



FSP GRIPAVI

Equipe Virologie

UMR-15





Introduction

Objectifs :

Améliorer la connaissance sur l'épidémiologie et l'écologie de l'influenza aviaire (VIA) et de la maladie de Newcastle (NDV) dans les zones humides d'Afrique.

Date de début :

01/07/2007

Date de fin :

30/06/2010

Coordinateur :

CIRAD Baillarguet, Montpellier

Partenaires :

AFSSA (France), Department of Animal Health (Ethiopie), CIRDES (Burkina Faso), CNERV (Mauritanie), CVO (Zimbabwe), DRZV/FOFIFA (Madagascar), EISMV (Senegal), HAU (Vietnam), INRA (France), IPSARD (Vietnam), Laboratoire Central Vétérinaire (Mali), NAHDIC (Ethiopie), NIAH (Vietnam), NIVR (Vietnam), OIE (Paris), OVI (Afrique du Sud).

Financement :

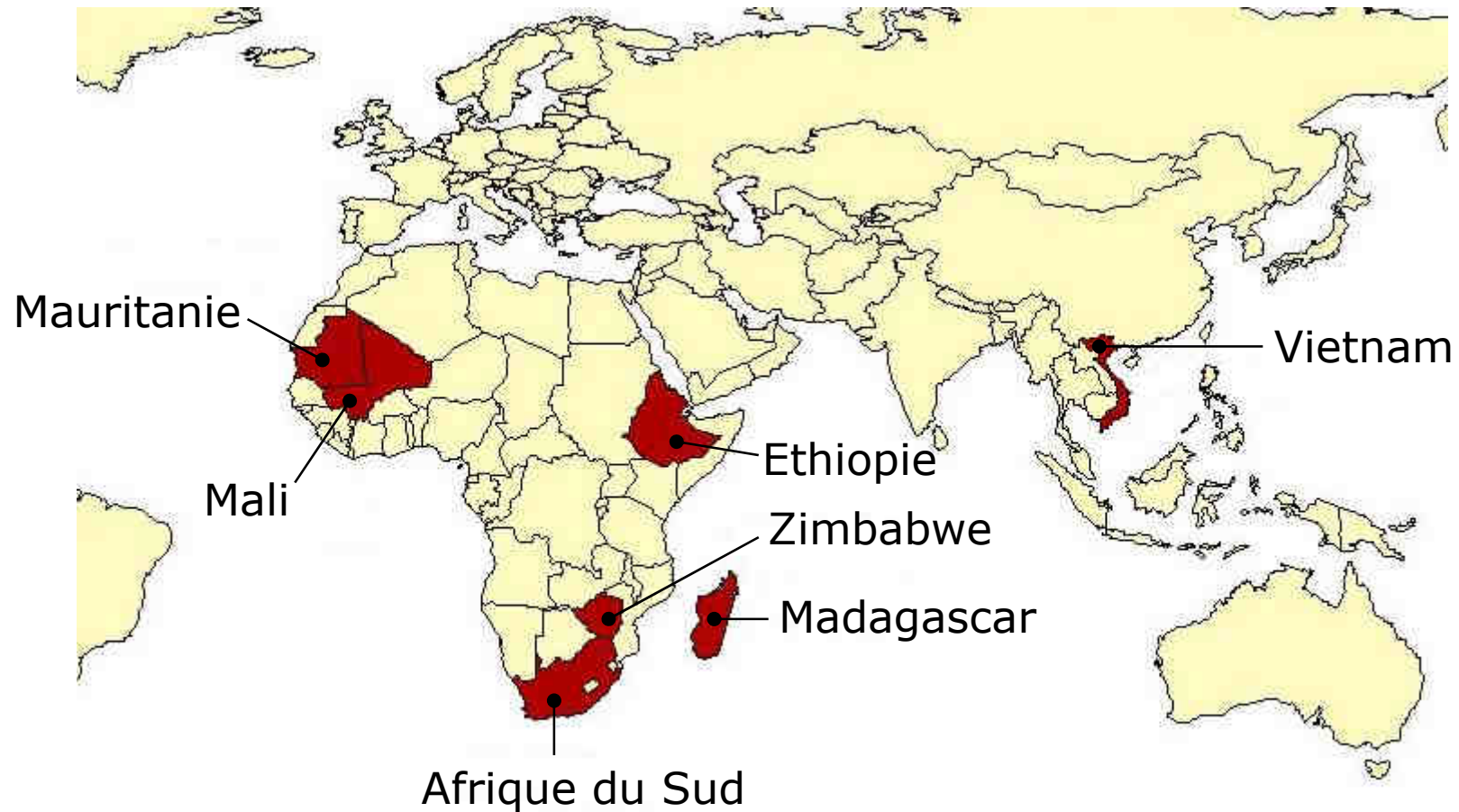
Bailleur : Ministère des Affaires Etrangères, France

Montant : 3.525.000 euros (UMR-15= 905.165,000)



Introduction

- 7 pays partenaires choisis comme observatoires



- UMR-15: analyses virologiques de 4 partenaires



Introduction

- **Questions de recherche:**

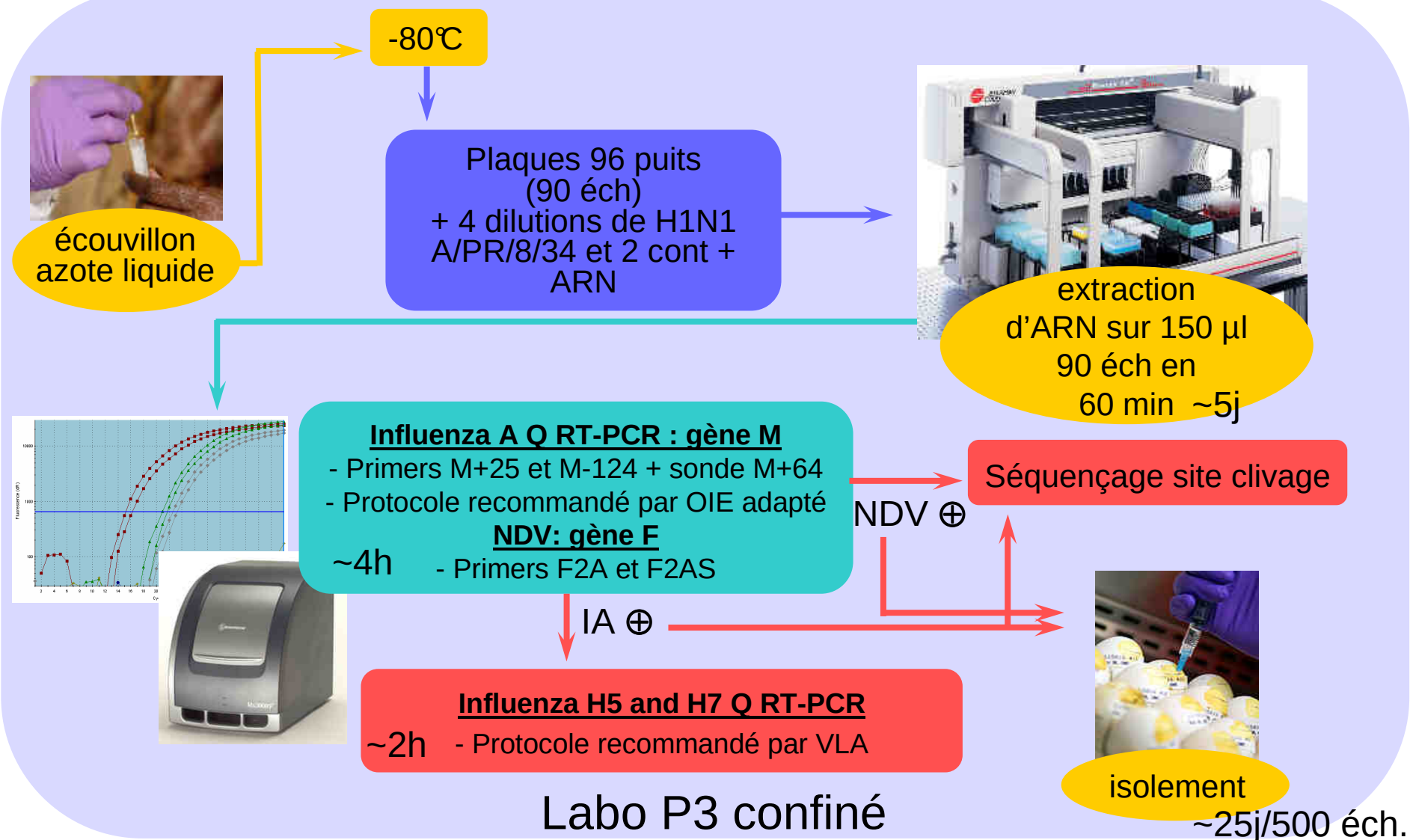
- Quelles sont les souches influenza et Newcastle qui circulent chez les oiseaux sauvages, commensaux et domestiques?
- Existe-t-il une complémentarité entre les différents réservoirs et une variation dans les profils saisonniers entre les différents observatoires?

- **Méthodes:**

- Détection et isolement
- Caractérisation (moléculaire et biologique) des virus influenza et Newcastle africains (phylogénie et phylogéographie)
- Formation et transferts technologiques vers les différents observatoires

Protocole

Dispositif des analyses virologiques

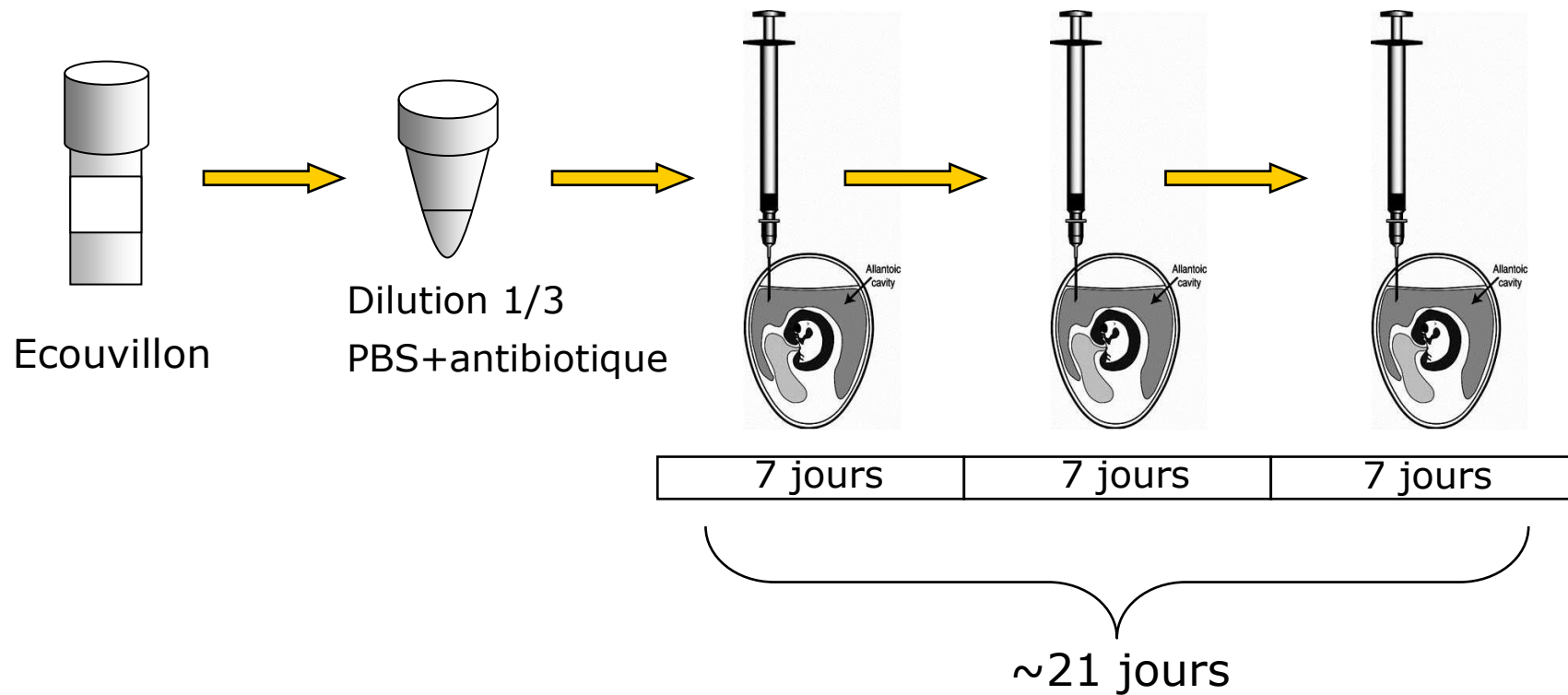




Protocole

Analyses virologiques

isolement





Protocole



Analyses virologiques

Date 1^{er} envoi: oct/2008

Nbre échantillons reçus : 1094 (1094 dom)

Nbre échantillons analysés : 1094

Origine: Antananarivo et Lac Alaotra

MADAGASCAR	Analysé	NDV +	AIV +	NDV %	AIV %
Domestique	1094	29	3	2.65%	0.27%
Sauvage	X	X	X	X	X

✓Isolements: 1 souche NDV à la fois T et C (identiques sur 500nt)
(chicken/MG/TA/725C/2008)



Protocole



Analyses virologiques

Autres souches NDV malgaches analysées:

Souche	Code	Région	Statut	
			Clinique	Vaccin
APMV1/Chicken/MG/725C/2008	MG-725c/08	Mahitsy Madagascar	Poulet local sans signe clinique	NV*
APMV1/ Chicken/MG/1992	MG-1992	Ivato Madagascar	Poule pondeuse morte (signes nerveux)	La Sota
APMV1/Chicken/MG/39-4/2008	MG-39-04/08	Ivato Madagascar	Poulet de chaire mort	La Sota
APMV1/Chicken/MG/41-1/2008	MG-Meola/08	Tsarahonenana Madagascar	Poulet local de combat, malade (signes nerveux)	NV
APMV1/Mukteswar(Mada)/2008	Vacc-Muk- Mada	Madagascar	-	-

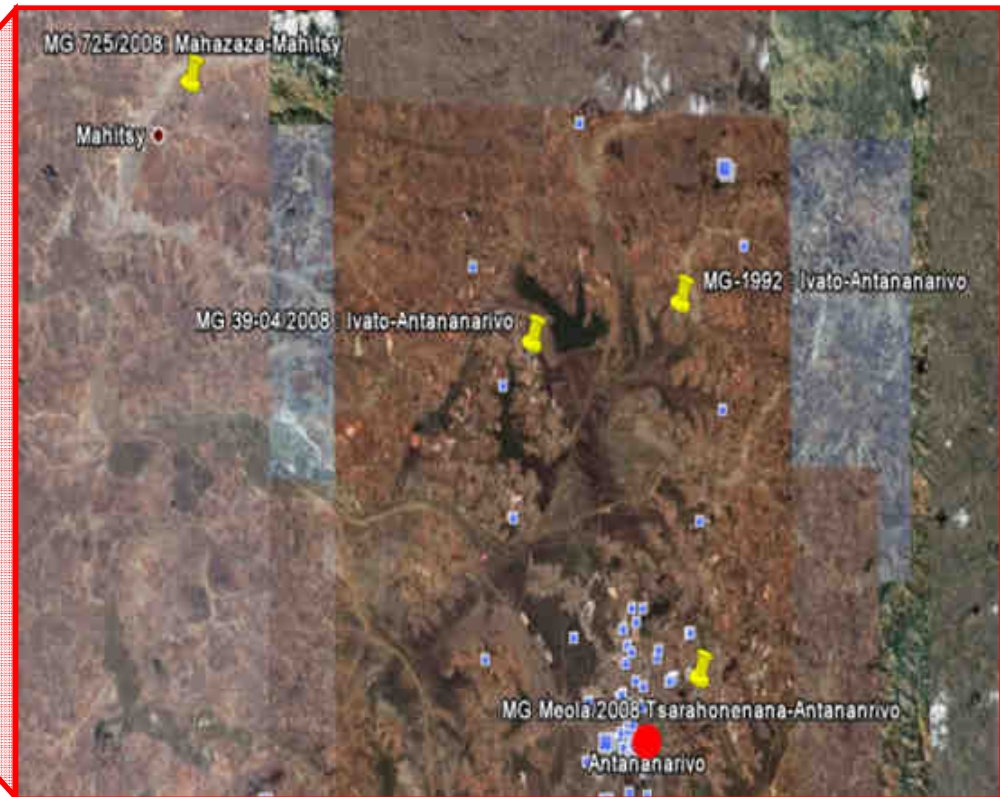
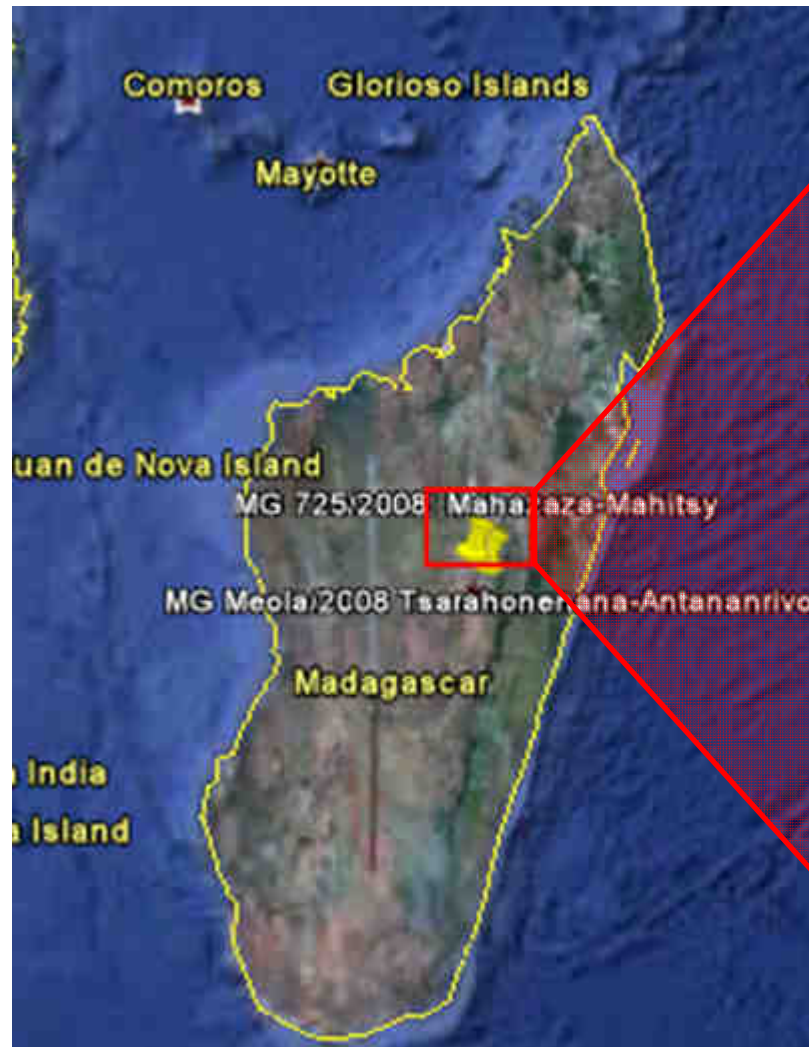
* Non-vacciné



Groupe MG

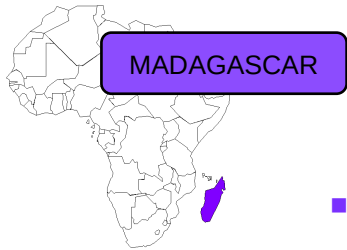


Groupe MG



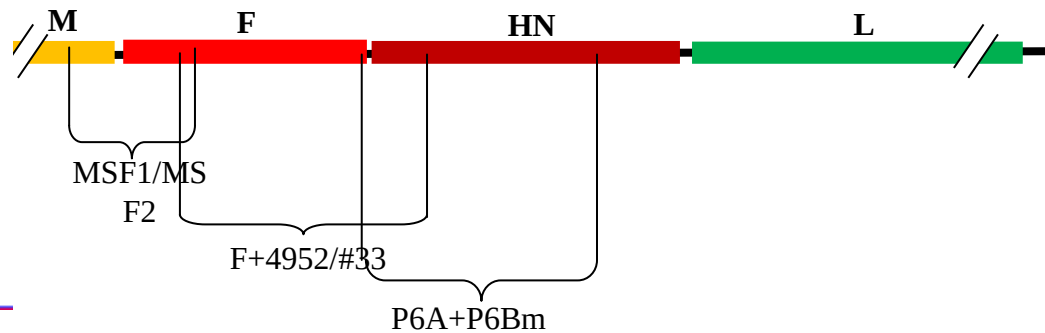
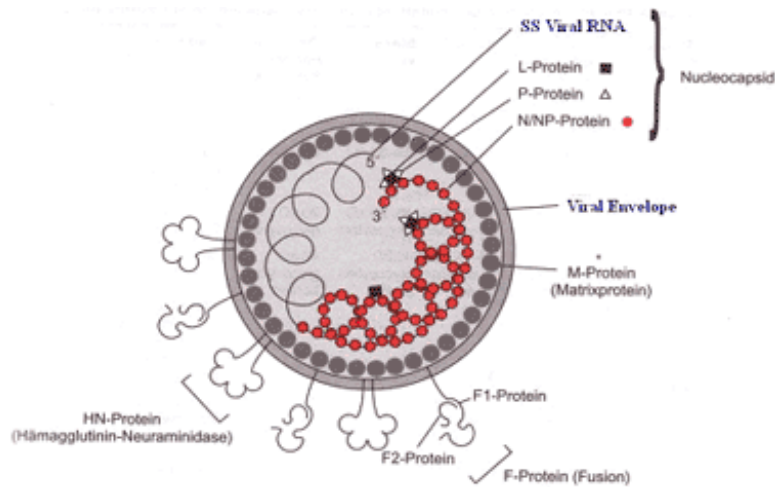


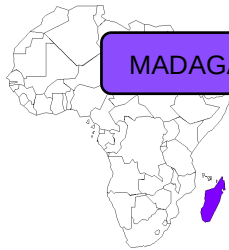
Protocole



Analyses virologiques

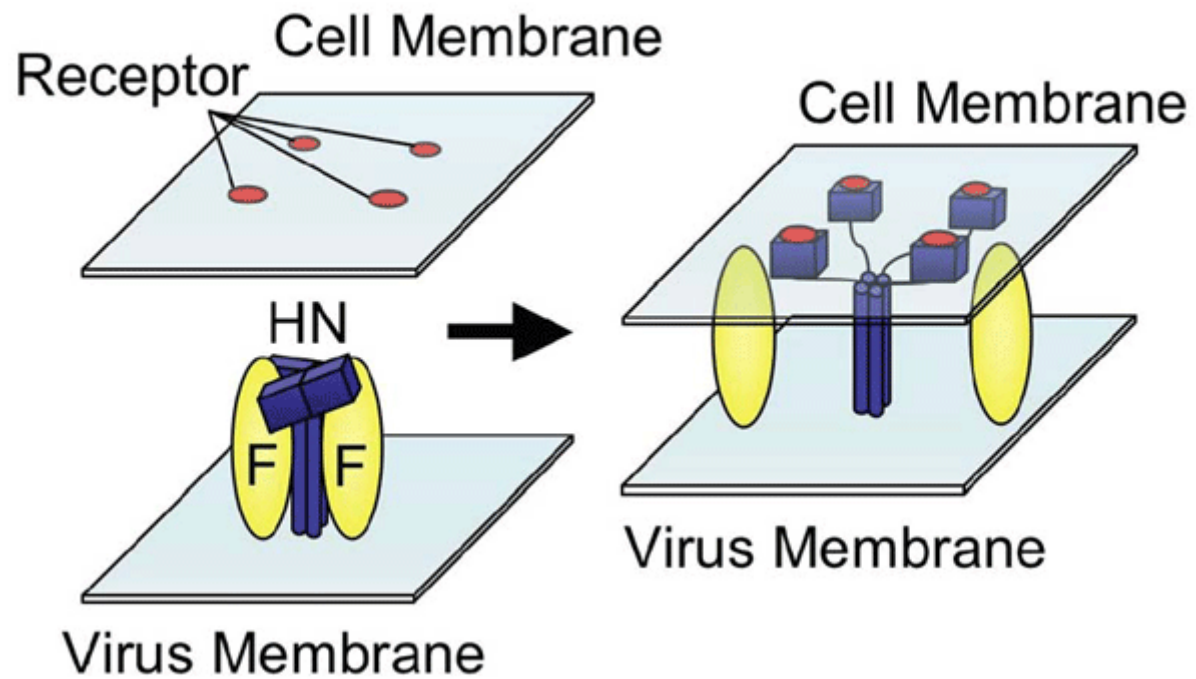
- Totalité des gènes F et HN séquencée et analysée
- Phylogénie sur 374nt du gène F et 1713nt du gène HN
 - séquences représentatives des génotypes
 - méthode *neighbour-joining*





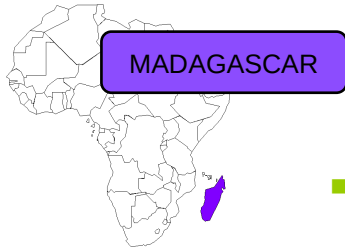
MADAGASCAR

Site de clivage de la protéine F



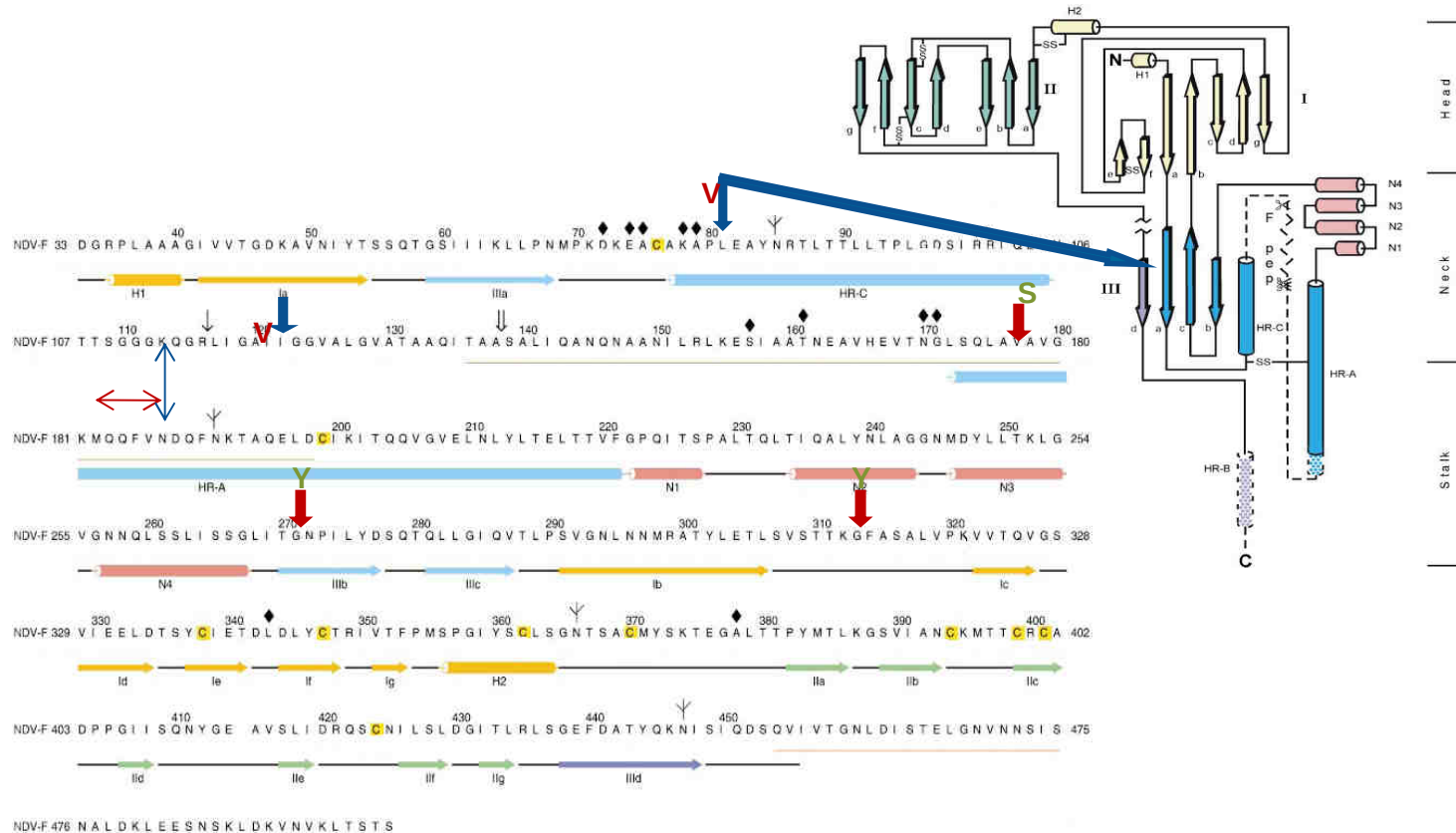


Résultats



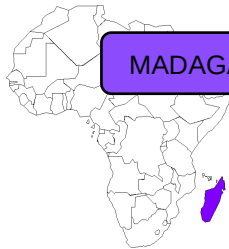
Analyse des séquences

- Pas d'insertion ou délétion dans les gènes F et HN
- Plusieurs points de mutations sur ces gènes





Résultats

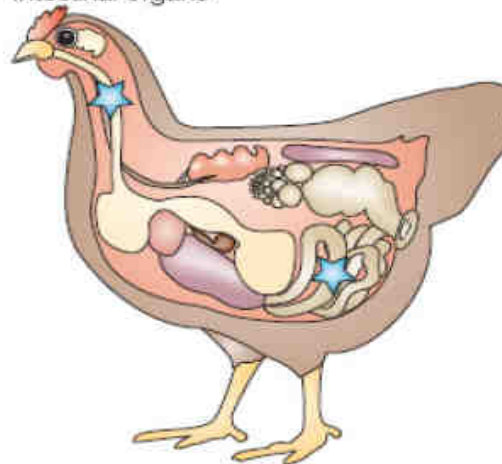


MADAGASCAR

Site de clivage de la protéine F

Lentogenic strains

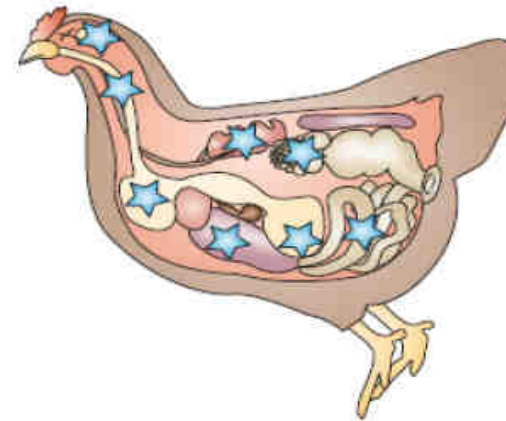
Proteases localized in respiratory and intestinal organs



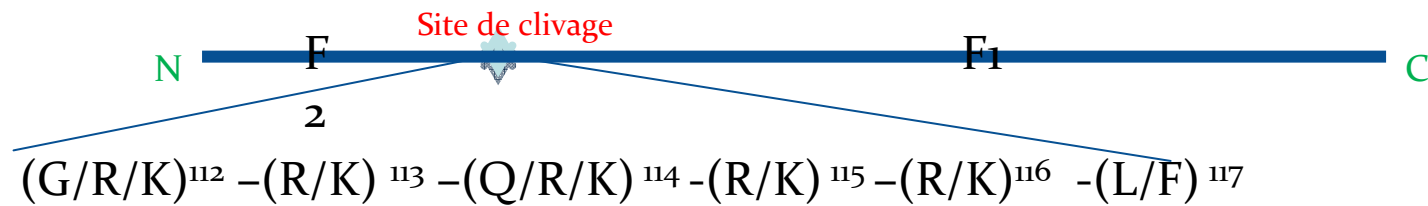
G-R-Q-G-R * L-V-G

Velogenic strains

Ubiquitous proteases

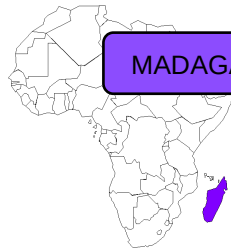


R-R-Q-R-R * F-I-G





Résultats



MADAGASCAR

Site de clivage de la protéine F

Souche (Génotype)

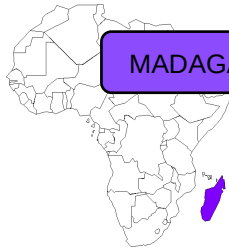
Site de clivage (112 à 119)

N° d'accèsion

• Cl1 DE R49/99	G-R-Q-G-R*L-V-G	DQ09739
• I NDVFPB	G-K-Q-G-R*L-I-G	M24693
• I PHY-LMV42/66 D	G-K-Q-G-R*L-I-G	Q097394
• II La sota	G-R-Q-G-R*L-I-G	AF077761
• II NDVFPG	R-R-Q-K-R*F-I-G	M24698
• III Sato	R-R-Q-R-R*F-I-G	AB070382
• III Mukteswar	R-R-Q-R-R*F-I-G	EF201805
• IV Herts/33	R-R-Q-R-R*F-I-G	AY741404
• IV NDVFA	R-R-Q-R-R*F-I-G	M17710
• V US(Largo)	R-R-Q-K-R*F-V-G	AY562990
• V US (CA)/211472/02	R-R-Q-K-R*F-V-G	AY562987
• VI Iraq AG68	R-R-Q-K-R*F-I-G	AF001108
• VI Sh-2/98	R-R-Q-K-R*F-I-G	AF458017
• VII Cockatoo/14698/90	R-R-Q-K-R*F-I-G	AY288998
• VII MZ 35/95	R-R-Q-K-R*F-I-G	AF136776
• VIII ZA17/90	R-R-R-K-R*F-I-G	AF136765
• VIII ZA606/UP/00	R-R-Q-K-R*F-I-G	AY210497
• IX F48E9	R-R-Q-R-R*F-I-G	AY508514
• IX TJ03	R-R-Q-R-R*F-I-G	DQ227244
• XTW C69-69-3-22	R-R-Q-K-R*F-I-G	AY372135
• NDV-MADA- F gene	R-R-R-R-R*F-V-G	



Résultats



MADAGASCAR

Site de clivage de la protéine F

Souche	Site de Clivage
chicken/MG/TA/725C/2008 ✓	112RRRRR↓F ^{V118}
chicken/MG/1992	112RRRRR↓F ^{V118}
chicken/MG/39-4/2008 ✓	112RRRRR↓F ^{V118}
chicken/MG/41-1/2008	112RRRRR↓F ^{V118}

F¹¹⁷

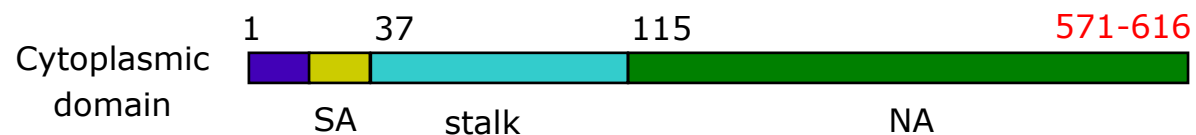
✓ Possible association aux
effets neurologiques
(Kattenberg et al., 2006)



Résultats



Taille de la protéine HN

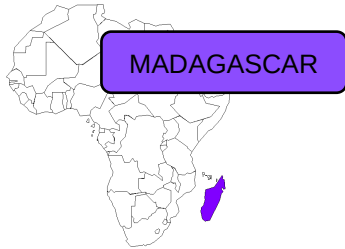


Souche	Protéine HN
chicken/MG/TA/725C/2008	571aa
chicken/MG/1992	571aa
chicken/MG/39-4/2008	571aa
chicken/MG/41-1/2008	571aa

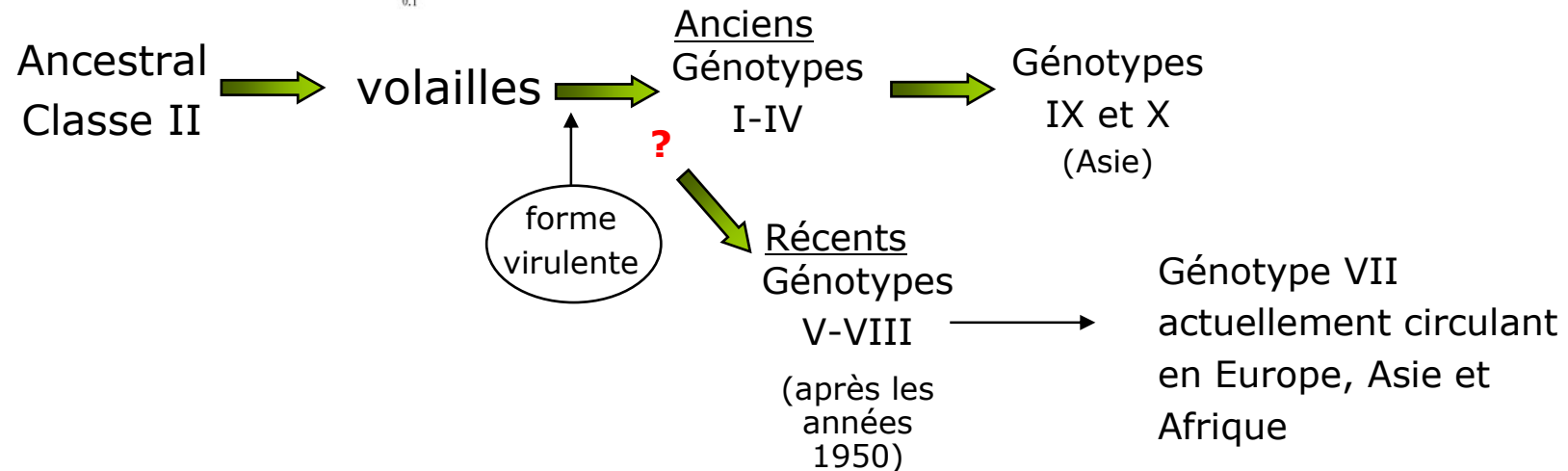
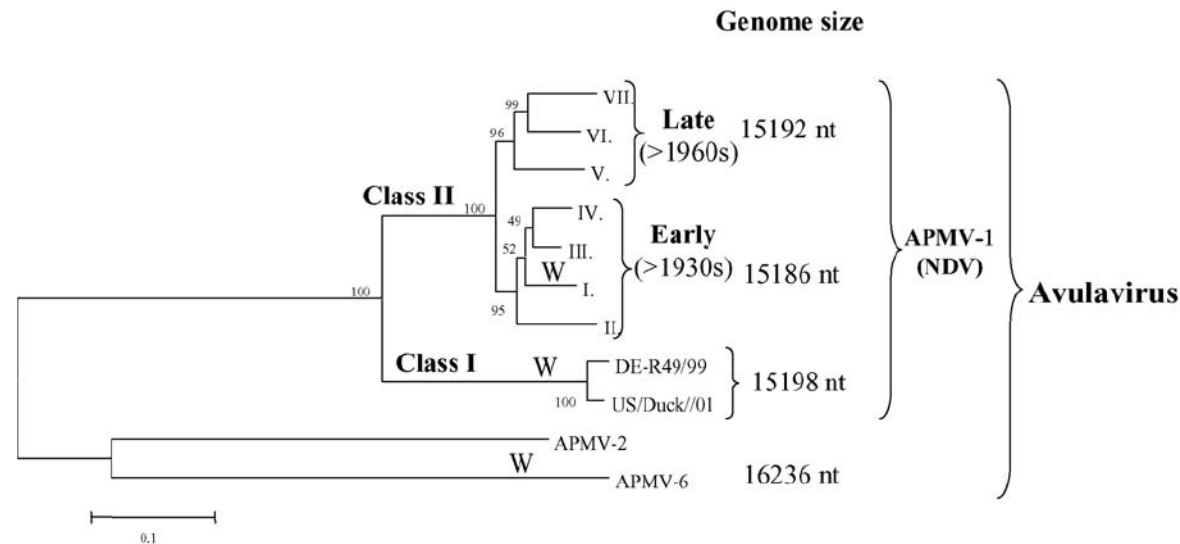
✓ Possible association au tropisme respiratoire et virulence (*Gould et al., 2003*)



Résultats

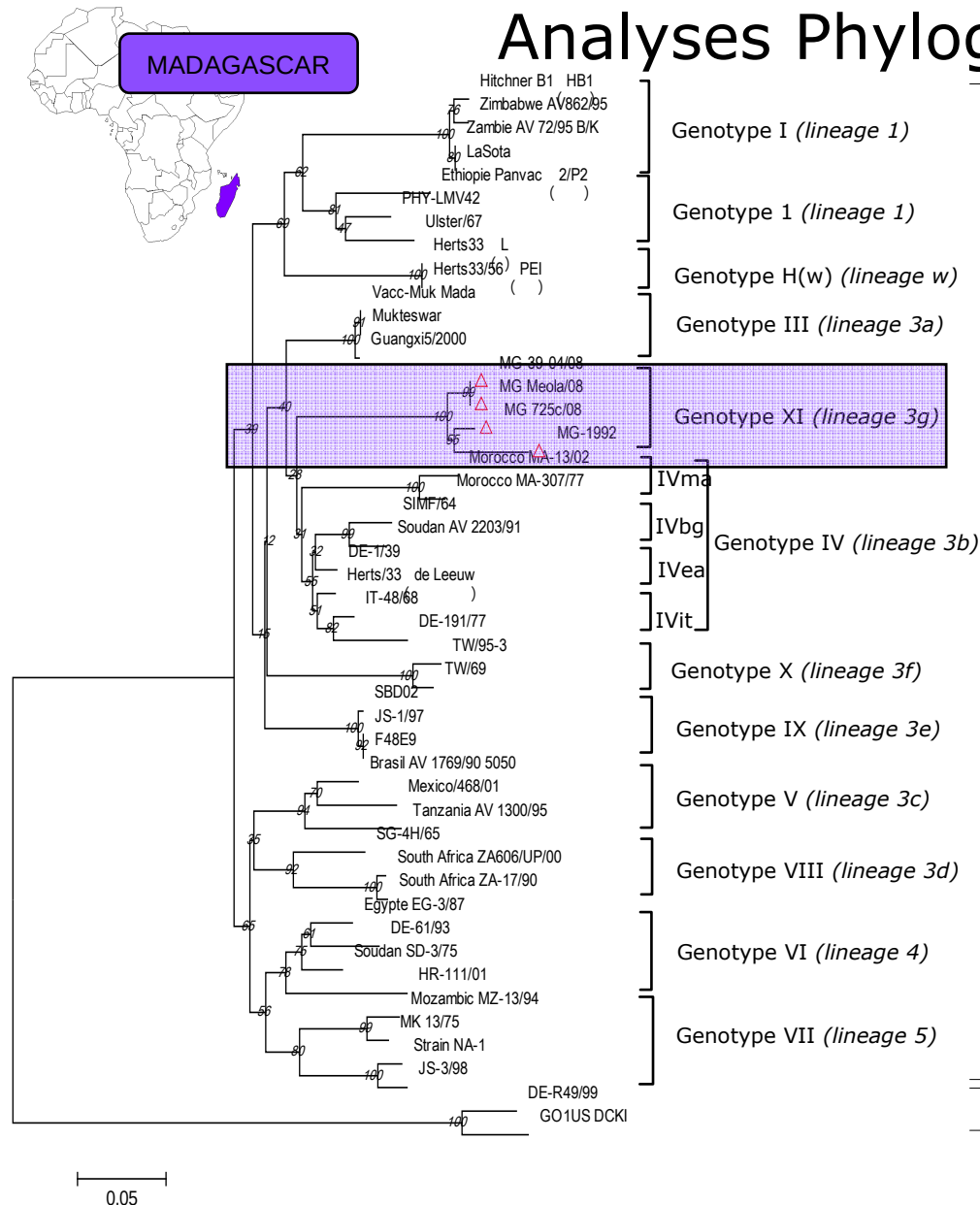


Analyses Phylogénétiques





Résultats



■ Groupe MG est proche des anciens génotypes

■ Proposition d'un nouveau génotype XI

■ Gène F: 374; gène HN: 1714

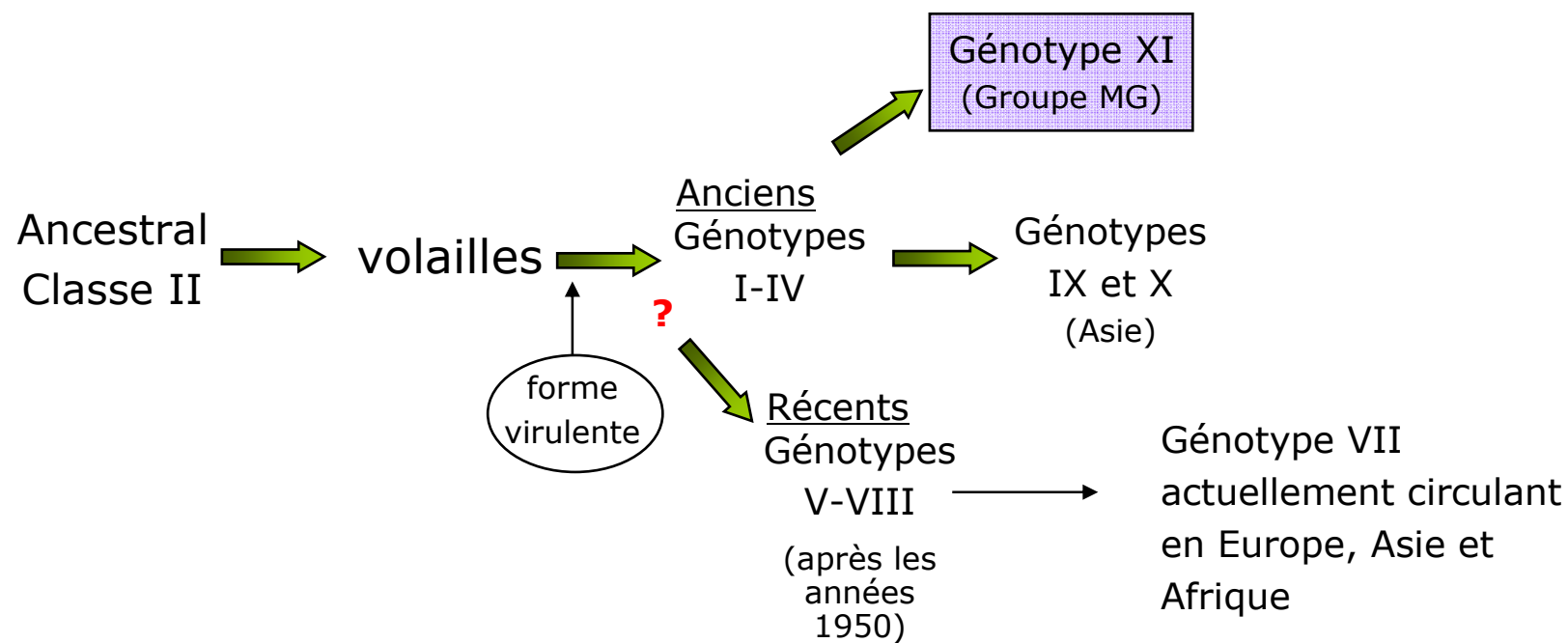
Class II



Résultats



Analyses Phylogénétiques





Conclusions

- Faible circulation de AIV et plus importante de NDV
- Détection similaire dans les prélèvements trachéaux et cloacaux
- Souches vélogenes
 - Site de clivage unique RRRRR*FVG
 - HN plus court, F¹¹⁷ (publiés), points de mutations originaux
- Proposition d'un nouveau génotype XI
 - Probablement originaire des anciens génotypes
 - Même profil phylogénétique trouvé en 1992 et 2008
 - Evolution particulière à Madagascar
- Une souche isolée d'un animal vacciné
 - Niveau insuffisant de protection croisée avec la souche vaccinal?
 - Vaccination mal faite
- Une souche isolée d'un animal en bonne santé et non vaccinée
 - Résistance local?



Perspectives

Pour la suite...

- Etude de l'évolution avec des échantillons prélevés dans les années à venir
 - D'autres profils ?
 - Espèces sauvages impliquées
- Etude de la virulence du groupe MG
 - Inoculations *in vivo* (en cours)
- Etude de protection des vaccins contre les souches du groupe MG



Publications

Vaccine 27 (2009) 3127–3129



Contents lists available at ScienceDirect

Vaccine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vaccine



Letter to the Editor

Africa, a reservoir of new virulent strains of Newcastle disease virus?

- Molecular characterization and phylogenetic analysis of Newcastle disease virus isolate in Madagascar from 1992 to 2008 (en finalisation)