

GRIPAVI
Observatoire Mauritanie GRIPAVI
2010

N. Gaidet et G. Balança

Cadre de recherche

Les activités de recherche en Mauritanie s'inscrivent dans la composante 1 « Ecologie et épidémiologie des virus de l'Influenza Aviaire » du projet Gripavi, et visent à améliorer la compréhension des processus de maintien et de diffusion des virus de l'influenza aviaire dans les communautés d'oiseaux sauvages des écosystèmes tropicaux (sous composante : interaction entre communautés d'oiseaux sauvages et populations de virus).

Chercheurs impliqués sur l'observatoire Mauritanie

CIRAD

Dr. Nicolas Gaidet, écologue

Dr. Gilles Balança, ornithologue

Patricia Gil, virologue

CNERV

Dr. Mamadou Lamine Dia, Directeur du CNERV

Dr Ahmed Bezeid OULD EL MAMY, chef du service de pathologie infectieuse du CNERV

PNBA

Yelli DIAWARA, responsable du suivi écologique du PNBA

Problématique

Le site d'étude de l'observatoire Mauritanie se situe dans le Parc National du Banc d'Arguin (PNBA) le long du littoral Atlantique. Cet écosystème côtier exceptionnel, baigné par des remontées d'eaux profondes, froides et riches en éléments nutritifs, accueille la plus importante concentration au monde d'oiseaux laro-limicoles non reproducteurs (e.g. goélands, petits échassiers). On estime à environ 2.250.000 le nombre de ces laro-limicoles migrateurs hivernant au PNBA, ce qui représente plus de 30% de l'effectif estimé des populations du paléarctique occidental.

Le PNBA constitue un carrefour de migrations des oiseaux d'eau entre l'Europe, l'Asie Septentrionale, et l'Afrique. Cette caractéristique unique du PNBA a orienté les questions de recherche vers l'étude du rôle potentiel des laro-limicoles migrateurs dans le maintien et la diffusion des virus IA entre le Paléarctique et l'Afrique tropicale.

Etat des lieux de l'Observatoire fin 2010

1) Mission de capture d'oiseaux sauvages et de prélèvement au Parc National du Banc d'Arguin – Mars 2010

Conformément au programme de travail, une mission d'étude de la prévalence des virus de l'influenza aviaire et de la maladie de Newcastle a été effectuée en mars 2010 dans les populations d'oiseaux migrateurs et résidents du Parc National du Banc d'Arguin (PNBA) et du Parc National du Diawling en collaboration avec le CNERV. Cette mission fait suite à la mission réalisée en novembre 2009. L'objectif de ces deux missions complémentaires était d'avoir deux mesures de la prévalence et de la séroprévalence chez ces oiseaux lors du même hivernage, pour évaluer (i) si ces oiseaux importent du virus dans le PNBA et (ii) s'ils maintiennent ce virus pendant leur hivernage au PNBA.

Un total de 2072 prélèvements (écouvillons cloacaux / trachéaux et sérums) ont été réalisés sur 1109 oiseaux (dont 1059 oiseaux sauvages et 50 oiseaux domestiques). Toutefois ces échantillons n'ont pu être envoyés en France pour analyse que mi décembre 2011 en raison d'un problème de renouvellement de certification de manipulation de produits « dangereux » à l'aéroport de Nouakchott. Entre temps les échantillons ont été stockés à -80°C dans le congélateur du laboratoire du CNERV à Nouakchott.

Les sérums collectés en Novembre 2009 et Mars 2010 ont toutefois pu être analysés au CNERV en 2010. Ces analyses révèlent de fortes séroprévalences d'anticorps de virus d'influenza aviaire chez deux espèces de limicoles, le bécasseau maubèche (84%) et le tournepierre à collier (48%), alors que la prévalence est très faible chez une espèce très voisine qui fréquente les mêmes habitats, le bécasseau variable (1%). Ces résultats sont voisins (pas de différence significative) avec ceux obtenus sur les mêmes espèces au cours des missions précédentes. Ces différences de séroprévalences entre espèces partageant le même lieu d'hivernage en Afrique sub-saharienne suggèrent une différence d'exposition aux virus influenza sur leur site de reproduction (qui sont distincts chez ces espèces). L'analyse des échantillons cloacaux, trachéaux et fécaux permettra d'en savoir davantage sur les transports de virus. Si les échantillons de mars 2010 peuvent être analysés au début de l'année 2011, une nouvelle mission de prélèvements pourrait être programmée en mars 2011 s'il s'avère nécessaire de confirmer les résultats précédents et pour isoler de nouvelles souches virales.

Tableau 1 : Bilan des oiseaux sauvages prélevés par méthodes de capture/collecte.

espèce	nom scientifique	méthode de capture/collecte					total
		filet vertical	filet projeté	nasse	Nœuds coulants	récolte de	
Aigrette des	<i>Egretta gularis</i>					62	62
Cormoran à	<i>Phalacrocorax</i>					52	52
Cormoran	<i>Phalacrocorax</i>					21	21
Pélican blanc	<i>Pelecanus</i>					100	100
Dendrocygne	<i>Dendrocygna</i>					150	150
Huitrier pie	<i>Haematopus</i>	1					1
Bécasseau	<i>Calidris alpina</i>	186					186
Bécasseau	<i>Calidris alba</i>	20	3				23
Bécasseau	<i>Calidris</i>	157					157
Bécasseau	<i>Calidris</i>	3					3
Barge rousse	<i>Limosa</i>	1					1
Chevalier	<i>Tringa totanus</i>	2					2
Tournepieuvre à	<i>Arenaria</i>	20	5	1	7		33
Goéland	<i>Larus genei</i>		99		1	94	194
Goéland brun	<i>Larus fuscus</i>					70	70
Mouette rieuse	Larus		3				3
Mouette à tête	Larus		1				1
total	18 espèces	390	111	1	8	549	1059

Tableau 2. Bilan des prélèvements d'échantillons biologiques collectés sur des populations d'oiseaux sauvages et domestique du PNBA et du PND en vue d'un diagnostic influenza aviaire et Newcastle.

espèce	nom scientifique	nombre de prélèvements					Total
		cloacal- g	cloacal- a	trachéal	sérum	fientes	
Aigrette des	<i>Egretta</i>					62	62
Cormoran à	<i>Phalacrocorax</i>					52	52
Cormoran	<i>Phalacrocorax</i>					21	21
Pélican blanc	<i>Pelecanus</i>					100	100
Dendrocygne	<i>Dendrocygna</i>					150	150
Huitrier pie	<i>Haematopus</i>	1		1			2
Bécasseau	<i>Calidris alpina</i>	177	2	178	125		482
Bécasseau	<i>Calidris alba</i>	23		23	19		65
Bécasseau	<i>Calidris</i>	154	40	154	151		499
Bécasseau	<i>Calidris</i>	3		3	2		8
Barge rousse	<i>Limosa</i>	1	1	1	1		4
Chevalier	<i>Tringa</i>	2	2	2			6
Tournepieuvre	<i>Arenaria</i>	33	3	33	28		97
Goéland railleur	<i>Larus genei</i>	101	41	101	5	94	342
Goéland brun	<i>Larus fuscus</i>					70	70
Mouette rieuse	Larus	3	3	3			9
Mouette à tête	Larus	1	1	1			3
Poule	<i>Gallus gallus</i>	50		50			100
total		549	93	550	331	549	2072

2) Collaboration France – Brésil : Développement d'une approche comparative de l'épidémiologie des virus de l'influenza aviaire et de la maladie de Newcastle entre les écosystèmes humides du Brésil et d'Afrique sub-saharienne

Une équipe de l'Instituto de Ciências Biomedicas de l'Université de Sao Paulo (USP) au Brésil réalise depuis plusieurs années des études similaires à celles réalisées par le Cirad et ses partenaires dans le cadre du projet Gripavi en Afrique sub-saharienne. Ces études sont effectuées dans des agro-écosystèmes comparables, où les oiseaux d'eau sauvages et domestiques cohabitent. Ces travaux sont réalisés comme pour le projet Gripavi par des équipes d'ornithologues et de virologues travaillant en tandem sur le terrain pour la capture des oiseaux sauvages et la réalisation de prélèvements.

L'intérêt commun d'une collaboration entre ces deux équipes a conduit à l'accueil d'un agent du Cirad (N. Gaidet, action incitative-Cirad) lors d'une mission de terrain de l'USP au Brésil en novembre 2008. La volonté de collaboration entre ces équipes s'est traduite par l'accueil d'une étudiante de l'USP, Renata Ferreira Hurtado, au cours de cette mission de terrain au PNBA en mars 2010.

Cette opération conjointe a permis :

- Un partage d'expériences techniques sur le terrain et un échange de connaissances scientifiques entre les deux équipes.
- La mise en cohérence des outils et des méthodes de suivi virologique, épidémiologique et écologique entre les observatoires du Brésil et d'Afrique sub-saharienne.
- La concrétisation de la volonté de collaboration entre ces deux équipes, se traduisant à court terme par la possibilité de publications scientifiques communes, et à moyen terme par le montage de projets de recherche communs.

3) Formation au diagnostic moléculaire pour la détection des virus aviaires par RT-PCR en temps réel - Avril 2010

Dans le cadre du renforcement des capacités de diagnostic pour cette lutte, l'AIEA a équipé de nombreux laboratoires africains d'un appareil à RT-PCR en temps réel. C'est le cas du Laboratoire Central National d'Élevage et de Recherche Vétérinaire (CNERV) de Nouakchott en Mauritanie, équipé depuis fin 2008. Pour s'assurer du niveau d'expertise sur les techniques de diagnostic, un essai inter laboratoires d'aptitude (EILA) a été mis en place par le CIRAD sur une base annuelle. Trois personnes du laboratoire du CNERV ont bénéficié d'une semaine de formation au Cirad en juin 2009. Il semblait toutefois nécessaire de compléter cette formation *in situ* afin d'évaluer les capacités d'analyse du laboratoire et pour permettre à l'équipe de réaliser dans le futur les analyses au sein de leur laboratoire.

Le laboratoire ayant reçu une semaine avant la formation, le panel de l'essai inter laboratoire réalisé en 2009, l'objectif de cette mission était de :

- ✓ Faire une démonstration pratique d'extraction d'ARN, de préparation des différents Mix de RT-PCR (détection du gène M- Influenza, sous type H5 et H7 et détection du gène F du virus Newcastle) en respectant les consignes qui permettent d'éviter toute contamination
- ✓ De se familiariser avec la préparation des différents mix de RRT-PCR
- ✓ De se familiariser avec le logiciel de la machine PCR en temps réel et d'analyser les différents échantillons.
- ✓ De faire pratiquer les personnes qui seront en charge du diagnostic moléculaire, surtout dans la manipulation du logiciel de real-time PCR et dans l'interprétation des résultats.
- ✓ De faire un test ELISA de détection des Anticorps Influenza A à l'aide du kit IDSCREEN (kit recommandé pour la détection d'Anticorps Influenza chez les oiseaux sauvages)
- ✓ La semaine de formation a été essentiellement centrée sur le diagnostic moléculaire par la PCR en temps réel avec comme objectif final que les participants soient capables d'établir un diagnostic Influenza type A, sous type H5 ou H7 ainsi que la détection du virus de la Newcastle.

La formation a été délivrée au CNERV, plus particulièrement dans l'unité de virologie, cette unité est composée de 3 personnes : Mr Bezeid (responsable de l'unité), Me Ekaterina Issemou (personne au laboratoire qui est essentiellement en charge des analyses sérologiques et virologiques) et Mr Sow Doro. Ont participé a cette formation en plus de Bezeid et de Ekaterina Isselmou 2 personnes de l'unité de Parasitologie : Mr Barry Yahya et Mr Ba Alio Demba.

Résultats des analyses virologiques des échantillons prélevés en Mauritanie en 2009 dans le cadre du Projet GRIPAVI

Une mission d'étude de la prévalence des virus de l'influenza aviaire et de la maladie de Newcastle dans les populations d'oiseaux migrateurs et résidents du Parc National du Banc d'Arguin (PNBA) a été effectuée en novembre 2009 dans le cadre du programme de recherche du projet « Ecologie et Epidémiologie de la grippe aviaire dans les pays du Sud (GRIPAVI) ». Des prélèvements (écouvillons cloacaux, trachéaux ou fécaux) ont été réalisés sur un total de 648 oiseaux sauvages. De plus, des prélèvements ont été faits sur 58 poules en août 2009 et 29 poules en novembre 2009 dans les villages proches du PNBA. Les 1227 échantillons ont été analysés au laboratoire du CIRAD à Montpellier.

Parmi les échantillons analysés, 49 ont été trouvés positifs pour le virus de la maladie de Newcastle (VMN) (dont 28 prélèvements cloacaux, 10 prélèvements trachéaux, 11 prélèvements fécaux). Ces oiseaux positifs appartiennent à neuf espèces différentes d'oiseaux sauvages et une espèce d'oiseau domestique. Des profils de souches VMN vélogènes et lentogènes ont été détectés sur quatre de ces espèces : Bécasseau variable *Calidris alpina*, Bécasseau sanderling *Calidris alba*, Goéland railleur *Larus genei* et Tournepierrre à collier *Arenaria interpres*. Cette deuxième campagne de prélèvements en Mauritanie montre une prévalence de VMN de 6,4% sur le total d'oiseaux sauvages testés (4,1% sur le total d'échantillons) et 6,9% sur le total d'oiseaux domestiques testés (3,5% sur le total d'échantillons). *Aucun échantillon n'a été trouvé positif pour l'influenza aviaire.*

Bilan des diagnostics pour la détection des virus de la maladie de Newcastle dans les échantillons collectés sur des oiseaux sauvages et domestiques du PNBA - Mauritanie.

Espèce	ind traités	% ind positifs	éch cloacaux analysés	éch cloacaux positifs	éch trachéaux analysés	éch trachéaux positifs	éch fécaux analysés	éch fécaux positifs	total éch analysés	total éch positifs
Huitrier pie	1	0,0%	1	0	1	0			2	0
Pluvier argenté	3	0,0%	3	0	3	0			6	0
Pluvier grand-gravelot	3	0,0%	3	0	3	0			6	0
Bécasseau maubèche	100	3,0%	100	3	87	0			187	3
Bécasseau sanderling	6	33,3%	6	2	6	1			12	3
Bécasseau cocorli	5	20,0%	5	1	5	0			10	1
Bécasseau variable	269	7,8%	259	15	268	7			527	22
Barge rousse	21	9,5%	21	0	21	2			42	2
Chevalier gambette	8	0,0%	8	0	8	0			16	0
Tournepierre à collier	5	0,0%	5	0	5	0			10	0
Goéland railleur	13	7,7%	13	1	12	0			25	1
Pélican blanc	37	2,7%					37	1	37	1
Cormoran	99	6,1%					99	6	99	6
Goéland brun	62	6,5%					62	4	62	4
Goéland railleur	10	0,0%					13	0	13	0
total oiseaux sauvages	642	6,4%	424	22	419	10	211	11	1054	43
poules août 2009	58	10,3%	58	6	58	0			116	6
poules nov 2009	29	0,0%	29	0	28	0			57	0
total poules	87	6,9%	87	6	86	0			173	6
total général	729	6,4%	511	28	505	10	211	11	1227	49

**Résultats des analyses virologiques des échantillons prélevés en Mauritanie
en 2008 dans le cadre du Projet GRIPAVI**

Une mission d'étude de la prévalence des virus de l'influenza aviaire et de la Newcastle dans les populations d'oiseaux migrateurs et résidents du Parc National du Banc d'Arguin (PNBA) a été effectuée en Avril 2008 dans le cadre du programme de recherche du projet « Ecologie et Epidémiologie de la grippe aviaire dans les pays du Sud (GRIPAVI) ». Des prélèvements (écouvillons cloacaux / trachéaux) ont été réalisés sur un total de 394 oiseaux (dont 366 oiseaux sauvages et 28 oiseaux domestiques). Les 788 échantillons ont été analysés aux laboratoires du CIRAD à Montpellier.

Parmi les 788 échantillons analysés, un échantillon a été trouvé positif pour le virus de l'Influenza Aviaire (VIA) de type A par real time RT-PCR (gène M). Cet échantillon de type A positif a été diagnostiqué comme négatif pour le sous type H5 et H7 (RT-PCR H5 et H7). Vingt six échantillons provenant de 26 oiseaux ont été trouvés positifs pour le virus de la maladie de Newcastle (VMN) (dont 14 prélèvements trachéaux et 12 prélèvements cloacaux). Ces oiseaux positifs appartiennent à 3 espèces différentes d'oiseaux sauvages et 1 espèce d'oiseau domestique. Des profils de souches VMN vélogènes et lentogènes ont été détectés au moins dans 2 de ces espèces. Cette première campagne de prélèvements sur la Mauritanie montre une prévalence de VIA de 0,25% sur le total d'oiseaux testés (0,12% sur le total d'échantillons) et 6,5% de VMN sur le total d'oiseaux testés (3,25% sur le total d'échantillons).

Après 3 passages sur œufs embryonnés, aucun isolement viral n'a pu être obtenu sur ces échantillons. Quelques hypothèses concernant cet échec peuvent être évoquées comme : l'adaptation nécessaire des virus originaires des oiseaux sauvages aux œufs de poule ; la faible charge virale suggérée par les valeurs de Ct élevées en RRT-PCR ou le problème de stockage de ces échantillons pendant la campagne de prélèvements sur le terrain.

Bilan des diagnostics pour la détection des virus a) de l'influenza aviaire et b) de la maladie de Newcastle des échantillons biologiques collectés sur des populations d'oiseaux sauvages et domestiques du Parc National du Banc d'Arguin - Mauritanie.

a)

Espèce	Nom scient.	Cloacal	Cl.	Trachéal	Tr.	Total	Tot.
Bécasseau	<i>Calidris alpina</i>	121	0	121	0	242	0
Tourne-	<i>Arenaria</i>	98	0	98	0	196	0
Oedicnème	<i>Burhinus</i>	1	0	1	0	2	0
Goéland	<i>Larus genei</i>	141	1*	141	0	282	1
Goéland	<i>Larus fuscus</i>	1	0	1	0	2	0
Mouette à	<i>Larus</i>	4	0	4	0	8	0
Poule	<i>Gallus gallus</i>	22	0	22	0	44	0
Canard de	<i>Cairina</i>	6	0	6	0	12	0
Total		394	1	394	0	788	1

* type A positif par real time RT-PCR sur gène M, negative . Cet échantillon de type A positif a été diagnostiqué comme négatif pour le sous type H5 et H7 (RT-PCR H5 et H7).

b)

Espèce	Nom scient.	Cloac	Cl.	Trach	Tr.	Tot	Tot.
Bécasseau	<i>Calidris alpina</i>	121	1	121	0	242	1
Tourne-pierre	<i>Arenaria</i>	98	3	98	5	196	8
Oedicnème	<i>Burhinus</i>	1	0	1	0	2	0
Goéland	<i>Larus genei</i>	141	7	141	9	282	16
Goéland brun	<i>Larus fuscus</i>	1	0	1	0	2	0
Mouette à tête	<i>Larus</i>	4	0	4	0	8	0
Poule	<i>Gallus gallus</i>	22	0	22	0	44	0
Canard de	<i>Cairina</i>	6	1	6	0	12	1
Total		394	12	394	14	788	26