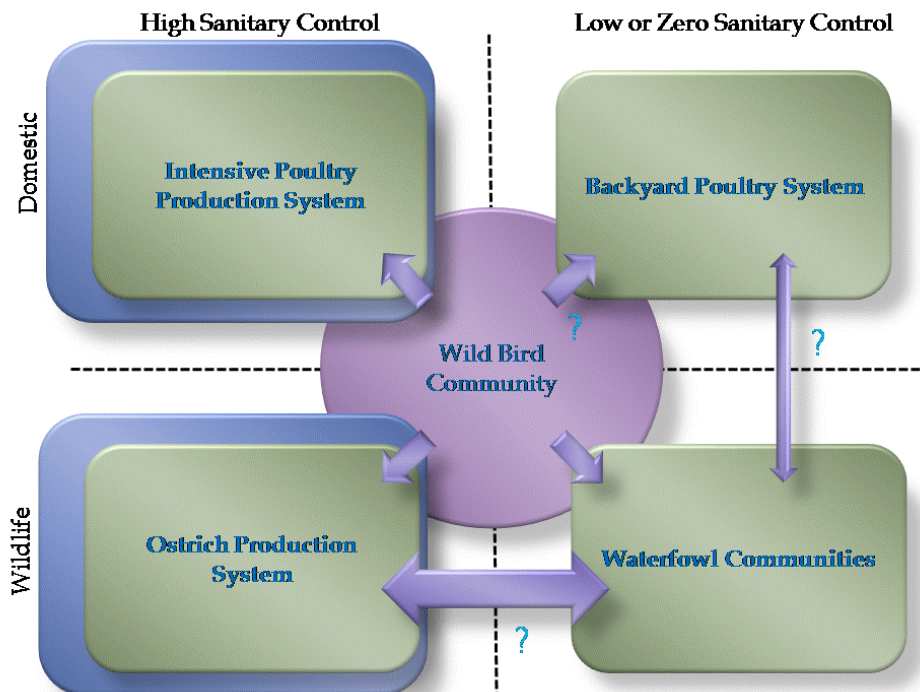
Models under study

Avian Influenza in avian systems; the case of the lakes Chivero & Manyame ecosystem in Zimbabwe

The recent worldwide spread of Avian Influenza across 3 continents has changed the perception of the risk of disease emergence and the threats these processes put on animal and public health. Until today, the 2 main hypotheses for the spread and maintenance of Avian Influenza viruses aim at understanding the respective role of the wild birds communities (17, 18) and the role of global poultry trade. These 2 options are not exclusive of each other (19).

However, the recent work in healthy avian populations in Africa, to understand viruses' dynamics has shown that the AI prevalence (low pathogenic strains) is very low and requires large sample size in order to extract useful data (20). In reality, this sample size is rarely possible due to funding constraints. It is therefore necessary to describe techniques and approaches which try to predict disease spread and maintenance once it enters a system using data on other diseases. This study site will encompass an apparently healthy avian ecosystem in the periphery of Harare, Zimbabwe.

Four avian compartments (cf figure below) - wild waterfowl, intensive poultry production, extensive ostrich production and backyard chicken populations - will be studied in terms of communities of birds sharing some time and space in a complex ecosystem. Regular counting and estimation of Avian Influenza and Newcastle (as well as other avian diseases) prevalence in these populations will provide hypotheses on the interactions processes which will be used to model the introduction of a highly pathogenic avian influenza (HPAI) strain under various conditions. Particular emphasis will be targeted at identifying potential bridge species able to spread the disease between these compartments.



Can one of these compartments be the reservoir for avian influenza viruses? Can a combination of populations of these various compartments can interact to make the reservoir? If yes, can we

identify key control options which could control this reservoir or limit its contacts with target populations?

Once these interactions between compartments will be described, potential risk pathways will be line out and qualitative and/or quantitative risk analysis approach will be used to attempt to understand how a Highly Pathogenic strain of AI would behave in such an ecosystem depending on its source of introduction.

Proposed PhD plan & publications

To fulfil its PhD thesis at the University of Pretoria, the candidate has been asked to structure his thesis around at least 5 first authors articles (noted from 1 to 6) which preliminary titles are described below. Additional co-authorship articles are proposed in appendix.

Update 11/08, following paper's numbers:

1. Resubmitted after acceptance with major revision in September 2008
2. Draft under preparation: planned to be a theoretical paper with some testing of relevant database
3. Reported for first half of 2009; proposed submission in "Avian Diseases" or "Transboundary and Emerging Diseases"; missing laboratory results
4. No change
5. No change
6. No change
7. There will be in 2009, some specific protocols to explore the role of bridge species: maybe a specific paper on this issue will be drafted.

Introduction

Submitted:

1. Evolutionary Biology, Community Ecology and Avian Influenza research. CARON, Alexandre, GAIDET Nicolas, DE GARINE-WICHATITSKY, Michel, MORAND, Serge, CAMERON, Elissa

Rejected for « Emerging Infectious Disease » in 06/07, "Infection, Genetics and Evolution" in 10/07; accepted with major revision in August 2008 and resubmitted in September 2008.

In prep (submission in 2009): reported

2. Practical and theoretical concepts for the study of emerging diseases. (Provisional title)
CARON, Alexandre, DE GARINE-WICHATITSKY, Michel

Material & Methods

Planned for 2009:

3. Avian Influenza in Avian Systems: Set-up of a longitudinal study in the Manyame and Chivero Lakes Ecosystem. (Provisional title)
CARON, A. + co-authorship

Main chapters

Planned for end of 2009:

4. Predicting the risk of spread and maintenance of a HPAI in an ecosystem using the concept of host-pathogen community. (Provisional title)
CARON, A. + co-authorship

5. The "Sanitary I.D." in practice: risk analysis and the host-pathogen community approach to predict disease emergence and spread at the wildlife-livestock interface. (Provisional title)
CARON, A. + co-authorship

Conclusion

Planned for 2010:

6. The host-pathogen community approach: combining ecological, epidemiological and molecular data to feed a risk analysis tool.

CARON, A. + co-authorship

The final presentation of this PhD should occur current 2010.

Technical and scientific partnership

As said previously, the core partners of the actions will be the research partners of the RP-PCP: the University of Zimbabwe and the University of Bulawayo as well as CNRS. Interactions between the 4 research areas will be an objective. Links with the social science and the fundamental ecology compartment exist already.

But the picture is broader and the collaboration is strong with the technical services of Zimbabwe: because they have the knowledge and the experience of their country and because the research training that will be provided through the research partners will be better used if it targets technical staff and promote research in the technical services.

The main partners for the animal health component:

- University of Zimbabwe
 - Veterinary faculty
 - CASS (Centre for Social Sciences)
- University of Bulawayo
 - NUST
- University of Pretoria
 - MRI
 - Faculty of Epidemiology
- The Zimbabwean Veterinary Services
 - Field services
 - Harare Central Laboratory
 - Wildlife Veterinary Centre
- The Park and Wildlife Authority of Zimbabwe
- Tick Research Unit

The opportunity to have partners at the regional level is also of prime importance. The regional dimension is of course crucial when looking at disease in a transfrontier context. Protocols should be harmonised in order to be able to compare the epidemiological and ecological data.

Collaborations at regional and continental level will rely on the following existing links:

- For the Avian Influenza Model:
 - The **Mesures d'Urgence** project (ended in July 2008): implemented by CIRAD; set-up of 2 observatories for AI in Mali and Zimbabwe;
 - The **GRIPAVI** project (CIRAD, 2008-2010): implemented by CIRAD; research on AI ecology and epidemiology in 6 sites (Mauritania, Mali, Ethiopia, Madagascar, Vietnam and Zimbabwe);

- **GAINS-SA** project (2007-2009): implemented by the Fitz Patrick Institute, Uni. Of Cap Town; collaboration with this project in the Zimbabwean site; this project runs sites in South Africa (2), Botswana and Mozambique;

This PhD study is therefore a component of broader geographical and conceptual studies on animal disease in developing countries.

Funding sources

- Model on Avian Influenza

	2006	2007	2008	2009	2010
Mesures d'Urgence - MAE*		X	X		
GRIPAVI - MAE			X	X	X

*MAE = French Ministry of Foreign Affairs

Most activities are funded for the completion of this thesis.

Planned activities

Update 11/08:

- Avian Influenza:

Globally, activities on Avian Influenza are well underway (cf Appendix 2 for past & planned activities 2007-2009):

- Wild birds compartment: we have now completed a year and half of study including 10 counting and capture sessions with a total of 1750 wild birds captured and sampled (excluding recapture – between 15 and 20%). The database built by the GAINS-SA team has been completed and all the data collected has been included by the mid-May 2008. Analysis on this data should start in December 2008 for the paper proposed N° 3. The main problem that we are facing with the wild bird compartment is the lack up to now of laboratory data due to the contract between CIRAD and OVI not yet signed (the responsibility of this contract falls under the CIRAD laboratory research unit; up to now only 300 swab results have been produced). This contract has been signed at the end of June 2008.
- Backyard chicken compartment: the identification of the study sites of this compartment has been done by the end of May 2008. The first counting session happened in June 2008 and is now implemented every 2 months for the next year (3 counting session up to now). 400 sera and swabs have been collected in one village; this village should be sero-sampled 3 times during the year. In November (currently under way), we plan a multi-site sampling (800 sera in 4 villages) to test if the distance to the lake has an effect on the AIV prevalence. All the sera should be analyzed during the beginning of December 2008.

- Intensive poultry compartment: at the end of 2007, 9 farms have been chosen and questionnaires have been implemented to describe these farms. In February 2008, the first counting session has been implemented in this compartment and from June 2008 up to Mars 2009, regular counting session should be implemented. Up to now, the serological database existing on intensive poultry has not yet been accessed as scheduled. 200 sera have been collected and will be tested at the end of 2008.
- -Ostrich compartment: the 3 farms have been visited in February 2008 and 2 counting sites will be chosen in each of this farm. As for the last 2 compartments, regular counting sessions should start in June, repeated every 2 months and for a year. 200 sera have been set aside by the Wildlife Veterinary Unit in November 2007 and another 200 in May-June 2008. These sera have been tested by OVI (1.5% of seropositivity for AIV) and 300 more should be collected and sent to OVI in November-December 2008.

Thanks to Sophie Molia a CIRAD staff based in Mali, 13 ELISA kits for Avian Influenza A viruses with the potential of testing around 2400 birds will be available for the Zimbabwean site. These kits will be used to test most of the sera collected in the backyard, intensive poultry and ostrich compartments. Concerning this last compartment, an ELISA kit specially made for Ostrich blood is under development at OVI and will be used if made available soon.

Aside from this Phd proposal but interesting for the questions at stake, 11 satellite transmitters have been set up on wild birds by Graeme Cumming (7 on red-billed teal, and 4 on Egyptian goose) during the Mars 2008 capture mission for the GAINS-SA project.

Appendix: publication as co-author done & planned

This list is only provisional but give an idea of the type of co-authorship articles which could be included in the thesis appendix.

2006

Articles

- Artois M., **Caron A.**, Leighton F.A., Bunn C., Vallat B. 2006. La faune sauvage et les maladies émergentes. Revue scientifique et technique - Office international des épizooties, 25 (3) : 897-912.
- Etter E., Donado P., Jori F., **Caron A.**, Goutard F., Roger F. 2006. Risk analysis and bovine tuberculosis, a re-emerging zoonosis. Annals of the New York Academy of Sciences, 1081 : 61-73. Biennial Conference of the Society for Tropical Veterinary Medicine. 8, 2005-06-26/2005-07-01, Hanoi, Vietnam.
<http://dx.doi.org/10.1196/annals.1373.006>
- Binot A., Castel V., **Caron A.** 2006. L'interface faune-bétail en Afrique subsaharienne = Wildlife-livestock interface in subsaharan Africa. Sécheresse, 17 (1-2, éd) : 349-361.

Books and Booklets

- Albina E., Balança G., Benmansour A., Camus E., Cardinale E., **Caron A.**, Chevalier V., De La Rocque S., Desvaux S., Gaidet N., Gerbier G., Goutard F., Lancelot R., Martinez D., Monicat F., Porphyre V., Renard J.F., Richard D., Roger F., Salgado P., Vial L. 2006. Bird flu, avian influenza :

the H5N1 virus, poultry, other animals, and people here and elsewhere, from Asia to Africa. Montpellier : CIRAD, XI-48 p.. (Les savoirs partagés).

- Albina E., Balança G., Camus E., Cardinale E., **Caron A.**, Chevalier V., De La Rocque S., Desvaux S., Gaidet-Drapier N., Gerbier G., Goutard F., Lancelot R., Martinez D., Monicat F., Porphyre V., Renard J.F., Richard D., Roger F., Salgado P., Vial L. 2006. La grippe aviaire, l'influenza : le virus H5N1, le poulet, les autres animaux, et l'homme d'ici et d'ailleurs, de l'Asie à l'Afrique. Montpellier : CIRAD, XI-48 p.. (Les savoirs partagés).

2007

Article

- Gaidet N., Dodman T., **Caron A.**, Balança G., Desvaux S., Goutard F., Cattoli G., Lamarque F., Hagemeijer W., Monicat F. 2007. Avian influenza viruses in water birds, Africa. *Emerging infectious diseases*, 13 (4) : 626-629. <http://www.cdc.gov/eid/content/13/4/626.htm>

- Gaidet N., Dodman T., **Caron A.**, Balança G., Desvaux S., Goutard F., Cattoli G., Martin V., Tripodi A., Lamarque F., Hagemeijer W., Monicat F. 2007. Influenza surveillance in wild birds in Eastern Europe, the Middle East, and Africa : preliminary results from an ongoing FAO-led survey. *Journal of wildlife diseases*, 43 (3, su) : S22-S28.

Communications

- **Caron, A.** 2007. CIRAD Lowveld Livestock Project. 7th AHEAD Meeting, 8-9 Mars 2007, Pequenos Libombos Dam, Mozambique.

- Goutard F., Desvaux S., Roger F., Gaidet N., **Caron A.**, Balança G., Monicat F., Diesel G., Wieland B., et al. 2007. Regional training workshops for early detection and prevention of avian influenza : [Abstract]. In : Camus Emmanuel (ed.), Cardinale Eric (ed.), Dalibard Christophe (ed.), Martinez Dominique (ed.), Renard Jean-Francois (ed.), Roger François (ed.). Does control of animal infectious risks offer a new international perspective ? : proceedings of the 12th International Conference of the Association of Institutions of Tropical Veterinary Medicine. Montpellier : CIRAD, p. 371. International Conference of the Association of Institutions of Tropical Veterinary Medicine. 12, 2007-08-20/2007-08-22, Montpellier, France.

2008

Article

- **Caron, A.**, Gaidet, de Garine-Wichatitsky, M., Morand, S., Cameron, E. Evolutionary Biology, Community Ecology and Avian Influenza Research. *Infections, Genetics and Evolution*. **Re-submitted**

Communications

Caron, A., Fritz, H., Morand, S., de Garine-Wichatitsky, M. 2008. Network of Interaction, Geographic Mosaic of Coevolution and Community Ecology: Sanitary Risk at the Wildlife / Livestock Interface. Meeting of the two GDRIs on Biodiversity and Sustainable Use in the context of Global Change - Madagascar and Southern Africa at the Corum and CNRS, 3rd November 2008, Montpellier, France.

de Garine-Wichatitsky, M., **Caron, A.** 2008. South-East Lowveld wildlife and domestic animal health projects and CIRAD: an update. 8th AHEAD Meeting, 5-7 Mars 2008, Nelspruit, South Africa.

Gaidet, N., Dodman, T., Gil, P., Cappelle, J., Hammoumi, S., Cattoli, G., **Caron, A.**, Terregino, C., Salomoni, A., Hagemeyer, W., Takekawa, J.Y., Monicat, F., Lubroth, J., Domenech, J., Newman, S.H. Highly and low pathogenic avian influenza viruses in healthy wild birds: results from a large scale surveillance programme in Eastern Europe, the Middle East and Africa.. Bangkok International Conference on Avian Influenza 2008: Integration from knowledge to control, 23-25 January 2008, Bangkok, Thailand.

Dodman, T., Gaidet, N., Hammoumi, S., Cattoli, G., Cappelle, J., **Caron, A.**, Hagemeyer, W., Gil, P., Fereidouni, S., Adeniyi, T., Muller, C., Takekawa, J., Karesh, W., Monicat, F., Newman, S. Wild bird surveillance for Avian Influenza and monitoring in Africa and related conservation implications. 12th Pan-African Ornithological Congress, 7-12 September 2008, South Africa

2009

- Population dynamics of waterfowl in the Chivero-Manyame ecosystem: the present put in perspective with longitudinal data (in collaboration with PhD ornithology student)
- **2. Practical and theoretical concepts for the study of emerging diseases. (Provisional title)**
CARON, Alexandre, DE GARINE-WICHATITSKY, Michel
- **3. Avian Influenza in Avian Systems: Set-up of a longitudinal study in the Manyame and Chivero Lakes Ecosystem. (Provisional title)**
CARON, A. + co-authorship
- Observatoire-based Avian Influenza in wild birds study in Africa: the synergy of continental research (in collaboration with the GRIPAVI CIRAD team)

These are just provisional lists of articles. Article collaboration with the GAINS-SA research team for example is also a potential article output of this thesis.

References

1. Liu J, Lim SL, Ruan Y, Ling AE, Ng LF, Drosten C, et al. SARS transmission pattern in Singapore reassessed by viral sequence variation analysis. PLoS Med. 2005 Feb; 2(2):e43.
2. Feare CJ. The spread of avian influenza. Ibis. 2007;doi: 10.1111/j.1474-919x.2007.00711.x.
3. Kesy A. Global situation of foot-and-mouth disease (FMD)--a short review. Pol J Vet Sci. 2002; 5(4):283-7.
4. Artois M, Caron A, Leighton FA, Bunn C, Vallat B. La faune sauvage et les maladies émergentes. Rev Sci Tech. 2006; 25(3):897-912.

5. Bengis RG, Leighton FA, Fischer JR, Artois M, Mörner T, Tate CM. The role of wildlife in emerging and re-emerging zoonoses. *Rev Sci Tech.* 2004; 23(2):497-511.
6. Burke DS. The Evolvability of Emerging Viruses. In: Nelson AM, Horsburgh Jr CR, editors. *Pathology of Emerging Infections 2.* Washington, DC: American Society for Microbiology; 1998. p. 1-12.
7. Maillard J-C, Gonzalez J-P. *Biodiversity and Emerging Diseases.* NYAS. 2006; 1081:1-16.
8. Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Tropica.* 2001; 78:103-16.
9. Woolhouse ME. Population biology of emerging and re-emerging pathogens. *Trends in Microbiology.* 2002; 10(10):S3-S7.
10. Wobeser G. New and emerging diseases--the wildlife interface. *Can Vet J.* 2002 Oct; 43(10):798.
11. Ashford RW. When Is a Reservoir Not a Reservoir? *Emerging Infectious Diseases.* 2003; 9(11):1495-6.
12. Haydon DT, Cleaveland S, Taylor LH, Laurenson MK. Identifying Reservoirs of Infection: A Conceptual and Practical Challenge. *Emerging Infectious Diseases.* 2002 December 2002; 8(12):1468-73.
13. Antia R, Regoes RR, Koella JC, Bergstrom CT. The role of evolution in the emergence of infectious diseases. *Nature.* 2003; 426:658-61.
14. Galvani A. Epidemiology meets evolutionary ecology. *TREE.* 2003; 18(3):132-9.
15. Fenton A, Pedersen AB. Community Epidemiology Framework for Classifying Disease Threats. *Emerging Infectious Diseases.* 2005; 11(12):1815-21.
16. Fevre EM, Bronsvoort BMdC, Hamilton KA, Cleaveland S. Animal movements and the spread of infectious diseases. *Trends Microbiol.* 2006; 14(3):125-31.
17. Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, Waldenstrom J, Osterhaus AD, Fouchier RA. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science.* 2006 Apr 21; 312(5772):384-8.
18. Feare CJ. The role of wild birds in the spread of HPAI H5N1. *Avian Dis.* 2007 2007 Mar; 51(1 Suppl):440-7.
19. Gauthier-Clerc M, Lebarbenchon C, Thomas F. Recent expansion of highly pathogenic avian influenza H5N1: a critical review. *Ibis.* 2007:doi: 10.1111/j.1474-919x.2007.00699.x.
20. Gaidet N, Dodman T, Caron A, Balança G, Desvaux S, Goutard F, et al. Influenza Surveillance in Wild Birds in Eastern Europe, the Middle East, and Africa: Preliminary Results from an Ongoing FAO-led Survey. *J Wildl Dis.* 2007; 43(3):S22-S8.
21. Suttmoller P, Thomson GR, Hargreaves SK, Foggin CM, Anderson EC. The foot-and-mouth disease risk posed by African buffalo within wildlife conservancies to the cattle industry of Zimbabwe. *Prev Vet Med.* 2000 Mar 29; 44(1-2):43-60.
22. Roger F, Etter E, Donado P, Jori F, Goutard F, Thonnat J. Risk analysis and bovine tuberculosis: a re-emerging zoonosis. Ppt presentation. 2006:41p.
23. Michel AL, Bengis RG, Keet DF, Hofmeyr M, de Klerk LM, Cross PC, et al. Wildlife tuberculosis in South African conservation areas: Implications and challenges. *Vet Microbiol.* 2006; 112:91-100.
24. Alexander KA, Pleydell E, Williams MC, Lane EP, Nyange JFC, Michel AL. *Mycobacterium tuberculosis*: An Emerging Disease of Free-Ranging Wildlife. *Emerging Infectious Diseases.* 2002; 8(6):598-601.

Détail des projets de thèse GRIPAVI

25. Bengis RG, Kriek NP, Keet DF, Raath JP, de Vos V, Huchzermeyer HF. An outbreak of bovine tuberculosis in a free-living African buffalo (*Syncerus caffer--sparrman*) population in the Kruger National Park: a preliminary report. *Onderstepoort J Vet Res.* 1996 Mar; 63(1):15-8.
26. Caron A, Cross PC, du Toit JT. Ecological implications of bovine tuberculosis in African Buffalo herds. *Ecological Applications.* 2003; 13(5):1338-45.
27. Morgan ER, Lundervoldb M, Medleyb GF, Shaikenovc BS, Torgersond PR, Milner-Gullande EJ. Assessing risks of disease transmission between wildlife and livestock: The Saiga antelope as a case study. *Biological Conservation.* 2006; 131:244-54.
28. Ostfeld RS, Glass GE, Keesing F. Spatial epidemiology: an emerging (or re-emerging) discipline. *TREE.* 2005; 20(6):328-36.
29. Etter E, Donado P, Jori F, Caron A, Goutard F, Roger F. Risk analysis and bovine tuberculosis, a re-emerging zoonosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1081:61-73.

Epidemiology of Newcastle disease in Ethiopia: Identification of risk factors and evaluation of the role of poultry markets in the seasonal pattern of NCD outbreaks

Candidate: **Hassen Chaka**, DVM, MSc

Supervisor: Peter Thompson, University of Pretoria

Institutions: National Animal Health Disease Investigations Center (Sebata, Ethiopia)

Introduction:

Like other livestock species poultry keeping is one of the common practices by rural households in Ethiopia. According to 2001 census the total chicken population in Ethiopia was estimated at 42.9 million (CSA, 2001). The majority of these animals, dominated by indigenous chickens-99%, are kept in the free range scavenging extensive system, also known as backyard village chickens, where the birds scavenge around the houses during the day time. Basically, three poultry production systems are recognized in Ethiopia namely: the backyard/village, Small-scale commercial and commercial production system (Tadelle Dessie, personal communication). In addition there are several multiplication and rearing centers, serve as genetic improvement programs, in the regional governments. Commercial and small-scale commercial poultry productions are concentrated around Debre Zeit near the major consumers in the capital Addis Ababa and other urban centers while the local indigenous flocks, kept as village chicken under rural households, are all over the country. In Ethiopia highland the average flock size of village chicken per rural family was estimated at 7-10 mature chickens and many growers where more than 66% of rural households (HH) own chicken (Tadelle and Ogle, 2001). The latest figures available indicate that village poultry contributes 98.5% and 99.2% of the national egg and poultry meat production (Tadelle *et al.*, 2002). This signifies the importance of the village chicken production in Ethiopia where chickens serve as good sources of protein and ready cash for villagers.

Among the production constraints of village poultry production, disease constitutes major parts. Newcastle disease (NCD) is regarded as the principal factors limiting the rural village poultry production (Awan *et al.*, 1994; Alders and Spradbrow, 2001). This situation is not an exception in Ethiopia.

Study Context

In Ethiopia also NCD is considered the most important poultry disease. The first documented outbreaks of NCD in Ethiopia dated back to 1971, the report from the small poultry farm in Asmara capital of the present Eritrea (NVI, 1974). From that time onward the disease spread widely and became endemic in Ethiopia. In an unvaccinated flock, during disease outbreak, up to 80% mortality may occur while sporadic loss throughout the year is common where the disease is endemic. The disease is well known by farmers in Ethiopia and locally called as 'fengel'. Although there is no detail study documented reports on mortality due to NCD in Ethiopia Nasser (1998) reported 50% mortality, in local chickens around Addis Ababa, Debre-Zeit and Nazareth. Halima and colleagues in their study of village chicken in North-west Ethiopia identified seasonal outbreak of NCD as the major causes of death (Halima *et al.*, 2007). However, the detail epidemiology of the disease at village situation, largely factors that facilitate transmission, is

poorly understood and hence there is no preventive strategy designed against the disease in Ethiopia at village poultry level.

Published information on the disease outbreaks diagnosed epidemiology and ecology of the disease is scanty and only limited to that of the annual report of veterinary department to OIE. This report recorded on average 40 outbreaks per year between, 2001-2004 (OIE, 2008a). This seems to underestimate the actual figure as the majority of the outbreaks are believed not to be reported by farmers assuming there is no solution or benefit of doing so. From outbreaks investigation of poultry in west Ethiopia, Assossa two strains of NCD virus had been isolated, which was > 97% identical to isolates in Saudi Arabia, Kenya and Sudan (NAHDIC Diagnosis report).

Literatures review showed that very limited studies have been undertaken on the sero-prevalence and significance of NCD in backyard poultry production systems in Ethiopia. The cross-sectional sero-prevalence survey conducted in village chicken, with no statistically computed sample size, in different parts of Ethiopia have shown that the prevalence rates were variable: Zeleke *et al.* (2005) in their study conducted in wet Southern and drier rift valley districts reported 14.13 % (n=92) and 22.51 % (n=191), respectively, with overall sero-positive rate of 19.78%. Same study reported absence of positive sera from one of the wet mountainous area studied and indicated the needs for further investigation. Tadesse, *et al.* (2005) analyzed 180 chicken sera from three agro-climatic areas, for NCD virus antibodies, yielding sero-prevalence of 28.57%, 29.69%, and 38.33% in the high, mid-range, and low altitudes, respectively with an overall sero-positive rate of 32.22%. Regasa *et al.* (2007) also reported sero prevalence rates of 12% in Shashamene and 9.7 % in Adami tulu districts with overall sero-prevalence prevalence rate of 11%. All the reports failed to demonstrate any significant difference between sex and agro-ecology. However, apart from reporting sero-prevalence to NCD antibody none of these studies attempted to systematically /longitudinally evaluate the risk factors that determine the occurrence of the disease in village chickens. Additionally, no studies have been designed to investigate the transmission pattern, establishment and endemicity of the disease among village chickens.

Knowledge of specific risk factors is a prerequisite for effective control or any other measure envisaged. There was limited information on factors influencing the spread of the disease. No research has been published in this regard in Ethiopia. Some of the risk factors implicated, else where, as the cause to rapid spread and persistence of infection among village chickens were: carrier chickens, village poultry dynamics (selling, buying, giving,), absence of preventive measures, unrestricted contact between village flocks and other poultry species including wild birds (Awan *et al.*,1994; Otim *et al.*,2007).

The present thesis work is designed to contribute to the above mentioned knowledge deficiency with the following hypothesis and specific objectives:

Hypotheses

- Several strains of NCD virus are circulating at the same time between villages and poultry markets and seasonal and temporal patterns of NCD outbreaks are correlated to flow of chickens and changes in the volume of chicken markets. So the surveillance (serological or/and with interview) at specific markets will enable early warning and improve the control of the disease
- Risk factors associated with NCD outbreaks in free-range system exist at farm level but as well at villages; then by controlling specific risk factors will decrease the disease occurrence.

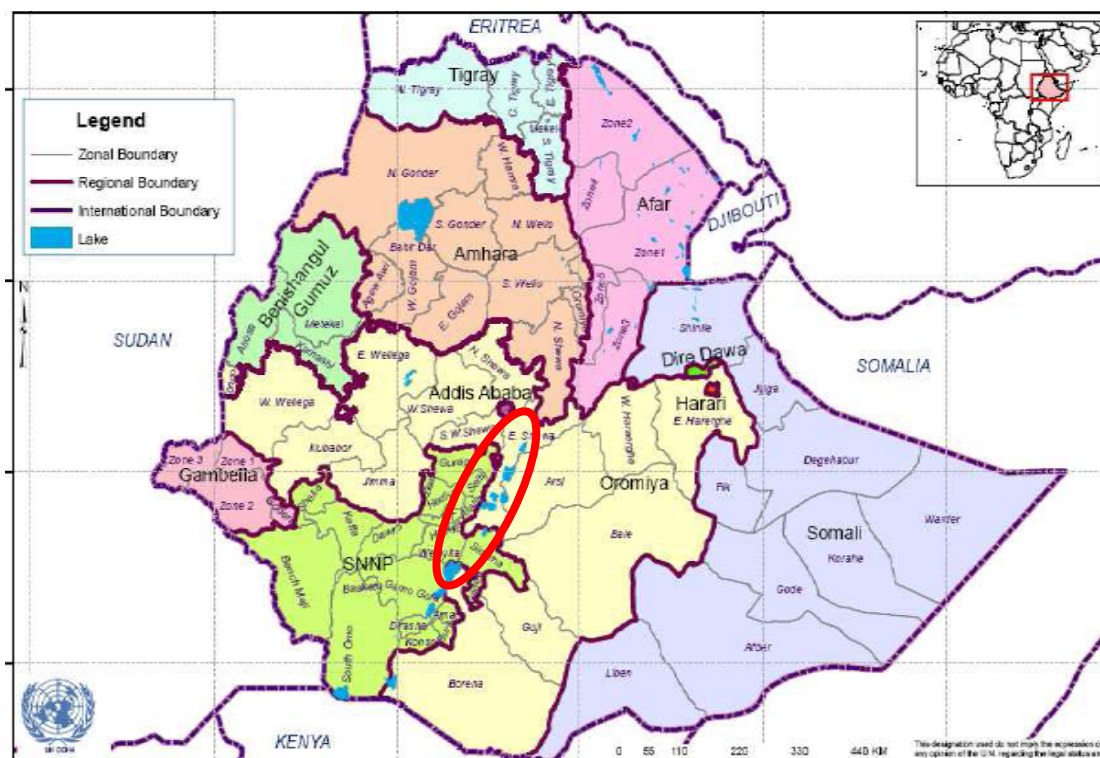
The major objectives are

- To estimate the prevalence of NCD at backyard production level and at market level (cross-sectional survey)

- To identify risk factors for NCD at the farm level (retrospective case-control);
- To identify temporal patterns and risk factors of NCD outbreaks incidence in backyard production (longitudinal follow-up or cohort study)
- To identify the role of market in the diffusion of the disease and develop a meta-population model of the between-flock (village) transmission of NCD.

Research Methods

The area of study will be in Oromya region (East Shewa zone) and in north SNNP region, where several studies have been already done (Wild birds sampling for H5N1, description of the poultry marketing flow), this area is known to be important area for poultry production (commercial and semi-commercial sector), to have an high backyard chicken density and to harbour on the rift valley lakes an high number of waterfowl species which could be potential reservoir of NCD and H5N1.



Administratively Ethiopia is organized in to 11 Regional States composed of zones. These zones include districts or *wereda*. Each *wereda* is composed of *kebelles* (between 25 and 35) or Peasant Associations (PA) that are aggregation of villages. In average each *kebelle* (PA) is composed of 30 villages including 30 households. In this area 60% of the rural holdings are owing poultry and the average number of animals by flock is 8 (see CSA). Study at three different altitude in central highland of Ethiopia showed 66% rural household own chickens (7-10 adult) (Dessie and Ogle, 2001)

In regard of previous studies done by the CIRAD on the risk of HPAI introduction in Ethiopia and on the poultry marketing system, the East Shewa zone in Oromya Region has been selected to be our study area. Accordingly study will be undertaken in two districts of East Shewa zone namely Ada'a Liban and Adami Tulu Jido Kombolcha. Ada'a Liban *wereda* and Adami Tulu Jido Kombolcha *wereda* have been identified for inclusion in the study for high poultry ownership and human population density; presence of poultry markets; and potential wild bird mixing.

To answer the different study objectives different type of survey will be implemented:

- Cross sectional survey in order to estimate prevalence at village level:
In one of the selected kebele, and households, biological samples will be collected from a random sample of poultry belonging to rural holdings. Tracheal swabs and cloacal swabs will be collected from each randomly selected bird to detect the eventual presence of NCD virus. Blood samples will also be collected from each randomly selected bird. The objective is to detect the eventual circulation of antibodies against NCD virus. Correlation between serological and virological status will also be assessed. From positive results we will draw a case definition based on mortality rate and symptoms reported. This study will be repeated twice at strategically selected months of the year.
- Cross-sectional questionnaire Survey
At each village under investigation for cross sectional survey, a standardized questionnaire survey with face-to-face interviews will be used to collect information on an outbreak patterns and NCD virus introduction, persistence and dissemination, risk factors, including tracing backward and forward. Questionnaire for poultry owners will investigate, flock management, attitude to bio-security, past outbreaks of NCD, symptoms used for diagnosis and attitude in case of suspicion. GPS position of all points of epidemiological interest (farms, water bodies/ponds, roads, markets, etc) will be recorded for each village. Other questionnaire should be designed in order to collect information about attitude toward bio-security from traders, development agent and veterinary services agent.
- Cross sectional survey in order to estimate prevalence at market level:
Biological samples will be collected at markets connected to villages enrolled in the study in one way or the other. Tracheal swabs, cloacal swabs and blood samples will be collected from a random sample of poultry present at the market. This study will be repeated twice at strategically selected months of the year.
- Retrospective case-control study in order to validate risk factors:
We will apply the case-definition previously designed to the data collected for the 6 kebelles and we will try to come up with case and control in order to identify factors at household level and at village level associated with NCD outbreaks. Based on that villages and then household will be selected and include in the study. Questionnaire on risk factors and environmental data about the village surrounding will be collected.
- Cohort study in order to estimate incidence and temporal pattern of NCD outbreaks:
At kebele level villages and then households will be identified for inclusion in the study depending on their level of exposure to risk factors previously identified. Flocks will be followed for a period of minimum 6 months (in the period of high viral circulation) and data of morbidity, mortality and risk factor exposure will be collected.
- Modeling the between village transmission of NCD:
Using the data previously collected on prevalence, incidence role of markets, models will be developed in order to examine the role of spatial processes in NCD transmission: SEIR model, spatial model, and social network model.

Timetable

Year 1: November/December: Field preparation / questionnaire preparation and testing
December: meeting in Montpellier
January / February / March: Cross sectional survey (I) (villages and markets level)
April/May: Data analysis and Training module in Pretoria
June/July: Cross sectional survey (II) (villages and markets level)
August/September: Data analysis

References

1. Alders, D. and Spradbrow, P. 2001. Controlling Newcastle Disease in Village Chickens. A Field Manual. Australian Centre International Agricultural Research-ACIAR, Version 14.03.2001
2. Alexander, D.J. 1988. Newcastle disease: Methods of spread Sited by Awan, M.A., Otte, M.J., James, A.D., The epidemiology of Newcastle disease in rural poultry: a review, *Avian Pathology* **23**, 405-423.
3. Alexander, D.J., Bell, J.G. and Alders, R.G. 2004. A technology Review, Newcastle Disease. FAO Animal production and health book No.162, FAO, Rome.
4. Awan, M. A., Otte, M.J. and James, A. D. 1994. The Epidemiology of Newcastle disease in rural poultry: a review. *Avian pathology*, 23: 405-423
5. CSA(Central Statistical Authority).2001. Ethiopian Agriculture Sample Enumeration. Statistic report on livestock and farm implements. Vol IV.
6. Gohm, D. S., Thue, B., Audige. L., and Hofmann, M.A.. 1999. A survey of Newcastle disease in Swiss laying-hen flocks using serological testing and simulation modeling *Preventive Veterinary Medicine* 38: 277-288
7. Halima, H., Naser, F. W. C., Van Marle-Koster, E., and De Kock, A. 2007. Village-based indigenous chicken production system in north-west Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production* 39:189-197
8. Kahn, M. and Line, S. 2005 *The Merck veterinary Manual*, 9th ed, Merck and Co., INC Whitehouse station, N.J., U.S.A
9. Martin, P.A.J. 1992. The epidemiology of Newcastle disease in village chickens. In: SPRADBROW, P.B. (Ed.). *Newcastle Disease in Village Chickens, Control with Thermostable Oral Vaccines*. Proceedings, International Workshop held in Kuala Lumpur, Malaysia, 6-10 October 1991, Centre for International Agricultural Research (ACIAR), Canberra, pp. 40-45.
10. Nasser, M. 1998. Oral Newcastle Disease Vaccination Trial and Studies of NCD in Ethiopia. Joint degree program, Addis Ababa University, Addis Ababa, Ethiopia, and Freie Universitat, Berlin, Germany, Master's thesis].
11. National Veterinary Institute (NVI). 1974. Annual report. Cited in Dessie T. and Jobre Y. 2004. A review of the importance and control of Newcastle disease in Ethiopia. *Journal of Ethiopian Veterinary Association*. 8(1)71-81.

12. OIE. (International office for Animal Health).2008a. *Home page of HandiSTATUS*. Newcastle disease, Africa http://www.oie.int/hs2/sit_mald_incid_an.asp?c_cont=1&c_mald=17, Accessed on 14/08/08
13. OIE. 2008b. Newcastle Disease. In Manual of Diagnostic tests and Vaccines for terrestrial Animals 2008. Chapter 2..3. 14. Organization for world Animal Health. http://www.oie.int/eng/norms/MANUAL/2008.pdf/2.03.04_NEWCASTLE_DIS.PDF 06/10/2008.
14. Otim, M.O., Kabagambe, E.K. and Mukiibi, G.M. 2007. A study of risk factors associated with Newcastle Disease Epidemic in Village free-range chickens in Uganda. *Tropical Animal Health and Production*. 39:27-35
15. Otim M. O.; Christensen, H. ; Mukiibi , ·G. M. ; Bisgaard., M. 2006. A preliminary study of the role of ducks in the transmission of Newcastle disease virus to in-contact rural free-range chickens. *Tropical Animal Health and Production* 38:285-289
16. Regasa, C., Fufa, D., Berihanu, S., Hunduma, D. 2007. Sero-prevalence of Newcastle disease in backyard chickens in mid rift valley of Oromia, Ethiopia. Work Poster. In Camus E., Cardinale E., Dalibard C., Martinez D., Renard J.F, Roger F. (eds.). Proceedings of the 12th International conference of the Association of Institutions of Tropical Veterinary medicine, Montpellier, France 20-22 August/2007
17. Sonaiya, EB. 1990. The Context and Prospects for Development of Smallholder Rural Poultry *Production in Africa*. CTA-Seminar Proceedings on Smallholder Rural Poultry Production, Thessaloniki, Greece, October 9–13, 1990:1:35–52.
18. Spradbrow, P.B. 1999. Epidemiology of Newcastle Disease and the Economics of its Control. In Poultry as a tool in poverty Eradication and promotion of Gender Equality- Proceedings of a workshop. <http://www.smallstock.info/reference/KVLDK/tune99/16-Spradbrow.htm>. 06/09/08
19. Spradbrow, P.B. (1993-94). Newcastle disease in village chickens. *Poultry Science Review* 5: 57-96.
20. Tadelle, D., Negussie, D., Alemu, Y., Peters, K.J., 2002. The feed resource base and its potentials for increased poultry production in Ethiopia. *World's Poultry Science Journal* 58, 77-87
21. Tadelle, D. and Ogle, B., 2001. Village poultry production systems in the central highlands of Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, **33**, 521–537
22. Tadesse, S., Ashenafi, A. and Aschalew, Z. 2005. Seroprevalence study of Newcastle Disease in Local Chickens in Central Ethiopia. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*. 3(1):25-29. Thessaloniki, Greece, October 9–13, 1990:1:35–52.
23. Yongolo, H.M. 1997. Epidemiology of Newcastle disease in village chickens in Tanzania, MSc. Thesis. Sokoine University of Agriculture, Morogoro, Tanzania. 234pp.

24. Zeleke, A, Sori, T., Gelaye, E., and Ayelet, G. 2005. Newcastle disease in Village Chickens in the southern and Rift valley Districts in Ethiopia. *International Journal of Poultry Science*. 4(7):507-510

Déterminants et patrons épidémiologiques d'introduction, de diffusion et de persistance du virus influenza aviaire hautement pathogène H5N1 dans la région du delta du fleuve rouge au Nord Vietnam. Conséquences en termes de surveillance

Candidate : **Stéphanie DESVAUX**, DVM; Msc

Superviseur: S. Fenwick; F. Roger

Institutions: Univ. Murdoch, Australie; CIRAD-AGIRs

Thème : Epidémiologie (et écologie) de la l'influenza aviaire

Sujet : Quels sont les déterminants et les patrons épidémiologiques d'introduction, de diffusion et de persistance du virus influenza aviaire hautement pathogène H5N1 dans la région du Delta du Fleuve Rouge au Nord Vietnam et les conséquences en termes de surveillance

Contexte : Epizootie/panzootie influenza aviaire ; connaissance épidémiologie pour approches opérationnelles : analyse de risque, surveillance et contrôle

Terrain : Vietnam

Discipline : Epidémiologie, surveillance et contrôle des maladies animales

Mots clés : Influenza aviaire, épidémiologie, surveillance, contrôle, Vietnam

Comité de thèse

École Doctorale de rattachement : Ecole des sciences vétérinaires et biomédicales

Établissement d'inscription de la thèse : Université de Murdoch (Perth, Australie)

Directeur de Thèse : Stan Fenwick, Université de Murdoch

Comité de Pilotage de la Thèse : *Murdoch, CIRAD, FAO, INRA, NIVR*

François Roger, CIRAD, France

Ian Robertson, Université de Murdoch, Australie

Trevor Ellis, Université de Murdoch, Australie

Joseph Domenech, FAO, Italie

Christian Ducrot, INRA, France

Nguyen Tien Dung, NIVR, Vietnam

Résumé introductif

L'épidémiologie et la situation sanitaire de l'influenza aviaire ont été bouleversées ces 10 dernières années par l'émergence et l'échec du contrôle des foyers d'infection du virus H5N1 (hautement pathogène) et par l'industrialisation croissante de la production avicole à travers le monde (Alexander, 2006). En conséquence, les connaissances précédemment accumulées sur l'épidémiologie et l'écologie des virus influenza aviaires, notamment en termes d'hôtes, de létalités pour les différentes espèces et notamment pour les canards, de persistance dans l'environnement, de transmissibilité à l'homme sont remises en question et nécessitent d'être actualisées pour véritablement comprendre la pandémie actuelle causée par le virus H5N1. (Webster, 2007 ; Sturm-Ramirez, 2005).

Dans ce projet, nous proposons de travailler dans un pays infecté, le Vietnam, afin de mettre en évidence les principaux déterminants de l'introduction, de la diffusion et de la persistance du virus H5N1 dans différents systèmes agro-écologiques. Le projet, qui associera notamment le CIRAD et l'Université de Murdoch en Australie, ainsi que la FAO, l'Inra et l'IRD, utilisera des approches méthodologiques conjuguant l'épidémiologie quantitative (identification et

quantification de facteurs de risques), l'écologie appliquée (avifaune péri-domestique, facteurs de risques) et la modélisation comme outil d'analyse et d'aide à la décision. La modélisation sera avant tout axée autour des outils SMA (Système Multi-Agents) en collaboration étroite avec l'IRD et l'Institut français d'informatique de Hanoi.

Ce travail représentera l'étape ultime d'une spécialisation en épidémiologie de la candidate qui permettra également de renforcer son expertise dans la connaissance de cette maladie. Spécialisation et expertise qui pourront être mises à profit au sein du corps des inspecteurs en santé publique vétérinaires dans des approches associant le scientifique et le technique.

I. Présentation du projet

A/ Présentation sommaire

1. Introduction

L'épidémiologie et la situation sanitaire de l'influenza aviaire ont été bouleversées ces 10 dernières années par l'émergence et l'échec du contrôle des foyers d'infection du virus H5N1 (hautement pathogène) et par l'industrialisation croissante de la production avicole à travers le monde (Alexander, 2006). En conséquence, les connaissances précédemment accumulées sur l'épidémiologie et l'écologie des virus influenza aviaires, notamment en termes d'hôtes, de réceptivité/sensibilité pour les différentes espèces et notamment pour les canards, de persistance dans l'environnement, de transmissibilité à l'homme sont remises en question et nécessitent d'être actualisées pour véritablement comprendre la pandémie actuelle causée par le virus H5N1. (Webster, 2007 ; Sturm-Ramirez, 2005) Différents travaux de recherche de part le monde tentent d'approfondir les connaissances sur tel ou tel aspect. Beaucoup de ces recherches sont réalisées en milieux contrôlés et doivent tenter d'extrapoler leurs résultats aux conditions réelles de terrain. Certaines ont lieu dans les pays infectés, mais elles sont nettement plus limitées en nombre.

Dans ce projet, nous avons l'opportunité de travailler en conditions réelles et malheureusement pour le pays, « en direct » puisque la maladie continue de sévir. Cela nous donne la possibilité d'envisager des études prospectives et nous permettra d'observer le phénomène de la maladie dans sa globalité. Les résultats d'autres travaux de recherche, notamment sur la survie du virus dans l'environnement ou sur les infections expérimentales avec différentes souches de virus, nous apporteront des éléments supplémentaires à intégrer à nos travaux, en particulier dans les modèles utilisés, pour une meilleure compréhension des mécanismes en jeu.

Le projet de thèse s'attachera donc à comprendre les déterminants de l'influenza aviaire hautement pathogène H5N1 dans le Nord Vietnam, plus précisément dans le delta du Fleuve Rouge. Ce pays, infecté depuis 2003, rassemble différents éléments intéressants : l'industrialisation galopante de la production avicole, les risques d'introductions régulières depuis la Chine du Sud par un commerce transfrontalier, la mise en oeuvre (sans équivalent) d'une campagne de vaccination de masse et enfin la présence simultanée de différentes souches de virus aux comportements différents.

2. Questions de recherche et objectif des travaux

Question générale :

« Quels sont les déterminants et les patrons épidémiologiques d'introduction, de diffusion et de persistance du virus influenza aviaire hautement pathogène H5N1 dans la région du delta du Fleuve Rouge au Nord Vietnam et les conséquences en termes de surveillance et de contrôle »

Questions spécifiques :

1. Comment estimer les indicateurs épidémiologiques (taux d'occurrence) de la maladie avec les données disponibles (enquêtes, surveillance) et quelle(s) définition(s) adopter pour un cas d'influenza aviaire hautement pathogène dans le cadre des études épidémiologiques à mener ?

2. Quels sont les déterminants (facteurs d'environnement, de structure ou de fonctionnement) qui peuvent expliquer la distribution spatio-temporelle des foyers de H5N1 HP observés dans le delta du Fleuve Rouge lors des vagues épidémiques observées de 2005 à 2008.
3. Quels sont les déterminants et les patrons d'introduction, de diffusion et de maintien du virus H5N1 HP dans le temps au sein des systèmes agro-écologiques à risque?
4. Quels outils de modélisation pourront contribuer à la compréhension et l'identification des déterminants majeurs et des patrons d'introduction, de diffusion et de maintien au sein d'un agro-système particulier.

Objectif général : utiliser les résultats des études et modèles épidémiologiques pour proposer un système de surveillance efficient, ciblé pour l'influenza hautement pathogène au Vietnam. Les approches méthodologiques conjugueront épidémiologie quantitative (facteurs de risques), écologie appliquée (avifaune péri-domestique, facteurs de risques) et modélisation comme outil d'analyse et d'aide à la décision. La modélisation sera avant tout axée autour des outils SMA (Système Multi-Agents) en collaboration étroite avec l'IRD et l'Institut français d'informatique de Hanoi.

B/ Terrain et cadre théorique de la recherche

1. Terrain : le Vietnam, pays infecté depuis fin 2003

a) Situation épidémiologique du pays

Le Vietnam a déclaré ses premiers foyers fin décembre 2003. Entre 2003 et 2005 le pays a connu 3 vagues de foyers, nécessitant l'abattage d'environ 50 millions de volailles et entraînant 93 cas humains dont 42 mortels.

Fin 2005, la diffusion de la maladie était telle que le Gouvernement a décidé de lancer une campagne de vaccination massive. Cette campagne se poursuit encore aujourd'hui et même si le Vietnam envisage d'opter pour une stratégie vaccinale modifiée à très court terme, notamment en termes de prise en charge financière, l'arrêt de la vaccination n'est lui pas encore à l'ordre du jour.

Les vaccins utilisés sont de 2 types :

- les vaccins entiers inactivés (H5N1, H5N2 et H5N9)
- un vaccin vivant recombiné avec la variole (Trovac©)

L'année 2006 a marqué une accalmie dans le nombre de foyers enregistrés et aucun cas humain n'a été à déplorer. Malheureusement, fin 2006, une quatrième vague de foyers a démarré, notamment sur des canards non vaccinés du Sud du pays. En mai 2007, c'est une cinquième vague qui a touché d'abord essentiellement le Nord et qui a causé de nouveaux cas humains (déjà 5 cas mortels pour l'année 2008).

Le total des cas humains pour le Vietnam s'élève désormais à 106, dont 52 cas mortels.

b) Le dispositif de recherche au Vietnam

Le CIRAD travaille au Vietnam en santé et production animales dans le cadre d'un consortium de recherche, Prise, Pole de Recherche sur les risques liés à l'intensification des systèmes d'élevage. Prise regroupe 4 structures de recherches vietnamiennes, dont le NIVR (National Institute of Veterinary Research) qui en assure actuellement la présidence et accueille également la candidate. Prise est l'interlocuteur national du projet Gripavi dont la candidate assure la coordination au Vietnam.

Le NIVR dépend du Ministère de l'Agriculture. L'unité de virologie, principal interlocuteur dans le projet de thèse, est le laboratoire national de référence pour la confirmation et le typage des souches d'Influenza aviaire. Elle possède les capacités de diagnostic nécessaires aux travaux envisagés (RRT-PCR, RT-PCR, inoculation de virus, séquençage, sérologie).

La France contribue à ce jour à deux postes en santé animale au Vietnam : celui de la candidate mise à disposition du CIRAD et celui d'une assistante technique sur marché mise à disposition de

la FAO-Hanoi. Une collaboration étroite s'est instaurée entre la FAO et le CIRAD, notamment dans la mise au point d'un modèle de surveillance de la grippe aviaire (voir publication de la candidate en annexe).

II. Méthodologie proposée

a) Etudes des foyers de 2005 à 2008

L'analyse des foyers de 2005 à 2008 a pour but de calculer des estimateurs de la fréquence de la maladie, de proposer des définitions de cas et de mettre en évidence des facteurs structurels et fonctionnels de la présence ou du maintien de l'influenza aviaire à différents niveaux d'échelle.

Questions de recherche associées

1. Comment estimer les indicateurs épidémiologiques (taux d'occurrence) de la maladie avec les données disponibles (enquêtes, surveillance) et quelle(s) définition(s) adopter pour un cas de l'influenza aviaire hautement pathogène dans le cadre des études épidémiologiques à mener ?
2. Quels sont les déterminants (facteurs d'environnement, de structure ou de fonctionnement) qui peuvent expliquer la distribution spatio-temporelle des foyers de H5N1 HP observés dans le delta du Fleuve Rouge lors des vagues épidémiques observées de 2005 à 2008.

Introduction

Certains facteurs de risques associés à l'apparition de foyers de H5N1 en Asie ont déjà été mis en évidence, tels que la densité humaine, la présence de canards en libre parcours (Gilbert *et al.*, 2006 ; Martin *et al.*, 2006), la proximité avec le système routier ou avec un système de distribution d'eau (Fang, 2007).

Jusqu'à présent, les différentes études menées au Vietnam ont été réalisées à l'échelle nationale, utilisant des données relatives à la population de volaille et l'environnement naturel disponibles sur les bases de données internationales. Elles sont donc peu détaillées et peu opérationnelles, avec des données relatives aux foyers agrégées au niveau communal (R. Soares Magalhaes 2006)(Pfeiffer 2007).

Dans cette étude, nous proposons de rechercher des corrélations, statistiquement significatives et pouvant être appliquées à la population cible, entre la survenue de foyers et des paramètres liés à **l'environnement naturel** (tel que les situations agro-écologiques, les cycles de production de riz, la présence de zones favorables aux oiseaux sauvages...) ainsi qu'à **l'environnement humain** (la densité humaine, le système d'élevage, la présence de marché de volailles vivantes, la présence de routes...) et à **l'activité humaine** (l'introduction régulière de volailles, la présence de commerçants de volailles ...)

En ce qui concerne les variables environnementales, nous tenterons de confirmer ou infirmer des résultats préliminaires d'autres études, tels que la corrélation négative entre les foyers et l'élévation (Pfeiffer, 2007).

Etape 1: Etude rétrospective avec estimation des indicateurs épidémiologiques de la maladie et formulation d'hypothèses sur les facteurs de risque associés

Cette étape a pour but de caractériser l'hétérogénéité spatiale et temporelle de la distribution des foyers de H5N1 dans la zone d'étude considérée. Il s'agit d'une phase descriptive qui devrait permettre de générer des hypothèses sur les facteurs de risques et d'aboutir à une définition du cas qui sera à la base des étapes suivantes.

Analyse statistique :

Il est prévu de calculer des taux d'incidence cumulée en fonction des catégories de volailles.

Des études similaires réalisées en Thaïlande (Otte, 2007) ont montré que les populations de volailles villageoises n'étaient pas plus à risque comparées aux poulets pondeurs et aux cailles (dépendant des régions).

La population de volaille n'étant pas statique au cours de l'année, notamment pour les canards, il sera sans doute nécessaire de calculer des taux d'incidence pour différentes périodes.

Il est également prévu de mettre en oeuvre des analyses univariées et les premières analyses multivariées, notamment via des analyses discriminantes descriptives telles que les analyses factorielles discriminantes.

Analyses spatiales :

- Calcul et représentation des taux de mortalité standardisés (*Standardised Mortality Ratio*) au niveau de la commune et/ou du district.
- Carte d'extraction représentant le nombre de foyers par unité de population et unité de surface.
- Recherche de clusters dans le temps et l'espace

Etape 2 : Identification des facteurs à risque et préventifs par une étude cas-témoins

L'étude cas-témoin a pour but d'affiner la définition des facteurs contribuant à expliquer la variabilité observée de la distribution des foyers. Elle permettra de rechercher des facteurs structurels et fonctionnels, et leurs combinaisons qui contribuent à expliquer cette variabilité.

L'étude cas témoin est une étude analytique plus puissante qu'une étude transversale pour mettre en évidence des relations entre un évènement (des foyers de H5N1) et des facteurs de risques potentiels.

Il est prévu de travailler à deux niveaux : le village et l'élevage. Des définitions de cas différentes seront donc utilisées.

- Pour les villages, une étude cas-témoin sans appariement sera mise en oeuvre avec les villages témoins sélectionnés au hasard dans notre population d'étude afin d'obtenir un rapport égal de contrôles échantillonnés exposés et non exposés aux variables d'étude.

- Pour les élevages il est prévu d'apparier les cas et les témoins sur la base de leur type et niveau de production et sur leur localisation.

Les cas seront sélectionnés parmi les villages ou les fermes infectés en 2007 et/ou 2008 afin de ne pas faire appel à des souvenirs trop lointains.

Les variables testées combineront des facteurs structurels, ou abiotiques, liés à l'environnement (paysage, altitude, système agricole...) et des facteurs fonctionnels, ou biotiques (vaccination, structure de l'élevage...).

A partir de ces variables collectées, des facteurs de risque seront identifiés et quantifiés avec l'utilisation de modèles d'analyses discriminantes linéaires (régression logistique normale ou conditionnelle). L'auto corrélation spatiale devra être prise en compte pour les variables environnementales.

Si des relations fortes sont mises en évidence entre certaines variables environnementales (donc certains systèmes agro-écologiques) et les foyers de grippe, l'utilisation d'images satellites pourra être envisagée dans un second temps pour extraire certains paramètres en particulier abiotiques.

b) Suivi longitudinal

Le suivi longitudinal sera fait d'une suite d'études transversales sur une population donnée. L'étude de cette « cohorte » a pour but de mettre en évidence les déterminants et les patrons d'introduction et de transmission intra et inter compartiments et les facteurs associés.

Question de recherche associée

3. Quels sont les déterminants et les patrons d'introduction, de diffusion et de maintien du virus H5N1 HP dans le temps dans les systèmes agro-écologiques à risque?

Introduction

La population de suivi sera sélectionnée parmi les villages ayant déjà été exposés au risque de H5N1. Il n'est pas décidé à ce stade si la cohorte sera composée d'une population exposée et d'une population non exposée (comme cela est le cas dans une véritable étude de cohorte, mais finalement rarement mis en oeuvre dans le domaine vétérinaire pour des raisons de logistiques

et de coût). Il s'agirait davantage de suivre la circulation virale entre et à l'intérieur des différents compartiments de la population :

- poulets
- canards
- oiseaux sauvages péri-domestiques
- environnement (utilisation de résultats d'autres projets de recherche), en considérant les facteurs de risque potentiels.

Objectifs

Mettre en évidence d'éventuels patrons saisonniers de l'incidence du virus H5N1 dans la population de volaille domestique dans différents agro-systèmes et tenter de lier ces patrons saisonniers à d'autres cycles et interventions humaines : production de riz (qui conditionne une partie de la production de canards), production de poulets, migration, vaccinations etc.

Tester l'hypothèse d'une persistance du virus dans la population de volaille tout au long d'une année contre celle d'une réintroduction régulière notamment via l'analyse biomoléculaire des souches collectées.

Etudier les facteurs locaux de diffusion intra et inter-compartiments.

Emettre des hypothèses sur l'écologie virale en comparant les souches détectées sur les différents compartiments.

L'atteinte de ces objectifs sera évidemment liée :

- au nombre de souches détectées,
- à la possibilité de travailler avec des marqueurs sérologiques permettant d'identifier les souches circulant ou ayant circulé.

Méthodologie

Des études transversales répétées à une fréquence d'une fois tous les mois ou tous les deux mois seront réalisées pendant une année entière. Des prélèvements destinés à des analyses virologiques (et/ou sérologiques) seront réalisés sur les populations d'oiseaux domestiques et sauvages. Des analyses phylogénétiques seront réalisées pour déterminer l'origine possible des souches et tester l'hypothèse de l'introduction depuis la Chine contre celle d'une circulation locale (les deux phénomènes pouvant coexister, Nguyen, 2008).

Il est également envisagé de mener des études cas témoins sur cette « cohorte » (« nested case-control ») pour confirmer/affiner les déterminants de l'introduction et de la diffusion.

c) Utilisation de la modélisation dynamique pour étudier les mécanismes de transmission et de persistance du virus

L'utilisation de la modélisation a pour but d'intégrer les données recueillies et de tester des hypothèses ou des scénarios.

Question de recherche associée

4. Quels outils de modélisation pourront contribuer à la compréhension et l'identification des déterminants majeurs et des patrons d'introduction, de diffusion et de maintien au sein d'un agro-système particulier.

Introduction

Les modèles en épidémiologie sont utilisés pour aider à comprendre, à prédire et à gérer.

Les modèles individu centrés, IBM, fournissent une façon intéressante d'explorer, d'analyser et de comprendre un processus par l'interaction de ses différentes composantes. Les systèmes multi-agents sont une sous catégorie des IBM, ils représentent une alternative aux modèles mathématiques dans un environnement complexe où l'hypothèse d'homogénéité de la population ne peut pas être respectée (Janssen, 2003).

Un modèle multi-agents est en cours de développement en collaboration avec un étudiant de l'IRD en thèse universitaire en informatique. Ce modèle a pour but de créer un « laboratoire virtuel » intégrant les populations de volailles et leur environnement naturel et humain et permettant de tester :

- différentes hypothèses relatives aux conditions de persistance du virus dans les compartiments de systèmes agro-écologiques ;
- différents scénarios relatifs aux mesures de prévention et de contrôle (vaccination, abattage...).

Méthodologie

Ce travail est réalisé en binôme sur un mode itératif: un informaticien apportant la compétence en modélisation et la candidate apportant la connaissance de l'environnement à simuler et les hypothèses et scénarios à tester.

Première étape : construction et validation des paramètres du modèle Le travail, qui a déjà démarré, se déroule sous la forme de séances de travail conjointes où l'informaticien expose ses besoins en terme de connaissances de l'environnement et des acteurs et où le thématicien tente d'y répondre et valide ou non les différentes hypothèses du modèle. Des étapes de tests avec les acteurs de terrain sont également prévues.

Deuxième étape : utilisation du modèle

Un plan d'expérience devra être mis au point pour tester différentes hypothèses et scénarios. L'utilisation de modèles mathématiques à compartiments sera envisagée soit au sein du SMA, pour la modélisation de la dynamique d'infection au sein d'une sous population homogène par exemple ou bien à une échelle plus grande afin de contribuer à générer des estimateurs de certains paramètres et des hypothèses. En fonction également des besoins et des résultats préliminaires obtenus, l'utilisation de la théorie des graphes (*social network analysis, small world*) sera envisagée pour décrire et simuler les flux d'animaux entre des unités épidémiologiques.

d) Intégration des connaissances pour proposer un(des) systèmes de surveillance

L'identification des facteurs de risques sur la population d'étude permettra d'extrapoler à la population cible (les volailles domestiques du delta du Fleuve Rouge) et d'identifier les zones et périodes à risque où pourra être ciblée la surveillance. De même, la compréhension des mécanismes d'introduction et de diffusion devrait permettre de proposer des protocoles de surveillance ciblée sur certaines zones géographiques et/ou adaptés à certains points de la filière.

Cette étape s'appuiera sur des travaux préalables de la candidate pour la FAO, relatifs à la mise au point d'un système de surveillance de l'influenza aviaire hautement pathogène sur 4 provinces pilotes au Vietnam ainsi que sur des études prévues dans le cadre du projet Gripavi visant à étudier la circulation virale du virus influenza tout au long des filières. Il est donc prévu d'améliorer le système de surveillance préalablement développé, notamment en affinant les critères de sélection des zones les plus à risques et en les intégrant à l'échelle du Nord Vietnam grâce aux résultats des études épidémiologiques.

En s'appuyant sur des travaux en cours, il sera enfin possible, en collaboration avec d'autres chercheurs du CIRAD et d'Australie, d'alimenter un modèle d'évaluation de l'efficacité de ce système de surveillance - sensibilité et précocité de la détection - en utilisant des méthodes de modélisation probabiliste. Ainsi, une méthode d'évaluation quantitative des systèmes de surveillance a été développée récemment par (Martin *et al.*) AusVet, dont le co-directeur fait partie des personnes ressources pour cette thèse. Cette méthode est fondée sur le principe de l'analyse quantitative du risque avec la construction d'un arbre de scénario décrivant les étapes des différentes composantes du système global de surveillance épidémiologique et attribuant une probabilité conditionnelle (approche déterministe) ou une distribution de probabilité (approche stochastique) à chaque étape de l'arbre. Des travaux en cours et à venir tentent d'adapter cette méthode, initialement mise au point pour déclarer un pays indemne de maladie, aux besoins de détection au dessus d'un certain seuil de prévalence ou d'incidence. Le modèle d'évaluation développé, ses résultats préliminaires, ses limites et contraintes constitueront un volet important de notre discussion sur le système de surveillance proposé.

III. Encadrement de la thèse

A/ Direction de la thèse et comité de thèse

La candidate s'inscrira auprès de **l'université de Murdoch en Australie, au sein de laquelle** des contacts ont déjà été pris. Une rencontre des chercheurs impliqués a été organisée en octobre 2007.

L'intérêt d'associer l'université de Murdoch est scientifique (équipe reconnue en épidémiologie) et technique (implication forte dans la sous région donc connaissance du contexte d'étude et facilité pour la supervision).

Il est à noter que le CIRAD et l'Université de Murdoch sont sur le point de signer un accord de collaboration pour faciliter les projets de recherche conjoints.

Le travail de thèse serait **co-supervisé** par **l'Université de Murdoch** (épidémiologie, modélisation) et le **CIRAD** (Unité AGIRs). Le comité de pilotage de la thèse associerait également **l'IRD** (modélisation), **l'INRA** (biostatistiques et épidémiologie) et la **FAO** (application).

En plus des membres du comité de thèse la candidate pourra s'appuyer sur différentes personnes ressources.

Comité de pilotage de la thèse :

Stan Fenwick, directeur de thèse, professeur à l'école des sciences vétérinaires et biomédicales de l'Université de Murdoch disposant d'une thèse universitaire de l'université de Massey en Nouvelle- Zélande. Stan Fenwick est à la base un microbiologiste qui a développé des compétences en épidémiologie et qui enseigne actuellement la santé publique vétérinaire.

Il est encadrant principal de plusieurs thèses sur la grippe aviaire hautement pathogène dans le Sud Est asiatique. Il sera notamment en charge de faciliter toutes les procédures administratives avec l'Université et apportera son expertise en termes de méthodologie et de rédaction scientifiques.

François Roger, vétérinaire-épidémiologiste, responsable du groupe épidémiologie au sein de l'unité CIRAD-AGIRs, a une longue expérience outremer dans les domaines des maladies infectieuses animales et de l'épidémiologie. Il est coordonnateur et/ou impliqué dans plusieurs projets de recherche sur les maladies émergentes et transfrontalières en Asie et Afrique. Il sera prochainement affecté en Asie du sud-est afin de coordonner les activités relatives aux maladies transfrontalières et émergentes dans cette région.

Trevor Ellis, virologue travaillant sur la l'influenza aviaire hautement pathogène depuis plusieurs années et notamment lors de son affectation à Hong Kong jusqu'en 2007. Trevor Ellis apportera sa connaissance du virus et de son écologie.

Ian Robertson, épidémiologiste et responsable du département des sciences et détenteur d'une thèse universitaire de l'université de Massey en Nouvelle- Zélande, il apportera ses connaissances en épidémiologie quantitative.

Joseph Domenech, chef du service santé animale à la FAO, intervient au niveau mondial sur les activités de surveillance et de contrôle de l'influenza aviaire en mobilisant scientifiques, experts et représentants de structures gouvernementales. Il renforcera le lien entre les travaux de recherche et les besoins des services vétérinaires nationaux.

Nguyen Tien Dung, chef du département de virologie au NIVR ayant obtenu une thèse universitaire en France, et travaillant sur les maladies virales des volailles et des porcs au Vietnam. Il travaille sur le virus de l'influenza aviaire depuis plusieurs années et collabore avec les meilleures équipes internationales en la matière.

Christian Ducrot, responsable de l'unité épidémiologie à l'INRA (Epi-A), interviendra sur les aspects relatifs à l'épidémiologie quantitative et également dans le domaine des analyses biostatistiques, notamment spatiales.

Autres personnes ressource :

Angus Cameron, est un expert épidémiologiste cofondateur de l'agence AusVet qui est chargé par le gouvernement Australien de mettre au point certains programmes de surveillance et de lutte contre les maladies animales réglementées. Angus Cameron est également un expert travaillant pour les organisations internationales, en particulier l'OIE. Son appui dans le projet de thèse est notamment recherché en matière d'évaluation des systèmes de surveillance.

John Edwards, doyen de l'école des sciences vétérinaires et biomédicales de l'Université de Murdoch. John Edwards a été pendant plusieurs années le coordinateur du programme de l'OIE de lutte contre la fièvre aphteuse en Asie du Sud Est. Il est particulièrement compétent en matière de programme de lutte contre les maladies animales.

Simon Reid est chercheur à l'université de Murdoch et plus particulièrement spécialisé dans la modélisation mathématique des maladies animales.

Alexis Drogoul, chercheur en informatique à l'IRD, basé à l'Institut Français de l'Informatique à Hanoi, est le directeur de thèse d'un jeune chercheur qui collabore avec la candidate sur la mise au point d'un système multi agent destiné à servir de « laboratoire virtuel » pour tester certaines hypothèses quant aux mécanismes de persistance du virus H5N1.

Annelise Tran, chercheur en géomatique au CIRAD, spécialisée dans le traitement des images satellites et les systèmes d'information géographique.

B/ Laboratoire d'accueil

Le CIRAD sera le laboratoire d'accueil.

L'affectation programmée au cours de l'année universitaire 2008-2009 de François Roger dans la sous-région (Université de Kasetsart à Bangkok, Thaïlande, avec un mandat régional en Asie du Sud-est) permettra de renforcer la supervision de proximité.

Une collaboration étroite avec la FAO-Vietnam et la représentation FAO-Asie est également envisagée afin de répondre aux besoins et attentes des services vétérinaires nationaux en matière de surveillance de l'influenza aviaire.

C/ Calendrier indicatif de la thèse et valorisation scientifique

Idéalement, l'inscription en thèse pourrait se faire à partir de septembre 2008. Les travaux de recherche du projet Gripavi ayant déjà démarré, le temps de terrain en sera d'autant réduit ce qui laissera plus de temps à la valorisation scientifique, la rédaction et la communication des résultats en dehors du cercle de la recherche.

Calendrier prévisionnel

- **Année 1** Analyse des données rétrospectives des foyers de H5N1 dans le Nord Vietnam

Valorisation scientifique des résultats de l'étude rétrospective

Démarrage du suivi longitudinal

- **Année 2** Poursuite du suivi longitudinal

Analyse de données

- **Année 3** Valorisation scientifique et rédaction

Bibliographie

Alexander D.J., 2006. An overview of the epidemiology of avian influenza. Vaccine, doi:10.1016/j.vaccine.2006.10.051.

Fang.L, Vlas.S.J, Richardus.J.H, Liang.S, Gong.P, Cao.W., 2007. Spatiotemporal distributions and environmental factors of highly pathogenic avian influenza H5N1 in mainland China. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2005 Nov;26(11):839-42. *abstract only*

Gilbert, M., P. Chaitaweesub, et al. (2006). "Free-grazing ducks and highly pathogenic avian influenza, Thailand." *Emerg Infect Dis* 12(2): 227-34.

Janssen M.A, Elgar E, 2003. Complexity and Ecosystem Management:the theory and practice of Multi-Agent Systems. Cheltenham UK and Northampton MA, USA in association with the International Society for Ecological Economics. ISBN:1843760614, 360p.

Martin V., Sims L., Lubroth J., Pfeiffer D., Sligenbergh J., Domenech J. Epidemiology and Ecology of Highly Pathogenic Avian Influenza with Particular Emphasis on South East Asia. OIE/FAO International Scientific Conference on Avian Influenza. Dev Bio (Basel), Basel, Karger, 2006, vol124, pp23-36.

Martin PAJ., Cameron AR., Barfod K., Sergeant ESG, Greiner M. Demonstrating freedom for disease using multiple complex data sources. 1: a new methodology based on scenario trees. Prev Vet Med, 2007, 79, 71-97.

T. D. Nguyen, T. V. Nguyen, D. Vijaykrishna, R.G.Webster, Y. Guan, J.S.M. Peiris, G. Smith, 2008. Multiple sublineage of influenza A virus (H5N1), Vietnam, 2005-2007. EID, vol14-4.

J. Otte, D. Pfeiffer, T. Tiensin, L. Price & E Silbergeld (2007). HPAI Risk, Bio-Security & Smallholder Adversity. Workshop "The Future of Poultry Farmers in Viet Nam after HPAI". Hanoi, Vietnam 8 -9 March 2007

Pfeiffer.D.U, Minh.P.Q, et al. (2007). "An analysis of the spatial and temporal patterns of highly pathogenic avian influenza occurrence in Vietnam using national surveillance data." The Veterinary Journal: 1-8.

R.Soares Magalhaes, D. P., B.Wieland, D.Dung, J.Otte (2006). Commune-level simulation model of HPAI H5N1 poultry infection and control in Viet Nam, Pro-Poor Livestock Initiative. A living from Livestock.

Sturm-Ramirez K.M., Hulse-Post D.J., Govorkova E.A., Humberd J., Seiler P., Puthavathana P., Buranathai C., Nguyen T.D., Chaisingh A., Long H.T., Naipospos T.S.P., Chen H., Ellis T.M., Guan Y., J.S.M. Peiris., Webster R.G., 2005. Are the ducks contributing to the endemicity of highly pathogenic H5N1 influenza virus in Asia?. Journal of virology, p 11269-11279.

Webster R.G., Hulse-Post D.J., Sturm-Ramirez K.M., Guan Y., Peiris M., Smith G., Chen H., 2007. Changing epidemiology and ecology of Highly Pathogenic Avian H5N1 Influenza viruses. Avian diseases 50:269-272.

Publications choisies du comité de thèse

James CM, Foong YY, Mansfield JP, **Fenwick SG, Ellis TM**. Use of tetanus toxoid as a differentiating infected from vaccinated animals (DIVA) strategy for sero-surveillance of avian influenza virus vaccination in poultry. Vaccine. 2007 Aug 1;25(31):5892-901. Epub 2007 Jun 4.

Lánada EB, Morris RS, Jackson R, **Fenwick SG**. A cohort study of Yersinia infection in goats. Aust Vet J. 2005 Sep;83(9):567-71.

Sims LD, Guan Y, **Ellis TM**, Liu KK, Dyrting K, Wong H, Kung NY, Shortridge KF, Peiris M. An update on avian influenza in Hong Kong 2002Avian Dis. 2003;47(3 Suppl):1083-6. Avian Pathol. 2004 Oct;33(5):492-505.

Ellis TM, Bousfield RB, Bissett LA, Dyrting KC, Luk GS, Tsim ST, Sturm-Ramirez K, Webster RG, Guan Y, Malik Peiris JS. Investigation of outbreaks of highly pathogenic H5N1 avian influenza in waterfowl and wild birds in Hong Kong in late 2002.

Ellis TM, Sims LD, Wong HK, Wong CW, Dyrting KC, Chow KW, Leung C, Peiris JS. Use of avian influenza vaccination in Hong Kong. Dev Biol (Basel). 2006;124:133-43. J Virol. 2004 May;78(9):4892-901.

Sturm-Ramirez KM, **Ellis T**, Bousfield B, Bissett L, Dyrting K, Rehg JE, Poon L, Guan Y, Peiris M, Webster RG. Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks.

Goutard F, **Roger F**, Guitian FJ, Balança G, Argaw K, Demissie A, Soti V, Martin V, Pfeiffer D. Conceptual framework for avian influenza risk assessment in Africa: the case of Ethiopia.Avian Dis. 2007 Mar;51(1 Suppl):504-6.

Gerbier G, Biteau-Coroller F, Grillet C, Parodi J, Zientara S, Baldet T, Guis H, **Roger F**. Description of the outbreak of bluetongue in Corsica in 2003, and lessons for surveillance. Vet Rec. 2008 Feb 9;162(6):173-6.

Domenech J, Lubroth J, Eddi C, Martin V, **Roger F**. Regional and international approaches on prevention and control of animal transboundary and emerging diseases. Ann N Y Acad Sci. 2006 Oct;1081:90-107. Review.

T. D. Nguyen, T. V. Nguyen, D. Vijaykrishna, R.G.Webster, Y. Guan, J.S.M. Peiris, G. Smith, 2008. Multiple sublineage of influenza A virus (H5N1), Vietnam, 2005-2007. EID, vol14-4.

Ducrot C., Arnold M., de Koerjer A., Heim D., Calavas D. Review on the epidemiology and dynamics of BSE epidemics. Vet Res. 2008 Jul-Aug;39(4):15. Epub 2008 Jan 11.

Calavas D, Supervie V, Morignat E, Costagliola D, **Ducrot C.** Complementary approach of data analysis and modeling to estimate the pattern of the BSE epidemic: the example of France. Risk Anal. 2007 Oct;27(5):1141-50.

Publications et communications de la candidate

Desvaux S, Sorn S, Holl D, Chavernac D, Goutard F, Thonnat J, Porphyre V, Ménard C, Cardinale E, Roger F, 2005. HPAI Surveillance Programme in Cambodia: Results and Perspectives. OIE/FAO International Conference on Avian Influenza. In: Developments in Biologicals. Vol. 124, pp 211-224.

Gaidet N, Dodman T, Caron A, Balança G, **Desvaux S**, Goutard F, Cattoli G, Lamarque F, Hagemeyer W, Monicat F. Avian influenza viruses in water birds, Africa. Emerg Infect Dis. 2007 Apr;13(4):626-9.

S.Desvaux, H.D. Do, Q. M. Phan, N. T. Nguyen, T.L. Pham, M. Carles, A. Brioude, D.Hadrill, F. Roger, J.Gilbert. Field surveillance model for HPAI in Vietnam in a vaccination context. Proceedings of the AITVM conference. August 2007. Montpellier, France.

Phan Dang T., **Desvaux S.**, Vu Dinh T., Renard J.-F., Roger F., Peyre M. Impact of mass vaccination campaign against H5N1 in Vietnam. Proceedings of the 12th AITVM international conference, Montpellier, France, August 20-22 2007.

Peyre M., Fusheng G., **Desvaux S.**, Roger F. Avian influenza vaccine development, practical application in developing countries. Proceedings of the 12th AITVM international conference, Montpellier, France, August 20-22 2007.

Peyre M., **Desvaux S.**, Vu Dinh T., Phan Dang T., Renard J.-F., Roger F. Conceptual framework for a cost-benefit analysis of avian influenza vaccination in small-scale production systems: the case of Vietnam. Proceedings of the OIE/FAO/ IZSve international conference on Vaccination, a tool to control avian influenza, Verona, Italy, March 20-22 2007.

Goutard, F. Biteau-Coroller, **S. Desvaux**, F. Roger Rôle du vétérinaire privé en épidémiologie. Des exemples de réseaux d'épidémiologie en France, Asie et Afrique. AESA conference. Belgique 2007

S. Desvaux, E.Amouroux, A.Drogoul, A. Boucher, F. Roger. Use of Individual-Based Modelling for a better understanding of HPAI epidemiology in North Vietnam: approach proposed and description of GAMA platform. Bangkok International Conference on Avian Influenza 2008 : Integration from Knowledge to Control January 23-25, 2008 Bangkok, Thailand

S.Desvaux, A. Brioude, H.D. Do, D.Hadrill, T.T.P. Tran, T.L. Pham, F. Roger, J.Gilbert. Field surveillance model for HPAI in a vaccination context: the case of Vietnam. Bangkok International Conference on Avian Influenza 2008 : Integration from Knowledge to Control January 23-25, 2008 Bangkok, Thailand.

Soumis à Emerging Infectious Disease : **Desvaux S**, Hunt M, Marx N, Peiris Malik, Van der Werf S, Reynes JM. Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 outbreak in the captive wild bird and cat population in Cambodia. In Prep.

Soumis à Epidemiology and Infection : Peyre.M. Fusheng G., **Desvaux S.** Roger F. Avian influenza vaccines: a practical review on their application in the field with a focus on the Asian experience.

Etude du rôle des composantes structurelles et fonctionnelles des communautés d'oiseaux réservoirs de pathogène dans les processus épidémiologiques dans le Delta du Niger (Mali)

Candidat : **BOUBA FOFANA**

Superviseur : T. Dodman (Wetlands Int.)

Institution : Université de Bamako

PROBLEMATIQUE

Contexte

Ce travail s'inscrit dans un projet de recherche intitulé Ecologie et épidémiologie de la grippe aviaire dans les pays du Sud (GRIPAVI) et financé par le Ministère français des affaires étrangères sur le Fonds de Solidarité Prioritaire. Ce projet a pour but d'étudier l'écologie et l'épidémiologie des virus Influenza aviaires et de la maladie de Newcastle dans des écosystèmes tropicaux. A cette fin, deux thèses, dont celle-ci, vont contribuer à une meilleure compréhension de la circulation de ces virus au sein d'une communauté d'oiseaux sauvages, réservoir de pathogènes, en zone tropicale. Une attention particulière sera donc portée à l'étude des Anatidés, principal réservoir des virus Influenza aviaires et une étroite collaboration et coordination sera demandée aux deux doctorants afin d'être le plus complémentaires possibles.

Revue de la littérature

Le Delta Intérieur du Niger (DIN) au Mali est l'une des plus importantes zones inondables de l'Afrique de l'Ouest et est une zone de première importance en terme de densité et de diversité d'oiseaux sauvage. Ainsi plus de deux millions d'oiseaux appartenant à 111 espèces différentes peuvent cohabiter dans le DIN. Cette région constitue notamment une des principales zones d'hivernage des oiseaux migrateurs du Paléarctique incluant une importante population de canards migrateurs, jusqu'à 900 000 Sarcelles d'été pouvant y être comptées.

Il existe ainsi une vaste communauté d'espèces d'oiseaux sauvages formant une métapopulation aviaire. Ces différentes espèces d'oiseaux, suivant les périodes et les ressources en nourriture, partagent les mêmes habitats également occupés par des populations humaines.

Il apparaît donc que le DIN est une zone de grande valeur écologique (site RAMSAR) et économique où cohabitent une vaste communauté d'oiseaux sauvages, réservoir de pathogènes, et une importante population rurale.

Questions de recherche

La principale question de recherche est l'étude des facteurs écologiques influençant le rôle potentiel des différentes espèces d'oiseaux sauvages dans le processus de persistance et de transmission du virus de l'influenza aviaire.

Pour mener à bien cette étude, il faudra répondre à différentes questions de recherche :

Quelle est la structure (effectifs, âge, mixité) des différentes populations de la communauté d'oiseaux sauvages.

Quelles sont les relations fonctionnelles de ces populations entre elles (interactions) et par rapport à leur environnement (comportement alimentaire, reproduction, migration).

Quelle est la distribution spatiale et temporelle de ces différentes populations.

Quels sont les facteurs environnementaux expliquant cette distribution (habitat, niveau et qualité de l'eau, occupation humaine).

OBJECTIFS

L'objectif principal de ce travail de thèse effectué en 3 ans est de décrire et de caractériser les différentes populations d'oiseaux sauvages classifiés en groupes fonctionnels formant la communauté du Delta Intérieur du Niger (DIN) ainsi que leurs interactions.

A partir d'une étude bibliographique et de travail de terrain (observations, comptages, captures,...), le travail développé par le doctorant devra permettre d'améliorer la compréhension du fonctionnement de ce système complexe.

Ainsi cette étude devra apporter des réponses spécifiques aux différentes questions de recherche posées dans le cadre de ce doctorat.

RESULTATS ATTENDUS

Le principal résultat attendu est une meilleure compréhension de la structure, de la distribution et du comportement des différentes populations d'oiseaux sauvages du DIN.

Les réponses aux différentes questions de recherche spécifiques, mises en rapport avec l'épidémiologie des virus de la grippe aviaire, permettront une meilleure évaluation du risque d'apparition et de circulation de ces virus dans le DIN. Ainsi des mesures adaptées de prévention et de contrôle pourront être proposées.

HYPOTHESES

Les différentes populations d'oiseaux sauvages du DIN portent un ensemble de pathogènes.

Du fait de différents facteurs environnementaux, et en particulier le niveau d'eau, ces populations partagent, à certaines périodes de l'année, les mêmes habitats, permettant ainsi une circulation des pathogènes entre elles.

Lors des périodes de décrue et d'étiage, on constate une concentration dans un même milieu de populations humaines avec leurs animaux domestiques et de différentes populations d'oiseaux sauvages. Il existe alors un risque potentiel de transmission de pathogènes entre les oiseaux sauvages, les animaux domestiques et l'homme.

METHODOLOGIE

Sites ou lieux d'études

Afin d'être représentatif de l'ensemble de la région du DIN, 4 grands sites d'études sont proposés :

L'entrée du DIN dans la région de Massina / Niono, la première touchée par la crue qui est une zone de forte riziculture.

La plaine de Séri, vaste zone inondable recouverte principalement de bourgou (*Echinochloa stagnina*), qui accueille de nombreux anatidés migrateurs et résidents.

Le complexe Walado-Débo, où se concentrent les populations d'oiseaux sauvages et humaines lors de la décrue.

Les lac Horo et Fati au nord du delta, dernière zone touchée par la crue, où sont observées certaines populations spécifiques telles que les Fuligule nyroca (*Athya nyroca*).

Collecte des données

Dans chacun des sites retenus, lors de chaque cycle hydrologique marquant la dynamique du DIN (étiage, décrue, crue) seront collectées différents types de données :

Comptages ornithologiques :

Dans chaque site des opérations de comptages seront effectuées sur les différentes populations d'oiseaux présentes lors de chaque cycle hydrologique. Ces différentes populations peuvent être regroupées de manière fonctionnelle par rapport aux virus influenza aviaires. Ainsi les oiseaux d'eau et en particuliers les Ansériformes, et dans une moindre mesure les Charadriiformes, constituent le réservoir naturel des virus influenza aviaires.

- *Les oiseaux d'eau migrants paléarctiques :*

Présents de Octobre/Novembre à Mars/Avril, ils permettent la connexion avec des zones extérieures au DIN en Afrique ou en Eurasie. Etant ainsi de potentiels vecteurs de pathogènes.

Principaux exemples :

Anseriformes :

Sarcelle d'été (*Anas querquedula*), capture filet ou marché.

Fuligule nyroca (*Athya Nyroca*)

Charadriiformes :

Chevalier combattant (*Philomachus pugnax*), capture filet ou marché.

Barge à queue noire (*Limosa limosa*), capture filet ou marché.

Sterne caspienne / Hansel (*Sterna caspia /*), reposoir.

- *Les oiseaux d'eau résidents afro-tropicaux :*

Présents tout au long de l'année, ils pourraient permettre une circulation continue de pathogènes dans la région du DIN.

Principaux exemples :

Ansériformes :

Dendrocygne veuf (*Dendrocygna viduata*), capture filet, reposoir (fientes) ou marché.

Oie de Gambie (*Plectropterus gambiensis*)

Charadriiformes :

Sterne caspienne / Hansel (*Sterna caspia /*), reposoir.

Pluvier pâtre (*Charadrius pecuarius*)

- *Les espèces relais :*

Ces espèces partagent les mêmes habitats que les oiseaux d'eau sauvage et les populations humaines, elles peuvent alors être liées à un risque de transmission de pathogènes.

Principaux exemples :

Passeriformes :

Bergeronnette printanière (*Motacilla*), capture filet.

Hirondelle de rivage (*Riparia riparia*), capture filet.

Relevés environnementaux :

Dans chaque site, différentes mesures environnementales seront effectuées :
Caractérisation de l'habitat
Relevé du niveau et de la qualité d'eau
Importance des activités humaines

Prélèvements virologiques :

Des prélèvements cloacaux et trachéaux seront effectués sur différentes espèces d'oiseaux sauvages lors des 3 périodes de l'année afin de détecter la présence de virus influenza aviaire et de la maladie de Newcastle.

Traitement et analyse des données

Une base de données sera construite pour regrouper l'ensemble des informations ornithologiques, environnementales et épidémiologiques collectées.

Une première phase d'analyse descriptive de ces données permettra de comprendre les principaux facteurs expliquant la distribution des différentes populations d'oiseaux sauvages et la circulation de pathogènes.

Ensuite, une analyse statistique multivariée des données collectées permettra de préciser l'importance de ces différents facteurs environnementaux.

L'analyse des données permettra ainsi de faire ressortir les facteurs environnementaux importants à prendre en compte dans l'évaluation du risque lié aux virus influenza aviaire et de la maladie de Newcastle. Des conseils relatifs à la prévention et au contrôle de ces maladies pourront ainsi être formulés.

CONSIDERATIONS ETHIQUES

Dans un souci de respect éthique, l'autorisation préalable des populations locales sera demandée avant toute enquête.

D'autre part, par rapport à la manipulation d'oiseaux sauvages, chaque activité sera présentée à la Direction Nationale de la Conservation de la Nature afin d'obtenir une autorisation.

Enfin, concernant les prélèvements virologiques, les normes internationales de biosécurité seront respectées et une autorisation sera systématiquement demandée à la Direction Nationale des Services Vétérinaires.

MODE DE FINANCEMENT

L'allocation de recherche versée au doctorant ainsi que son budget de fonctionnement seront intégralement pris en charge par le projet GRIPAVI du ministère français des affaires étrangères.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Skinner, J et **Fofana, B** (1986) Projet de conservation dans le DIN : Rapports d'étapes.

Bakary koné, **Bouba Fofana** (oct-nov 2002): L'exploitation de la Grue couronnée dans le Delta intérieur du Niger.

A.J. Beintema, **B. Fofana**, A. Faye et H.P.J. Huiskes (2005) : les forêts inondations dans le Delta intérieur du Niger

Ecologie et gestion durable des ressources naturelles du Delta intérieur du fleuve Niger (02 -01).

Jan van der kamp, Mori Diallo, **Bouba Fofana**, page 87- 139 Dynamique des populations d'oiseaux d'eau

Jan van der kamp, Mori Diallo, **Bouba Fofana**, Eddy Wymenga , page 189-199 Colonies nicheuses d'oiseaux d'eau :

Circulation de l'influenza aviaire et de la maladie de Newcastle chez la volaille au Mali : enquêtes épidémiologiques et modélisation en vue d'améliorer la surveillance et le contrôle

Candidate : **Sophie Molia**, DVM, DESV, MPVM

Superviseur : D. Pfeiffer; A. Ghani

Institution: Royal Veterinary College, University of London

Introduction

L'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) du au virus H5N1 a été responsable de nombreuses épizooties en Asie du sud-est en 2004-2005 et s'est progressivement propagé vers l'ouest, atteignant pour la première fois le continent africain en février 2006. Depuis lors, il a été notifié dans onze pays africains (Nigeria, Egypte, Niger, Cameroun, Burkina Faso, Soudan, Côte d'Ivoire, Djibouti, Ghana, Togo, et Bénin) entraînant de lourdes pertes économiques. Le Mali est considéré comme un pays présentant un risque élevé de contamination par le H5N1 du fait de la présence de pays infectés à ses frontières (Niger, Burkina Faso et Côte d'Ivoire) et de son delta intérieur du fleuve Niger qui accueille chaque année plusieurs millions d'oiseaux sauvages migrateurs.

La production de volailles est une activité socioéconomique très importante au Mali. Des poulets de basse-cour sont présents dans la plupart des foyers et la production de volaille par le secteur commercial a significativement augmenté ces dernières années grâce à une série de programmes public et privés de développement avicole. La progression de ces secteurs traditionnels et professionnels de production, indispensable pour satisfaire la demande croissante en protéines animales bon marché, est néanmoins tributaire de la maîtrise des contraintes sanitaires représentées par les maladies enzootiques telles que la maladie de Newcastle et les maladies exotiques telles que l'IAHP. Seules quelques données limitées sont actuellement disponibles sur la prévalence des pestes aviaires au Mali. L'objectif de ce projet de thèse est d'estimer la prévalence de l'influenza aviaire (IA) et de la Maladie de Newcastle (MN), d'identifier les modalités de transmission et les pratiques de production à risque, et de modéliser la circulation de ces maladies avec pour but final d'établir des recommandations en matière de surveillance et de contrôle.

Questions de recherche

- 1) Quelle est la prévalence de l'IA et de la MN chez les volailles domestiques au Mali et cette prévalence est-elle différente en fonction de l'espèce de volaille, du secteur de production (traditionnel et commercial), de la zone climatique, et de la saison ?
- 2) Quelles sont les caractéristiques des systèmes de production et de commercialisation de la volaille au Mali ? Y a-t-il des facteurs de risque pour l'IA et la MN associés à ces systèmes ?
- 3) Quelles sont les mesures optimales de surveillance et contrôle de ces maladies compte tenu des moyens disponibles en santé animale au Mali ?

Matériel et méthodes

1) Quelle est la prévalence de l'IA et la MN chez les volailles au Mali?

- Enquête transversale préliminaire :

Une enquête transversale est actuellement en train d'être conduite afin d'établir une première estimation de la prévalence de l'IA et de la MN. Des échantillons biologiques sont collectés chez la volaille: écouvillons cloacaux et trachéaux pour la détection des virus IA et MN et échantillons sanguins pour la détection des anticorps contre les virus IA et MN.

Afin d'avoir des estimations de prévalence pour plusieurs espèces de volaille, secteurs de production, zones climatiques, et saisons, cette enquête est conduite à deux saisons différentes (saison froide et saison chaude) dans les trois régions suivantes du Mali: la région de Mopti (zone climatique sahélienne), la région de Sikasso (zone climatique soudano-guinéenne) et la région de Bamako (zone climatique soudano-guinéenne). Les espèces prélevées incluent des poulets et des canards de basse-cour pour les régions de Mopti et Sikasso, et des poules pondeuses dans des élevages commerciaux de la région de Bamako.



- Enquête représentative transversale et/ou longitudinale :

En fonction des résultats de l'enquête préliminaire et de la faisabilité sur le terrain, une enquête représentative transversale et/ou longitudinale sera conduite dans les deux années suivantes afin d'obtenir plus d'information sur la prévalence et éventuellement sur l'incidence de l'IA et de la MN. Ces enquêtes seront aussi éventuellement conduites dans d'autres régions du Mali, sur d'autres espèces (par exemple la pintade), et à des saisons différentes (saison des pluies, saison sèche).

2) Quelles sont les caractéristiques des systèmes de production et de commercialisation de la volaille au Mali? Y a-t-il des facteurs de risque pour l'IA et la MN associés à ces systèmes ?

- Revue bibliographique :

Plusieurs programmes ont été mis en oeuvre ces dernières années afin d'améliorer les pratiques de production avicole villageoise et de développer l'élevage avicole de type commercial. Ces rapports feront l'objet d'une synthèse bibliographique afin d'établir une première description des caractéristiques de l'élevage avicole au Mali.

- Enquêtes de terrain :

Des enquêtes utilisant des questionnaires standardisés seront conduites dans les mêmes zones que les zones d'enquêtes de prévalence afin d'obtenir plus d'information sur les pratiques de production, de commercialisation, et d'échanges de volailles et de produits avicoles. Les principaux postes de la filière avicole (marchés, abattoirs, postes d'inspection frontaliers) feront aussi l'objet d'enquêtes. Les approches épidémiologiques classiques seront utilisées et complétées par des approches participatives si besoin est.

Des données sur les facteurs de risque et de protection (vaccination, biosécurité, contact avec les oiseaux sauvages, etc.) seront aussi collectées. Ces données seront ensuite comparées avec les données de prévalence (pour les zones où des enquêtes de prévalence sont conduites) ou les données de mortalité rapportées par les éleveurs.

3) Quelles sont les mesures optimales de surveillance et contrôle de ces maladies compte tenu des moyens disponibles en santé animale au Mali ?

- Analyse des réseaux sociaux :

Les liens entre éleveurs et commerçants seront analysés de manière quantitative en utilisant les méthodes de l'analyse des réseaux sociaux. Les acteurs-clés et les structures de contact ainsi identifiés seront inclus dans des modèles de transmission des maladies.

- Modèles de transmission :

Un modèle déterministe SEI à plusieurs strates (villages, élevages commerciaux, marchés) sera développé pour chaque maladie. Les données des enquêtes de prévalence, des enquêtes sur les systèmes de production et de commercialisation, et les structures de contact identifiées par les analyses des réseaux sociaux seront intégrées pour la construction de ce modèle. Les données éventuellement manquantes en ce qui concerne les paramètres de transmission seront estimées au moyen de la méthode Delphi.

- Description et évaluation du réseau d'épidémiosurveillance :

Le réseau d'épidémiosurveillance des maladies animales du Mali sera cartographié et évalué au moyen d'un questionnaire et d'entretiens avec les membres des services vétérinaires.

- Production de recommandations :

Le réseau d'épidémiosurveillance et le modèle de transmission seront comparés afin de produire des recommandations pour une surveillance et un contrôle optimal de l'IA et de la MN dans le contexte spécifique du Mali.

Comité d'encadrement

Superviseurs officiels pour l'inscription au Royal Veterinary College :

Dirk Pfeiffer DVM, PhD	Chef de l'Unité Epidémiologie	RVC	Epidemiology Division, Hawkshead Lane, Hatfield, Herts. AL9 7TA, UK	pfeiffer@rvc.ac.uk Tel: +44 1707 666205 Fax: +44 1707 666574
Javier Guitian DVM, PhD	Professeur en biologie des populations	RVC	Epidemiology Division, Hawkshead Lane, Hatfield, Herts. AL9 7TA, UK	jguitian@rvc.ac.uk
Azra Ghani PhD	Mathématicie nne modélisatrice	Imperia l College	Chair in Infectious Disease Epidemiology, South Kensington Campus, London SW7 2AZ, UK	a.ghani@imperial.ac.uk Tel: +44 207 594 5764

Encadrement scientifique complémentaire :

Véronique Chevalier DVM, PhD	Vétérinaire épidémiologiste	CIRAD	Campus international de Baillarguet UR 16, TA A-16 / E, 34398 Montpellier Cedex 5, France	veronique.chevalier@cirad.fr Tel: +33 467 593 829 Fax: +33 467 593 754
Eric Cardinale DVM, PhD	Spécialiste en pathologie aviaire	CIRAD	MRST, 100 route de la Rivière des Pluies 97490 Sainte- Clotilde, France	eric.cardinale@cirad.fr Tél : +262 26292 2447 Fax : +262 26292 2431

Détail des projets de thèse GRIPAVI

Jean-Luc Guérin DVM, PhD	Professeur de productions aviaires	ENVT	UMR1225, 23 chemin des capelles, 31076 Toulouse cedex 3, France	jl.guerin@envt.fr Tel: +33 561 193 258 Fax : +33 561 193 974
Arnaud LeMenach DVM, PhD	Vétérinaire épidémiologiste	FAO	Infectious Diseases, EMPRES Group Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy	arnaud.lemenach@fao.org Tel: +39 065 705 4852 Fax: +39 065 705 3023

Financement

Sophie Molia est un agent de l'UPR 22 (Animal et Gestion Intégrée des Risques) du CIRAD et les activités décrites dans ce projet de thèse seront financées par le projet FSP GRIPAVI dont la maîtrise d'oeuvre a été confié au CIRAD par le Ministère français des Affaires Etrangères. Sophie Molia sera basée à Bamako au Mali, au sein du Centre Régional de Santé Animale FAO-OIE-IBAR à partir de janvier 2008. Les frais d'inscription en thèse (inscription à temps partiel sur une durée de quatre ans) au Royal Veterinary College seront pris en charge par le CIRAD

Calendrier

Les activités de terrain de l'enquête préliminaire transversale ont été conduites de janvier à juin 2008. Les analyses de laboratoire, l'analyse des résultats, et la conception des protocoles scientifiques pour les activités suivantes auront lieu durant le deuxième semestre 2008 avec présentation lors du comité de pilotage du FSP GRIPAVI à Montpellier en décembre 2008. Les activités de terrain, incluant les enquêtes de prévalence, les enquêtes sur la filière avicole, et l'évaluation du réseau d'épidémiosurveillance des maladies animales auront lieu en 2009 et 2010. Sur la base des informations récoltées durant ces activités de terrain, les premiers modèles de transmission seront développés durant le deuxième semestre 2010. Les informations potentiellement manquantes seront récoltées en 2011 avec une finalisation des analyses la même année. La thèse sera rédigée durant le premier semestre 2012 avec une soutenance prévue en juin 2012.

Using Waterbird Ornithological Data in Predicting the Transmission, Maintenance and Spread of Avian Influenza Virus in Zimbabwe

Candidat: **Josphine Mundava**

Superviseur : Peter Mundy, NUST

Institutions : National University of Science and Technology (Bulawayo, Zimbabwe)

Résumé:

'Utilisation de données ornithologiques sur les oiseaux d'eau pour prédire la transmission, la maintenance et la diffusion des virus Influenza Aviaire au Zimbabwe'

Les oiseaux d'eau sont le réservoir des virus de la grippe aviaire et la source des souches pathogènes de ce virus qui font peser une menace sur la santé animale et publique. Au Zimbabwe où des virus hautement pathogènes ont déjà frappé les élevages d'autruche, l'étude de l'interaction entre les communautés d'oiseaux d'eau et les virus AIV en circulation est nécessaire afin de comprendre les processus de maintien, de diffusion et de transmission de ces relations. Le site d'étude est l'écosystème des lacs Chivero et Manyame.

Cette thèse vise à suivre des variables biotiques (écologie des oiseaux d'eaux) et abiotiques (variables environnementales liées à l'eau) afin de décrire des mécanismes potentiels de survie des virus AIVs dans cet écosystème. La composition des communautés d'oiseaux d'eau, le suivi de leurs cycles de reproduction, de leur comportement spécifique (grégarisme, mélange inter spécifique, habitude alimentaire) seront prises en compte en utilisant des données historiques, bibliographiques et de terrain. Les variables environnementales (ph, salinité, niveau des lacs etc...) seront récupérées ou mesurées.

L'ensemble de ces variables permettra de modéliser l'écologie des virus AIV dans cet écosystème et d'identifier les périodes clef de circulation et de transmission potentielle des AIVs à d'autres espèces.

Institutional context

This PhD thesis is in the framework of the research platform RP-PCP implemented in Zimbabwe by CIRAD and its 3 core partners: University of Zimbabwe, NUST and CNRS. NUST the hosting university is under MOU with CIRAD in Zimbabwe and this collaboration follows a long scientific interaction between the two institutions.

Study Context

Wild waterbirds have long been recognised as a source and reservoir for all subtypes of avian influenza viruses (AIVs). The AIV occurs naturally in many species of wild aquatic birds and it is maintained in the wild populations. The viruses fall into two groups, low pathogenicity (LPAI) and high pathogenicity (HPAI). LPAI viruses constitute the majority of viruses in wild birds.

Waterbirds, particularly Anatidae, are natural reservoirs of LPAI and have been implicated as a primary source of infection in HPAI outbreaks. The avirulent nature of LPAI in ducks may be the result of virus adaptation that ensures its perpetuation. Although little is known about the mechanisms of transmission, maintenance and spread of AIVs in the wild, infections can be related to species behaviour and ecology.

The main aim of the project is to address the globally asked questions of how the characteristics of the ecology and behaviour of waterbirds can be used to provide insights into the understanding of the mechanisms of the persistence and dispersion of AIVs in their natural reservoirs. The factors are looked at in the context of LPAIs and then the results used to extrapolate and see what might happen if HPAIs are introduced to southern Africa. The main factors or characteristics of waterbirds that have been identified to pre-dispose birds to AI include: species composition of a waterbird community, movement patterns and behaviour, mode of habitat use, gregariousness, and proportion of juveniles in a population. In general, the study aims to address questions related to the epidemiology of avian influenza under an ecological perspective. It will look at the various components of the avian influenza cycle and study the role of various ecological factors and waterbird behaviour associated with various bird species on the maintenance, transmission and spread of the virus in space and in time.

The major objectives are:

1. Develop a model that predicts the pathways, magnitude and patterns of the introduction, maintenance and spread of AIV in an ecosystem using waterbird ecology and behaviour data. Count data, breeding records data and waterbird distribution data will be used to develop this model.
2. Assess the responses of waterbird communities to seasonal variations in the habitat and to predict how these responses would affect the risk of AIV in an ecosystem.
3. Assess how environmental variables (habitat type, water level, water quality water depth, food availability and human disturbance) influence waterbird abundance and diversity and consequently the risk of AIV in an ecosystem.

Research questions

1. What aspects of waterbird ecology and behaviour can be used to predict the pathways and magnitude of infection in an ecosystem?
2. What role do environmental factors play in the introduction, maintenance and spread of AIV in an ecosystem?

Hypotheses

In this investigation, it is hypothesised that the ecology and behaviour of waterbirds have a strong influence on the risk of the introduction, maintenance and spread of AIVs in an ecosystem:

1. The composition of a waterbird community and the mode of wetland use have influences on the risk of AIV occurrence in an ecosystem. Risk species will be those that closely

related in terms of phylogeny and ecology to other species that are known to have natural susceptibility to AIVs.

2. Juveniles represent the main reservoir of AI infection because they are immunologically naive.
3. Highly gregarious species with a high degree of mixing with other species pose a higher risk of being infected and transmitting AIV due to the high degree of bird to bird contact. Risk species form daily or seasonal aggregations in which high bird densities occur therefore there is high potential of transmission.
4. Species which are migratory or nomadic pose a risk in the spread of AIV due to their ability to carry disease over long distances, usually without sign of disease.
5. Birds that are strongly associated with fresh water for foraging, reproduction and/or roosting are generally at a higher risk than those use water for drinking only. This is so because influenza is a droplet infection and is easily transmitted in water.

Research Methods

1. Data will be collected at lakes Manyame and Chivero
2. Use count data to determine species diversity, abundance and community composition. The count data can be used to identify trends or patterns in species community composition and diversity seasonally and monthly/yearly. Abundances and species diversity/community composition data of waterbirds will give an idea of the level of risk that the ecosystem will have if HPAI is introduced.
3. Use of the existing nest record cards to determine the breeding phenology of waterbirds. This would help to identify the periods of high risk of infection (probably the period with the most young –presumed to be immunologically naive). Count data can then be used to identify the periods with the most Palaearctic migrants and these can be hypothesised to be bringing the viruses from Europe. Different breeding phenologies that can be identified using the nest record cards can then be used to identify how the viruses can be maintained in the absence of the migrants.
4. Use field cards and atlas cards to map the distribution of waterbirds in Zimbabwe. These can also be used to identify any changes that may be present in the distribution of waterbirds in Zimbabwe over the years. Changes present can then be used in the prediction of any future changes that may occur and the pathways they would likely take and the implications in terms of AIV introduction and spread.
5. Water depth, rainfall data, temperature, water quality data, habitat assessment data and count data will be carried out from predetermined sample points along the shorelines of the two lakes.
6. Use available data on AIV prevalence in waterbirds to identify species that that should be observed to determine which waterbirds should be observed for interactions.

Timetable

- October to December 2008 – Analysis and write up of the Tracy Couto data.
- January to December 2009 – Collection of data from Chivero and Manyame lakes, done once in two months. Will result in a total of six counts representing all the seasons.
- January to June 2010 – analysis of the collected data.
- June to December 2010 write up the project and papers.

References

Block, W.M., Brennan, L.A. & Gutierrez, R.J. 1986. The Use of Guilds and Guild- Indicator Species for Assessing Habitat Suitability. *Wildlife 2000: Modelling Habitat Relationships of Terrestrial Vertebrate*. eds: Verner, J., Morrison, M.I. and Ralph, C.J. The University of Wisconsin Press, Madison.

Brown, J.D. & Stallknecht, D.E. 2006. Wild birds and the epidemiology of Avian Influenza. Presentation at the FAO and OIE International Scientific Conference on Avian Influenza and Wild Birds, FAO, Rome, 30 and 31 May 2006.

Msimanga, A. 2003. Nest Record Card Scheme. *Honeyguide* 49:

Root, R.B. 1967. The niche exploitation pattern of the blue-grey gnatcatcher. *Ecological Monographs* 38: 317-350.

Simmons, R.E., Barnard, P.E. & Jamieson, I.G. 1998. What precipitates influxes of wetland birds to ephemeral pans in arid landscapes? *Ostrich* 70: 145-148.

Stallknecht, D.E. 2006. Ecology and epidemiology of Avian Influenza Virus in wild bird populations: waterfowl, shorebirds, pelicans and cormorants. *Jstor* 47:

Tracey, J.P., Wood, R., Rashier, D., West, P. & Sander, G.R. 2004. The role of wildbirds in the transmission of Avian Influenza: an ecological perspective. *EMU*.

Woodall, P.F. 1974 The conservation and management of Red-billed Teal *Anas erythrorhyncha* in Rhodesia. MSc thesis, University of Rhodesia, Salisbury.

www.cms.int/avianflu/conclusion_rec_ai_seminar.pdf

[Http://www.medscape.com/viewarticle/546766-2](http://www.medscape.com/viewarticle/546766-2)

[Http://www.birdlife.org/action/science/species/avian_flu/pdfs/virology_3_96.pdf](http://www.birdlife.org/action/science/species/avian_flu/pdfs/virology_3_96.pdf)

<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a152e/a1521e06.pdf>

Étude épidémiologique de l'influenza aviaire et de la maladie de Newcastle à Madagascar

Candidat : **Rasamoelina Andriamanivo Harentsoaniaina**

Superviseurs : Co-directeurs de thèse: Renaud Lancelot & Serge Morand ; Responsable Observatoire et encadrement : Véronique Chevalier

Institution : Univ. Montpellier II (SIBAGHE)

Contexte

Madagascar est un grand pays d'aviculture. C'est une activité qui concerne au moins 67% de la population rurale (Ocean consultant, 2004), sans compter les élevages urbains et surtout les nouveaux élevages améliorés périurbains. Selon les dernières estimations de la FAO, le cheptel de volailles domestiques à Madagascar est de 33,9 millions (FAOSTAT, 2008).

On y rencontre plusieurs espèces de volailles domestiques et plusieurs types d'ateliers (poules locales ou *poulets gasy*, poules pondeuses, poulets de chair, oies, canards, canards gras, dindes,...). Ces oiseaux sont élevés suivant dans des systèmes très divers qu'on peut classer a priori et de façon simplifiée en élevages : villageois (largement majoritaire), artisanal, semi-industriel et industriel. Il y a souvent une mixité d'espèces au sein des exploitations agricoles : mélanges de différentes espèces de volailles ou volailles/autres espèces. De même, il y a un contact étroit entre les humains et les volailles, et même parfois aussi les porcs, les trois pouvant partager les mêmes habitations.

Au niveau des filières, ces volailles domestiques sont intégrées dans des réseaux de commercialisation complexes avec une multitude d'acteurs ayant de fortes interactions : éleveurs, collecteurs de différents niveaux, marchands de volailles vivants, marchés, consommateurs,...).

D'un point de vue paysager, Madagascar est la présence de grands lacs dont les principaux sont le lac Alaotra et le lac Itasy sur les hautes terres ; les lacs Ihotry, Kinkony et Tsimanampetsotsa sur le versant ouest. Ces lacs constituent les principaux habitats des oiseaux sauvages de l'île (plus de 250 espèces dont une centaine endémiques). Les lacs du versant ouest sont tous des sites de prédilection et de rassemblement des oiseaux migrateurs. Les lacs des hautes terres abritent plutôt des espèces d'oiseaux sauvages résidents mais aussi quelques espèces d'oiseaux migrateurs. A côté de ces lacs naturels, il y a un peu partout sur les hautes terres, des rizières, qui constituent aussi des zones humides fréquentées par des oiseaux domestiques et des oiseaux sauvages. Les 2 grands bassins agricoles que sont le lac Alaotra et le lac Itasy concentrent de très grandes superficies de rizières.

Madagascar est indemne d'influenza à H5N1. Le risque d'introduction de cette maladie paraît faible mais non nul avec l'existence probable d'échanges illicites de volailles vivantes de différentes origines (coqs de combat, poulets,...) avec les autres îles de l'Océan Indien et en provenance des côtes africaines, ainsi que le passage d'oiseaux migrateurs provenant également du continent africain. Compte tenu des circuits commerciaux complexes et rapides la diffusion et l'endémisation pourraient se faire très rapidement en cas d'introduction.

En cas de présence de grippe aviaire, la promiscuité entre les humains, les volailles et les cochons constituerait une situation favorable à l'apparition d'un virus pandémique [1-3]

Néanmoins l'Influenza Aviaire est présent sur l'île. Une étude transversale réalisée en 1999 a mis en évidence une séroprévalence instantanée, en influenza A, de 14,9% chez les poules et de 2,8% chez les palmipèdes [4]. Depuis aucune étude n'a été réalisée.

Les autorités sanitaires Malgaches considèrent la menace que représente le virus H5N1 au sérieux. Un Comité National de Lutte contre la Grippe Aviaire se réunit chaque semaine et des exercices de simulation d'épizootie sont réalisés de manière à mettre au point et tester un plan de réaction d'urgence.

La maladie de Newcastle est signalée à Madagascar depuis 1946 [5] et est à présent enzootique. Elle est suspectée d'être à l'origine, chaque année, de mortalités réduisant de plus de 90% le cheptel de poules des élevages atteints. Une étude réalisée dans la zone péri-urbaine d'Antananarivo a révélée une séroprévalence de 72% [6]. La période de circulation maximale du virus est d'Aout à Mai avec un pic maximal vers le mois d'octobre.

L'occurrence de la maladie semble très hétérogène dans l'espace. Certaines exploitations sont touchées de façon très sporadique avec parfois absence de la maladie pendant plusieurs années. D'autres exploitations ou villages sont touchées régulièrement chaque année, et parfois plusieurs fois par an pour certains.

Hypothèses et questions de recherches

H1. La diffusion de la maladie de Newcastle et de l'influenza aviaire se fait à travers les réseaux des différents acteurs le long des différents compartiments qui constituent les filières avicoles. Cela implique que les filières soient concentrateurs d'infections en période d'épizootie.

H2. La dynamique des 2 maladies est hétérogène dans l'espace selon les caractéristiques agro-écologiques du milieu et les types d'élevages présents.

Les questions de recherche auxquelles cette thèse se propose de répondre sont les suivantes :

Comment circulent les virus de l'influenza aviaire et de la maladie de Newcastle à travers les types d'exploitations, leurs structures spatiales (localisation et densité des exploitations, caractéristiques agro-écologiques,...) et les réseaux de commerciaux (réseau d'acteurs, filières)?

Quels sont les facteurs de risque de la transmission de ces maladies ?

Les objectifs spécifiques suivants seront de :

1. Connaître les différents types d'élevages et les filières dans lesquelles ils s'intègrent.
2. Décrire et analyser les variations spatiales et temporelles (intra-annuelle) de la prévalence et de l'incidence (sérologique et virologique) de l'IA et MN.
3. Décrire et analyser les différents compartiments des filières avicoles et le(s) réseau(x) d'acteurs qui y interviennent.
5. Identifier les facteurs de risque de diffusion des virus entre les exploitations, les villages et les différentes zones.
6. Modéliser la dynamique de transmission et de diffusion de l'influenza aviaire et de la maladie de Newcastle dans le contexte Malgache

Méthodologie

Zones d'étude

Après avoir combiné les critères : agro-écologique, densité et types d'ateliers d'élevages présents, flux commerciaux et la faisabilité pratique, 2 sites d'étude ont été définies : **la zone du lac Alaotra** et **la zone d'Antananarivo et ses environs**.

Ces zones d'études sont présentées dans la figure 1

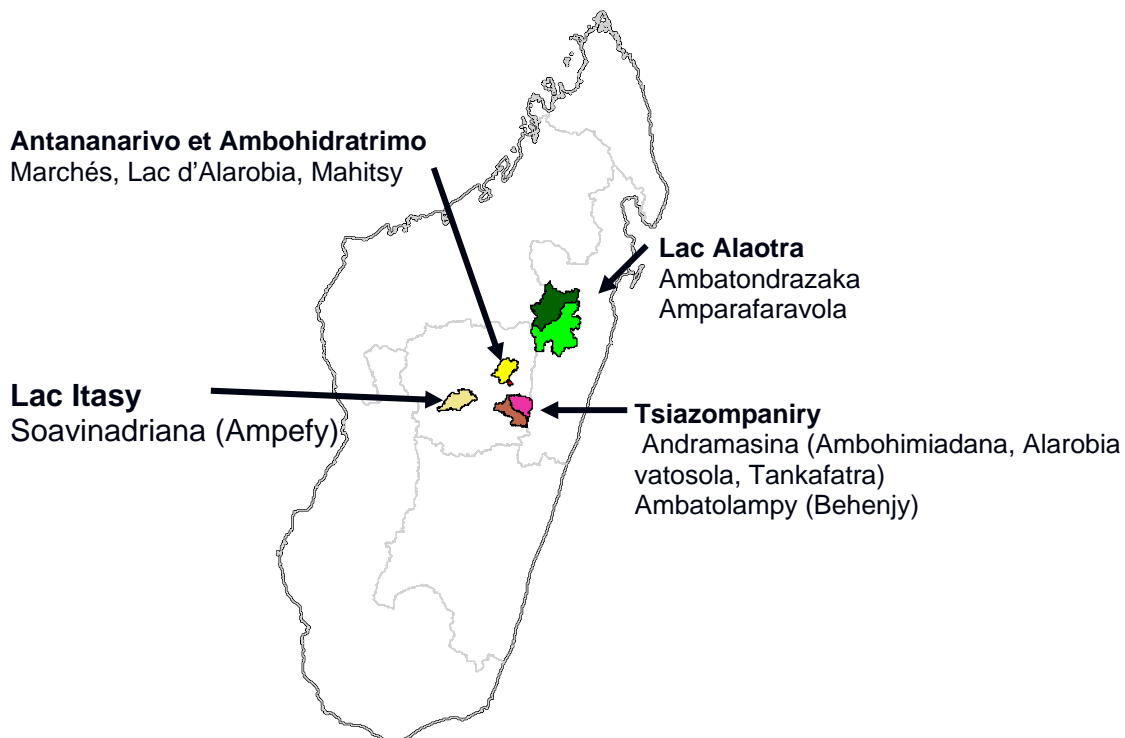


Figure 1 : Zones d'étude du projet Gripavi à Madagascar

1. Le site d'Antananarivo est composé de 3 zones :

- « Mahitsy et Mahazaza » : communes de Mahitsy et d'Antanetibe Mahazaza (district d'Ambohidratrimo) situées à environ 30 Km à l'ouest d'Antananarivo. C'est la première zone de production d'œufs de consommation du pays. On y rencontre beaucoup d'élevages de poules pondeuses à différentes échelles d'intensification. Mais on y trouve aussi des élevages de poulets de chair et des élevages traditionnels de *poulets gasy*.
- « Itasy » : communes d'Ampefy, d'Analavory et de Manazary se trouvent à une centaine de Km d'Antananarivo. Ampefy et Manazary sont deux communes qui bordent le lac Itasy. Cette zone fait partie des bassins de production agricole et d'élevage des hautes terres. Analavory, situé dans la même zone possède le plus grand marché rural du moyen-ouest de l'île, les flux de volailles domestiques et surtout de *poulets gasy* vers les marchés de la capitale sont considérables.

- « Andramasina » : communes d'Ambohimadana, d'Alarobia Vatosola, de Sabotsy Ambohitromby, d'Alatsinainy Bakaro, Tankafatra (district d'Andramasina), situées à environ 80 Km d'Antananarivo, à la limite de la forêt humide de l'Est. Après la zone de Fianarantsoa, cette zone est la principale source de canards prêts à gaver pour la commune de Behenjy (capital de la production de foie gras à Madagascar. Les canards et les poulets gasy de cette zone approvisionnent aussi les marchés d'Antananarivo. Par ailleurs, le district d'Andramasina abrite Tsiacompaniry, un lac de barrage avec une forte probabilité de présence d'oiseaux sauvages.
- 2. La zone du lac Alaotra est le grenier à riz de Madagascar. A part le lac où plusieurs dizaines d'espèces d'oiseaux sauvages sont recensées, cette zone possède des milliers d'hectares de rizières. C'est un grand bassin de production agricole et d'élevage. En aviculture, cette zone est réputée pour l'élevage d'oies en mode traditionnel en plus des classiques poulets gasy. Elle approvisionne aussi les marchés de la capitale.
Trois zones les zones à forte densité de palmipèdes ont été choisies au lac Alaotra :
 - Anororo/ Antsakoana et Ampilahoana, situés sur la rive ouest du lac. Anororo et Ampilahoana sont des endroits qui bordent de très près le lac. Certains villages ont même pieds dans le lac. Antsakoana , un peu plus en retrait a une grande densité de volaille et est entourée de vastes rizières.
 - Ampitatsimo : une commune située à proximité d'Ambatondrazaka (chef lieu de la Région), célèbre pour ces vastes rizières et ses oies.
 - Anndromba et Imerimandroso sont 2 communes situées à l'extrême nord de la rive est du lac. Anndromba est une commune qui borde le lac tandis que Imerimandroso est un peu plus hauteur. Imerimandroso possède un marché important qui draine les volailles de cette zone avant d'aller vers des marchés plus importants (Antananarivo, Toamasina).

Typologie des exploitations et étude de filières

L'étude de filières et l'analyse et typologique vise à (i) connaître les filières existantes, (ii) identifier les différents types d'acteurs , les étapes des filières et réaliser leurs diagrammes, (iii) quantifier les flux d'animaux entrants et sortant entre les différents compartiments des filières (iv) caractériser les types de relations entre les différents acteurs des filières. Les critères discriminants sont de 2 ordres : les critères structurels (taille des cheptels aviaires, types d'ateliers présents, ...) et les critères épidémiologiques (agro-écosystème, niveau de biosécurité,...).

Le croisement des résultats de ces 2 types d'études vont permettre :

- d'identifier les points d'ancrage de chaque type d'exploitation aux différentes filières.
- de caractériser les relations entre les éleveurs de chaque type et les autres acteurs des filières (nature des relations : dépendance, partenariat, conjoncturelle, ... ; fréquence des contacts,...).

Traitement des données (travaux en cours actuellement)

Les données sont stockées dans une base de données relationnelles (Microsoft ACCESS). Leurs traitements se font par des méthodes d'analyses factorielles (Analyses des correspondances multiples, analyses factorielles multiples,...) avec le package ADE4 du logiciel R .

Les données concernant les filières permettront de préciser de façon détaillée les diagrammes des filières établis lors des pré-enquêtes. Elles permettront aussi de caractériser les

relations (types d'éleveurs – types de collecteurs – lien avec les marchés) et de quantifier les flux à différents niveaux et indiquer leurs directions.

Enquête de prévalence

Il s'agit de connaître les prévalences instantanées, sérologiques et virologiques, dans les 2 sites d'étude. D'un point de vue virologique, cette enquête donnera les premières réponses sur le niveau d'infection virale et surtout sur les sous-types de virus influenza qui circulent. On évaluera les associations entre les prévalences sérologiques et certaines variables explicatives, comme les types d'élevages, pour identifier de potentiels facteurs de risques à confirmer lors des suivis d'exploitation.

Lors de l'échantillonnage, plusieurs stratifications ont été effectuées pour mettre en valeur les différents types agro-écologiques des sites d'études ainsi que les types d'ateliers identifiés.

Pour **Antananarivo**, la stratification a été différente pour chaque zone :

- Palmipèdes/ poules pour Andramasina,
- poules pondeuses/*poulets gasy* pour Mahitsy et Mahazaza
- Proximité vs éloignement au lac Itasy pour la dernière zone.

Pour le site du **lac Alaotra**, la population d'étude a été divisée en 3 strates suivant le type agro-écologique : villages bordant le lac / village entourées de rizières/ villages loin du lac et des rizières. Ensuite, dans chaque exploitation, il a été fait en sorte que l'on prélève autant de palmipèdes que de *poulets gasy*.

Un sondage à 3 degrés a été effectué dans chaque strate, les unités primaires étant les villages, les unités secondaires les exploitations et les unités tertiaires les volailles.

La taille de chaque strate a été calculée sous Win Episcopo 2.0 avec les paramètres suivants : prévalence attendue 15% (Porphyre, 1999), précision absolue 5%, niveau de confiance 95%. Ce qui a donné un effectif de 196 animaux à prélever par strate. Ce mode de calcul est celui utilisé pour un échantillon aléatoire simple. Il a été utilisé ici malgré un échantillonnage plus complexe. Les effets des regroupements des volailles par troupeaux puis par villages seront pris en compte dans l'analyse des données.

Ces tailles d'échantillon, concernent uniquement les prélèvements de sérums. Le nombre d'analyses virologiques a été limité à 1000 (dont 2 échantillons par animal : 1 écouvillon cloacal et 1 écouvillon trachéal) suivant les disponibilités financières du projet.

Bilan des premiers résultats et perspective

Etude de filières

En Année I, 522 élevages et 58 marchés ont été enquêtés. Les analyses statistiques sont en cours. La figure 2 présente le diagramme temporaire établi à partir des premières analyses des filières poulets Gasy et palmipèdes dans la zone de l'Itasy

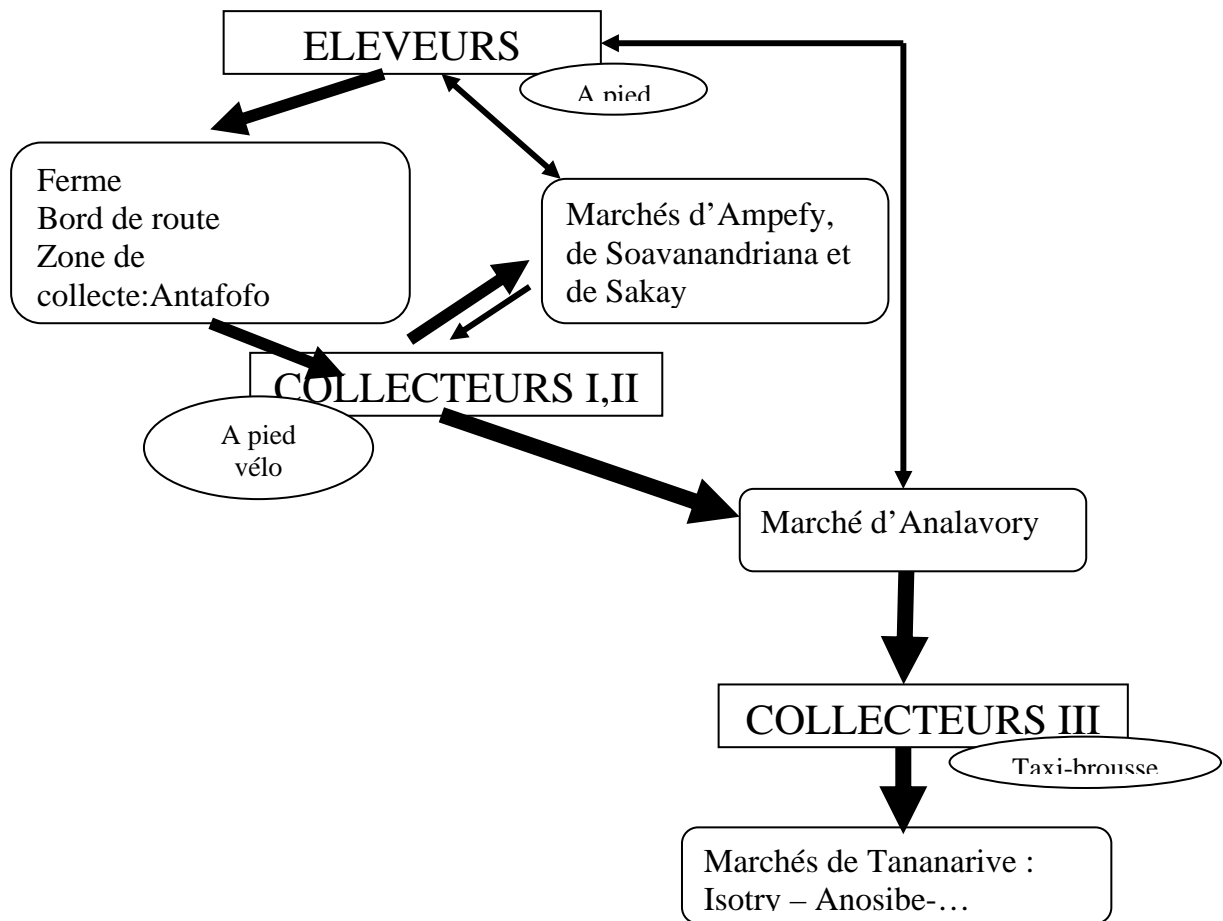


Figure 2 : Diagramme temporeire des filières poulets Gasy et palmipèdes dans la zone de l'Itasy

Sérologies (en cours)

Les analyses sérologiques sont réalisées au laboratoire du DRZV-FOFIFA.

Pour l'influenza aviaire, les kits utilisés sont les kits fournis par idVet. Il s'agit de kit pour des tests ELISA A, ELISA A H5 et ELISA A H7. Lors des analyses, seuls les échantillons positifs en ELISA A seront testés en H5 ou H7. En cas de résultats sérologiques positifs en H5 ou H7, un test d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) sera réalisés sur les échantillons en question, pour confirmation.

Pour la maladie de Newcastle, il s'agit aussi de tests ELISA. Les kits utilisés ont été achetés chez LSI (Laboratoire Service International, Lyon France). 2 types de kits seront utilisés : le kit LSI VET AVI NDV (ELISA de compétition) pour les gallinacées et le kit ELISA Ab Blocking pour les palmipèdes.

Environ 30 % des sera ont été à ce jour analysés. Les résultats préliminaires, par site et pour l'Influenza sont présentés dans les Tableau 1 et 2

Statut	ELISA			IHA
	Influenza A	Influenza H5	Influenza H7	Influenza H5
Positif	48	2	0	2
Négatif	122	50	52	0
Douteux	4	0	0	0
nd	0	123	123	173
Total	174	175	175	175

Tableau 1 : résultats préliminaires des analyses sérologiques pour l'Influenza A sur le site du Lac Alaotra en 2008

Statut	ELISA			IHA
	Influenza A	Influenza H5	Influenza H7	Influenza H5
Positif	5	1	0	1
Négatif	268	13	21	0
Douteux	3	0	0	0
nd	12	274	267	287
Total	288	288	288	288

Tableau 2 : résultats préliminaires des analyses sérologiques pour l'Influenza A sur le site d'Antananarivo en 2008

Virologie

1094 écouvillons (moitié trachéaux, moitié cloacaux) de volaille domestique (poulets, oies, canards) ont été prélevés.

Les analyses virologiques - PCR quantitative jusqu'à l'identification des sous-types -, pour cette première enquête, sont réalisées à l'UMR 15 du CIRAD-BIOS.

3 animaux ont été trouvés positifs en AIV (ils seront testés en H5et H7) et 30 en NDV.

Pour mémoire, une thèse en virologie (Fridolin Maminiana, financée par le SCAC Madagascar) intervient en complément de cette thèse en épidémiologie.

L'influenza aviaire (IA) et la maladie de Newcastle (MN) sont des viroses aviaires majeures listées par l'organisation mondiale de la santé animale (Office International des Épizooties, OIE). La MN a été signalée pour la première fois en 1946 à Madagascar par contre l'existence des volailles séropositives (14,5% Gallus gallus et 2,82% canards communs et barbares) en IA a été indiquée pour la première fois par Porphyre en 1999. Les travaux faits par Koko et ses collaborateurs de 1999 à 2004 ont montré que la MN est responsable de 44,34% de toute la mortalité confondue et constitue la contrainte principale de l'aviculture villageoise à Madagascar. L'isolement des deux souches d'IA est en cours actuellement. D'après ces résultats préliminaires, l'IA circule à Madagascar mais nécessite une suite au sous-typage.

Pour le cas de la MN, les résultats de caractérisation montre que les deux souches isolées en 1992 et 2008 sont très proches de l'ancien génotype de première panzootie (IV) dont la dernière souche isolée et caractérisée date de 1987 (2002 ?). L'isolement des autres souches de la MN sont en cours actuellement. Ces souches très proches du génotype IV, mais clairement distinctes, continuent de circuler à Madagascar aussi bien dans les fermes commerciales (vaccination 100%) que dans les avicultures villageoises (vaccination moins de 10%). Est-ce la seule souche de MN circulantes à Madagascar ? La réponse à cette question nécessite un peu plus d'échantillons collectés sur toute la superficie de l'île à différentes périodes (sèche et humide).

Traitement des données (en cours)

La première analyse va consister à faire une exploration des données par tris à plats des différentes variables, puis des tableaux croisés des prévalences en fonctions des variables explicatives. Ensuite, des modèles statistiques de traitement des données corrélées (modèles marginaux et/ou modèles mixtes) vont être utilisés pour évaluer l'influence des variables explicatives et pour déduire des hypothèses de facteurs de risque. Ce ne seront que des hypothèses puisqu'il s'agit d'une enquête transversale mais les variables explicatives associées aux prévalences seront parmi celles à suivre lors des suivis d'exploitation. Les prévalences virologiques seront analysées dans leur globalité (tous les sous-types confondus) avant d'être analysées par sous-type.

Suivis longitudinaux et surveillance épidémiologique

La mise en place d'une surveillance épidémiologique dans les sites d'étude permettra de suivre l'incidence clinique des 2 maladies au niveau de chaque zone. Il s'agit de détecter la survenue des maladies à tous les niveaux des filières. On pourra ensuite voir les relations des incidences cliniques avec les types d'exploitations, les types agro-écologiques, les compartiments des filières concernées. Par la suite, ces données serviront à alimenter le(s) modèle(s) de dynamique des maladies.

Un protocole d'enquête sur foyer sera mis en place avec comme objectifs

- de caractériser les foyers de pestes aviaires (morbidity, mortalité, espèces touchés, voies d'introductions, acteurs concernées, voies de dissémination). Il s'agit de faire la méthode « boule de neige » à partir du foyer et de réaliser des enquêtes en amont et en aval du foyer pour comprendre le mécanisme de diffusion. Ces enquêtes seront réalisées aussi bien pour les foyers en élevage que pour les foyers à un autre niveau des filières.
- de maximiser la probabilité d'isoler des virus et des les caractériser

Les suivis longitudinaux seront réalisés (i) dans des élevages avicoles, (ii) sur les points critiques des filières. Les troupeaux sentinelles seront de jeunes oiseaux (poussins, cannetons) indemnes de pestes aviaires, identifiés individuellement et placés chez des éleveurs. Les objectifs de la mise en place de ces troupeaux sentinelles sont de mesurer les incidences des infections pestes aviaires (phases cliniques et phases silencieuses), et de mesurer certains facteurs de risques (en choisissant les exploitations de placement des animaux suivant des paramètres précis. Ces animaux seront prélevés régulièrement (exemple: fréquence de 2 mois). A chaque pas de temps, vu les risques de pertes par risques compétitifs (mortalité, exploitation,...) et l'exclusion des infectés, les cohortes seront renouvelées.

Concernant les suivis au niveau des filières, la méthode consiste à trouver un niveau ou point(s) des filières où la réalisation de prélèvements permet d'avoir une bonne image de la circulation de virus le long de ces filières, tout en connaissant les villages et exploitations de provenance des animaux. Une méthode de type « HACCP », appliquée sur les diagrammes des filières, va être utilisée afin de déterminer ces points critiques des filières.

Modélisation de la dynamique des pestes aviaires

Afin de prendre en compte les types d'élevage et leurs distributions spatiales, les caractéristiques agro-écologiques des milieux et surtout les réseaux commerciaux, nous allons utiliser comme méthode l'analyse et la modélisation de réseaux sociaux (Dent J et al, 2008) pour représenter la diffusion des pestes aviaires.

Une telle représentation permettrait de savoir les parties des réseaux où les circulations de virus sont plus fortes et aussi les parties des réseaux où il est possible d'appliquer de façon efficiente les mesures de contrôles de ces maladies.

Pratiquement, les données et paramètres qui vont alimenter ce modèle sont ceux obtenus par les différentes activités sus-citées (typologie, description et analyse de filières, suivis de cohortes, surveillance et description de foyers).

Bibliographie

1. Webster R.G., Sharp G.B., Claas E.C. Interspecies transmission of influenza viruses. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*. 1995; 152(4 Pt2):S25-30.
2. Webster R.G., Hinshaw V.S., Bean W.J.J., Turner B., Shortdrige K.F. Avian influenza viruses from avian and porcine sources and their possible role in the origin of human pandemic strains. *Developments in Biological Standardization*. 1977; 39(1-3):461-468.
3. Kilpatrick A.M., Chmura A.A., Gibbons D.W., Fleischer R.C., Marra P.P., Daszak P. Predicting the global spread of H5N1 avian influenza. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103(51):19368-19373.
4. Porphyre V., Enquête séro-épidémiologiques sur les principales maladies infectieuses des volailles à Madagascar, D.d.é.s.s.d.p.a.e.r. chaudes, Editor. 1999, CIRAD: Montpellier. p. 83.
5. Rajaonarison J.J. *Newcastle Disease or Rural Africa. Production de vaccin contre la maladie de Newcastle à Madagascar*. in *Proceedings of a workshop*. 1991. Debre Zeit, Addis Ababa, Ethiopia.
6. Maminaiaina O.F., Ravaomanana J., Rakotonindrina S.J. Epidémiologie de la maladie de Newcastle en élevages avicoles villageoises à Madagascar. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*. 2007; 26(3):691-700.