Contribution à l'analyse du risque de survenue d'une épizootie d'Influenza Aviaire en Dombes

Delphine Doctrinal

▶ **To cite this version:**

Delphine Doctrinal. Contribution à l'analyse du risque de survenue d'une épizootie d'Influenza Aviaire en Dombes. Autre [q-bio.OT]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2009. Français. NNT : . tel-00448310

HAL Id: tel-00448310

https://theses.hal.science/tel-00448310

Submitted on 18 Jan 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
SCIENCES. TECHNOLOGIE. MEDECINE. GRENOBLE - ALPES

THESE

Présentée à l'Université des Sciences des Technologies et de la Santé de Grenoble pour obtenir le diplôme de Doctorat

Ecole Doctorale de l'Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement
Spécialisation : Modélisation des Systèmes Vivants

Contribution à l'analyse du risque de survenue d'une épizootie d'Influenza Aviaire en Dombes

Par

Delphine DOCTRINAL-CRETON

Soutenue publiquement le 30 Septembre 2009

Membres du jury
Président du Jury :
M. Emmanuel Drouet
Rapporteurs :
M. Vittorio Guberti
M. Michel Gauthier-Clerc
Examinateurs :
Sylvie Van der Werf
Directeurs de thèse :
M. Marc Artois
M. Dominique J. Bicout

Avant propos

Ce travail de thèse a été encadré par Marc Artois, épidémiologiste et Dominique Bicout, physicien modélisateur à L'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. Je tiens à remercier Marc pour son optimisme et son soutien permanent même dans les moments difficiles où le doute s'installe. Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mes remerciements chaleureux à Dominique Bicout sans qui mon travail n'aurait pu aboutir. Sa conception de l'encadrement « responsable » reste pour moi un exemple en la matière…

Merci donc à ces deux personnes qui m'ont transmis leur savoir que j'espère pouvoir exploiter comme je leur dois.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont accepté de se pencher sur ce travail et de se réunir aujourd'hui pour le juger :

- les rapporteurs Vittorio Guberti (FAO) et Michel Gauthier-Clerc (Station Biologique de la Tour du Valat),
- le membre invité, Sylvie Van Der Werf (Institut Pasteur de Paris)
- le président du jury

Je remercie pour leur soutien financier la Région Rhône Alpes (à l'origine de notre allocation de recherche) et l'ONCFS (à l'origine du financement des activités de recherche sur la santé de la faune sauvage dans le cadre de la convention ONCFS/ENVL).

Mon travail de thèse a été réalisé dans la même unité que mon Master 2 soit l'Unité Biomathématiques et Epidémiologie (EPSP-TIMC) dirigée par Philippe Sabatier. Je tiens donc à remercier tous les membres de cette unité devenue au fil des ans comme une seconde « famille ».

En premier lieu, Philippe pour son accueil chaleureux, ses conseils pertinents quant à l'avenir et son aide dans le labyrinthe administratif et logistique qu'est une thèse de troisième cycle.

Je tiens ensuite à remercier Karine Chalvet-Monfray pour avoir accepter de partager quelques mètres carré avec moi mais aussi et surtout bien plus que ça…

Je n'oublie pas évidemment Fereshteh Firouzi et Martine Meyer pour leur aide et leurs « pauses café ».

Une pensée spéciale pour mes prédécesseurs qui roulent maintenant leur bosse dans les hautes sphères de la recherche… Thomas Balenghien (le plus ch'ti des montpelliérains) et Elsa Jourdain (la plus savoyarde des suédois-auvergnats) ainsi que pour une française de l'autre bord, Antoinette Ludwig au parcours parallèle.

Enfin, je veux remercier tous ceux qui ont contribué à ce travail, merci pour leur investissement dans le projet.

En premier lieu les partenaires de terrain qui ont permis la réalisation de la campagne de prélèvements durant l'hiver 2005-2006 : Eric Bureau et le personnel du Parc des Oiseaux de Villars les Dombes, Benoît Castanier et le personnel de la Fondation Pierre VEROTS, les chasseurs de la Fédération de chasse de l'Ain. En particulier un énorme merci à Jean Pierre Mas, vétérinaire et chasseur émérite à Villars les Dombes.

Une pensée toute particulière et un énorme merci aussi à Ingrid Durand, docteur vétérinaire sans qui toute cette campagne n'aurait jamais été aussi intéressante. J'espère que nos chemins se recroiseront un jour. Merci d'avoir été une personne sur qui je puisse autant compter.

En second lieu tous les acteurs de laboratoires qui se sont investis dans l'exploitation des prélèvements et notamment :

M Baroux et le personnel du Laboratoire Vétérinaire Départemental de l'Ain pour les analyses sérologiques

Mme Van der Werf et tout le personnel (particulièrement Jean Thierry Aubin, Chang Chung Ming, Patricia Jeanin, Viviane Grandhomme) de l'Unité de Recherche sur les Virus Respiratoires de l'Institut Pasteur de Paris.

Enfin, toutes les personnes qui ont facilité l'accès aux données environnementales notamment à la DSV de l'Ain, Mme la Directrice, Catherine Dupuy, Régis Corbin et à la DDA de l'Ain, Michaël Delorme. Je n'oublie pas Eric Plouzeau vétérinaire directeur du parc zoologique de la Tête d'Or à Lyon, Gilbert Gault vétérinaire de la municipalité de Lyon et Michel Prave professeur de pathologie infectieuse de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

En dehors de toutes ces personnes, il y a ceux que je veux remercier simplement parce qu'ils sont ma raison d'être là où je suis aujourd'hui : mon mari, mes fils, ma famille, l'équipe de la clinique Fauriel, plus particulièrement Anne et Ghislaine et mes ami(e)s. Merci à vous tous et toutes d'être dans ma vie.

Table des matières

Avant propos **5**

Introduction : ***15***

L' Influenza Aviaire Hautement Pathogène ces dix dernières années ***15***

1 L' Influenza aviaire **17**

2 La carte d'identité des virus Influenza **20**

3 Variabilité des virus Influenza **21**

4 Situation internationale **25**

4.1 Hong Kong 1997 et 2001 25

4.2 L'extension asiatique de 2001 à 2005 25

5 L'année 2005 **28**

5.1 Introduction 28

5.2 De Janvier à Avril 2005 28

5.3 De Mai à Décembre 2005 29

6 Situation et état des connaissances en France jusqu'en 2005-2006 **30**

7 Une année particulière, l'année 2006 **31**

8 Rôle épidémiologique des oiseaux **35**

8.1 Les caractéristiques écologiques du comportement aviaire 35

8.2 Les espèces concernées 37

8.3 Variabilité géographique 37

8.4 Variabilité intra-saisonnière 37

8.5 Variabilité inter-saisonnière 38

8.6 Distribution des différents sous-types 38

8.7 Persistance et survie des virus Influenza 39

8.8 Transmission aux populations cibles 39

9 Synthèse **40**

Première partie: *45*

Epidémiologie analytique de l'Influenza Aviaire *45*

1 Terrain d'études **47**

2 Enquête écologique : variabilité de la prévalence des souches IA dans l'avifaune sauvage **47**

3 Estimation des principaux paramètres épidémiologique de l'épizootie de 2006 en Dombes **65**

3.1 Matériel et méthodes 65

3.2 Résultats 66

3.3 Discussion 67

4 Analyse spatio-temporelle de l'épizootie de 2006 en Dombes **68**

5 Discussion sur la première partie **82**

Deuxième partie: *87*

Epidémiologie synthétique de l'Influenza Aviaire *87*

1 Intérêt de la modélisation pour l'évaluation du risque **89**

2 Modélisation de la propagation des virus IA dans différents types de populations sauvages réceptives **92**

2.1 Matériel et méthodes 92

2.2 Résultats, discussion 93

3 Circulation des virus Influenza dans une population « source » et estimation de l'exposition de la population « cible » **99**

4 Estimation des contacts entre avifaune sauvage et domestique en Dombes **112**

5 Application du modèle d'exposition à partir des données de l'épizootie de 2006 **126**

5.1 Matériel et méthodes 126

5.2 Résultats, discussion 127

5.3 Conclusion 130

Discussion, conclusion générale *132*

1 Résultats acquis **134**

2 Discussion sur les méthodes utilisées 136
2.1 Méthodes d'enquête 136
2.2 Méthodes d'analyse virologique 137
2.3 Discussion sur la démarche d'analyse de risque 137
3 Discussion sur le rôle de l'avifaune sauvage 138
3.1 La source 138
3.2 Préservation et persistance 140
3.3 La dispersion des virus influenza par les oiseaux 141
3.4 La transmission à la volaille par les oiseaux sauvages 141
4 Perspectives et conclusion 138
Références 144

Table des figures

Figure 1: Image au microscope électronique de virus Influenza type A 21

Figure 2 : Carte des foyers Influenza Aviaire Hautement Pathogène entre Décembre 2003 et Janvier 2005 (source EMPRES) 28

Figure 3 : Dissémination occidentale des foyers de H5N1 Hautement Pathogène de Juin à Décembre 2005 (source OIE) 29

Figure 4 : Cartographie des foyers européens de H5N1 Hautement Pathogène entre le 1er Janvier et le 28 Février 2006. (source OIE) 31

Figure 5: Schéma conceptuel de la circulation des virus Influenza Aviaire dans les différentes populations hôtes. 41

Figure 6 : Dynamique d'infection par le virus H5N1 des étangs en Dombes en 2006. 67

Figure 7 : Schéma conceptuel du modèle SEIR de dynamique d'Influenza aviaire au sein d'une population constante 92

Figure 8: Proportions d'individus infectés dans une population. 98

Figure 9: Proportions du nombre de morts cumulé au cours d'une épizootie d'Influenza Aviaire. 98

Figure 10: Comparaison du risque de contact avec une zone de dispersion de 5 km de rayon autour des étangs infectés. 129

Table des tableaux

Tableau 1: Tableau récapitulatif des foyers d'H5N1 HP déclarés à l'OIE au cours de l'année 2005 **30**

Tableau 2: Paramètres du modèle. Les paramètres n_0, N_s et R_0 sont considérés comme des paramètres caractérisant l'épizootie. **66**

Tableau 3: Nombre d'élevages à risque de contact élevé en fonction des paramètres suivants : poids attribué à l'élevage (b_{elv}), poids attribué à l'environnement (b_{env}=1-b_{elv}) , nombres d'étangs infectés. **130**

Introduction :

L’ Influenza Aviaire Hautement Pathogène ces dix dernières années

1 L’ Influenza aviaire

L’Influenza aviaire est une maladie déjà bien connue dans l’Antiquité. Il est cependant difficile de dater précisément les premières descriptions de la maladie. En effet, jusqu’au 20ème siècle, les volailles avaient moins de valeur que les autres productions animales, leurs maladies ne faisaient donc l’objet que de très peu d’attention et les descriptions des tableaux cliniques étaient trop imprécises pour pouvoir incriminer telle ou telle pathologie. Rappelons tout de même à la décharge de nos anciens que même actuellement, il faut encore plusieurs jours au laboratoire pour porter un diagnostic de certitude lors d’un épisode d’Influenza Aviaire. Force est donc de s’en tenir à l’histoire des « pestes » c'est-à-dire à des épisodes de mortalité massive d’oiseaux (Blancou 2000).

Parmi les plus significatives, nous pouvons citer :

- dans l’**Antiquité** : mortalité concomitante du bétail, de l’homme et des oiseaux en 1200 av.J.-C., en 430 av.J.-C., (« Peste d’Athènes »), en 218 av.J.-C., en 43 av.J.-C. (décrite par Virgile)(Blancou 2000);
- en **671** : mortalité massive de différentes volailles en Angleterre ;
- en **1286** : mortalité subite des oiseaux sur tout le territoire autrichien, « les oiseaux petits et grands tombaient morts (...) et c’est à peine si l’on pouvait encore voir une pie, une corneille ou un autre oiseau » écrit un chroniqueur de Magdeburg ;
- en 1**578** : épizootie frappant les poules à Paris ;
- en **1614** : épidémie mortelle chez les hommes en Bohème, contemporaine d’une épizootie chez les poules qui « se réunissaient à 6 ou 7, mettaient les têtes ensembles, tombaient à terre et mouraient »(Heusinger 1853);
- en **1656** : « énorme mortalité de pélicans aux Antilles »(Heusinger 1853);
- en **1714** : les pigeons de Paris sont atteints de « petite vérole » et on ordonne leur abattage général « parce qu’on croyait qu’ils transportaient le virus chez les hommes et les brebis » (Heusinger 1853);
- de **1718 à 1721** : les oies sont particulièrement touchées en 1718 et 1719 en Silésie et la maladie s’étend aux cigognes en 1721 ;
- en **1769** : mortalité générale des oies dans le Hanovre ;
- en **1774** : selon la Gazette de la santé (février), 600 oies seraient mortes aux bords de la Meurthe en Lorraine, après avoir présenté des symptômes de diarrhée et des vertiges ;

- en **1789** : épizootie grave chez les poules en Italie du Nord (Heusinger 1853). Les symptômes décrits sont ceux d'une maladie infectieuse, les lésions affectant les appareils respiratoire et digestif ;
- de **1830 à 1831** : série d'épisodes de mortalité aviaire (attribuée au choléra humain) dans toute l'Europe. Les cas les plus graves commencent dans le Duché de Poznen en Pologne. Une excellente description en est faite (Heusinger 1853): « les premières attaquées furent, en général, les oies, puis les canards et les dindons, les dernières les poules. Il y en avait qui avaient la diarrhée, ils commençaient à boiter (…) ne purent plus marcher, se reposaient sans pouvoir se relever (…) et moururent subitement (…) ; on dit que la maladie s'est également montrée sur les canards sauvages du lac de Golpo ». En 1831, la maladie est observée en Moravie et en Silésie : « les poules, les canards et les oies furent subitement attaquées (..), devinrent tristes, ne mangèrent plus, la tête s'enfla, devint bleue et bientôt la mort entra » ;
- en **1841** : « une quantité inouïe de canards sauvages, la plupart morts, furent rejetés par la mer aux côtes du départ des Landes (..), la masse totale des oiseaux pris pouvait monter à 20 000 » (Heusinger 1853).

En ce qui concerne les oiseaux sauvages, les chroniqueurs s'embarrassaient peu de descriptions cliniques : toute mortalité d'oiseaux sauvages était le résultat d'une bataille rangée entre eux ! Les dates de toutes ces batailles ont été relevées par Fleming (Fleming 1871). La première aurait eu lieu en l'an **571**, d'après Shortdans, rapportée dans "A General Chronological History of the Air" : « Le 24 septembre, il y eu un grand combat et une hécatombe d'oiseaux sauvages ». Ce combat fut suivi de nombreux autres :
- en **942**, une bataille eu lieu en Irlande, rapportée dans les "Annals of Clonmacnoise" : « on assista à une querelle entre les oiseaux marins et terrestres à Clonvicknose, au cours de laquelle ce sont les corbeaux qui furent massacrés » ;
- en **1366**, Short rapporte une autre bataille, entre moineaux anglais, suivie d'une épidémie humaine : « cette année, survint aussi une grande querelle entre moineaux, qui tourna en une bataille rangée au cours de laquelle d'innombrables combattants perdirent la vie. Il s'en suivit une importante mortalité chez les êtres humains, dont beaucoup furent trouvés morts le matin, alors qu'ils s'étaient couchés en bonne santé la veille » (Fleming 1871).

Aucune de ces descriptions, si bien faite soit-elle, ne permet bien sûr de reconnaître l'influenza aviaire hautement pathogène. Toutefois, certains symptômes évoquent bien cette maladie, de même que certains traits épidémiologiques (premières manifestations de l'épizootie chez les oies ou les canards). Les épisodes de 1366 en Angleterre chez les oiseaux

sauvages ou de 1614 en Bohème chez les volailles évoquent, par ailleurs, pour la première fois, une concomitance entre épidémie humaine et épizootie aviaire.

La découverte de l'agent de la peste aviaire vraie fut un épisode assez confus de l'histoire des maladies microbiennes, qui s'est déroulé principalement en Italie, mais aussi dans d'autres pays, notamment l'Autriche. En matière de pathologie infectieuse aviaire, c'est le microbe du choléra des poules, *Pasteurella multocida*, qui fut le premier observé au microscope (en 1878, par Semmer et Perroncito) et cultivé (en 1879 par Toussaint). Le nom de «choléra des poules» fut utilisé par Maillet en 1836.

Cependant, dès 1880, Rivolta et Delprato rapportèrent qu'il existait une maladie dont les caractères cliniques étaient différents de ceux du choléra (Blancou 2000) : ils appelèrent « typhus exudatif » cette nouvelle maladie qui, selon Nocard et Leclainche, rappelait la peste aviaire vraie. De nombreux microbiologistes européens tentèrent alors, sans succès, d'en isoler l'agent causal. Ce furent Centanni et son élève Savonuzzi qui en 1901 (Blancou 2000) écrivirent : « cette maladie n'est ni le choléra des poules, ni une infection due à un virus décelable par les méthodes actuelles ». Peu après, ils firent connaître les particularités de l'agent causal de cette nouvelle maladie, qu'ils baptisèrent "peste aviaria". (Blancou 2000).

Mais les choses se compliquèrent en **1926** à l'occasion d'une épizootie observée aux Indes néerlandaises par Kraneveldt, puis en Angleterre à Newcastle-upon-Tyne, par Doyle. La maladie de Newcastle ou « pseudo peste aviaire » est décrite pour la première fois et reconnue comme épidémiologiquement différente de la peste aviaire. Toutefois, il faudra attendre **1955** pour que les deux virus soient bien différenciés : le virus de la peste aviaire vraie fut alors classé dans la famille des *Orthomyxoviridae*, genre *Influenza* (type A) et le virus de la maladie de Newcastle fut classé dans la famille des Paramyxoviridae, genre *Rubulavirus*.

A partir de 1959, les épizooties de « pestes aviaires » rapportées par les services vétérinaires officiels sont donc clairement distinguées en épisodes d'influenza aviaire hautement pathogène d'une part et épisodes de maladie de Newcastle d'autre part, et toujours sur la base d'une analyse de laboratoire.

Depuis cette date, les épisodes d'influenza aviaire hautement pathogène (à virus H5 ou H7) font l'objet d'une déclaration officielle à l'Office Internationale de Epizooties. Nous pouvons notamment citer les foyers suivants : en 1959 (Ecosse), 1961 (Afrique du Sud), 1966

(Canada), 1976 (Australie), 1983 (Etats-Unis), 1994 (Mexique), 1995 (Pakistan). Les épisodes les plus récents (après 1995) sont détaillés dans la suite de ce mémoire.

2 La carte d'identité des virus Influenza

Les virus Influenza sont des virus à ARN. Ils appartiennent à la famille des *Orthomyxoviridae* et au genre *Influenzavirus*. Il en existe trois types A, B et C distingués par l'antigénicité de leurs nucléoprotéines. Les virus grippaux de type A et B sont responsables des épidémies annuelles de grippe humaine. Seul les virus de type A sont capables d'infecter les oiseaux ainsi que de nombreuses autres espèces. Différents sous-types peuvent être distingués sur la base de leurs glycoprotéines de surface que sont l'hémagglutinine (HA ou H) et la neuraminidase (NA ou N). On dénombre 16 sous-types d'hémagglutinine et 9 sous-types de neuraminidase pour les virus de type A. Ce sous typage nous donne 144 combinaisons possibles. Toutes existent chez les oiseaux mais avec des pathogénicités très variables (Swayne and Suarez 2000). Si l'infection par un sous-type donné donne une forme modérée de la maladie entraînant une faible mortalité, nous parlons d'Influenza Aviaire Faiblement Pathogène (IAFP). Si au contraire, les signes cliniques de la maladie sont graves entraînant une mortalité massive, nous parlons de la forme Hautement Pathogène de la maladie (IAHP). Les mécanismes responsables de l'acquisition de pathogénicité sont à relier pour l'essentiel avec la nature du site de clivage de l'hémagglutinine. Celle-ci est initialement synthétisée sous forme d'un précurseur polypeptidique qui sera scindé en protéine HA1 et HA2 par des protéases. La protéine mature HA sera ensuite responsable de la fixation du virus à la cellule hôte par fusion des membranes endosomales (Webster, Bean et al. 1992). Le passage de la forme IAFP à la forme IAHP de la maladie se fait par l'introduction d'une séquence multibasique au niveau du site de clivage de la protéine HA ayant pour conséquence de faciliter la réplication du virus à une échelle systémique. Le mécanisme décrit ci-dessus n'est pas le seul suffisant dans l'acquisition de la virulence mais semble être une condition nécessaire.

En plus des glycoprotéines de surface, pour les virus de type A l'enveloppe virale est constituée de deux autres protéines, la protéine de matrice M1 qui sous tend l'enveloppe virale et la protéine M2 qui joue le rôle de canal ionique. Pour les virus de type B et C, d'autres protéines sont décrites mais ne sont pas détaillées ici. À l'intérieur de la particule virale, le génome viral est présent sous la forme de sept ou huit nucléocapsides à symétrie

hélicoïdale qui résultent chacune de l'association d'une molécule d'ARN et de nombreuses nucléoprotéines, NP. Trois polymérases, PA (protéine acide), PB1 et PB2 (protéine basique 1 et 2, respectivement), forment le complexe réplicase/transcriptase et sont associées aux nucléocapsides. Le génome des virus A et B est constitué de huit segments d'ARN alors que celui du virus C n'en comporte que sept (Swayne and Suarez 2000; Capua and Mutinelli 2001).

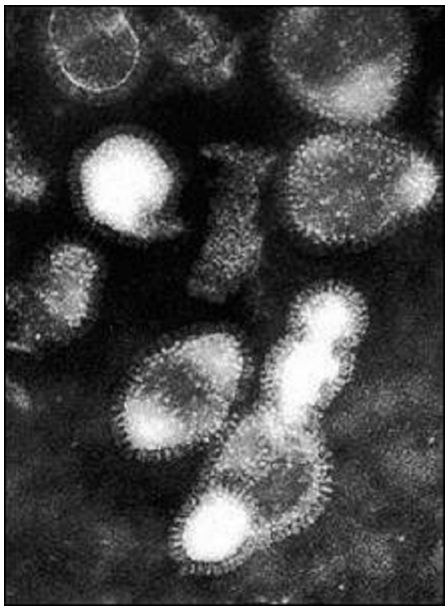


Figure 1: Image au microscope électronique de virus Influenza type A

3 Variabilité des virus Influenza

Les virus grippaux évoluent selon deux mécanismes classiquement décrits comme des glissements antigéniques (ou *drift, mutations ponctuelles*) ou les réassortiments ou plus rarement les recombinaisons de gènes (*shift*). Ce sont ces mécanismes qui peuvent être à l'origine de la modification de la séquence génomique codant pour les protéines de surface et notamment pour celle de l'HA (augmentation de la virulence par l'acquisition de la séquence multibasique sur le site de clivage de l'hémagglutinine).

Les glissements aboutissent à des variations antigéniques discrètes et continues qui ne modifient pas la structure antigénique globale du virus et permettent donc de conserver une immunité partielle à court terme. Ces glissements sont dus aux mutations qui se produisent au moment de la synthèse des ARN viraux en raison du taux élevé d'erreurs de l'ARN polymérase virale.

Les cassures antigéniques aboutissent à des changements radicaux de la structure des protéines virales. Elles résultent de réassortiments génétiques survenant entre des virus de sous-types différents. Ces réassortiments aboutissent notamment au remplacement d'un type d'hémagglutinine par un autre. L'antigène nucléoprotéique NP, lui, est conservé. L'immunité préexistante à ce changement est sans effet sur le nouveau virus si bien que les grandes pandémies surviennent principalement à la suite de cassures antigéniques (Capua and Mutinelli 2001; Suarez, Senne et al. 2004).

En résumé : Après ce rapide aperçu de l'historique de la maladie, nous nous proposons de retracer ci après les caractéristiques épidémiologiques de l'Influenza Aviaire en terme d'évolution spatio-temporelle sur ces dix dernières années.

Quatre flambées épizootiques d'Influenza Aviaire forme IAHP ayant entraîné des pertes économiques lourdes sont à signaler pour ces dix dernières années : à Hong Kong en 1997 (virus H5N1), en Italie en 1999-2000 (virus H7N1), aux Pays Bas puis en Allemagne et en Belgique (virus H7N7) et enfin depuis fin 2003, en Asie du Sud Est puis jusqu'en Europe Occidentale (virus H5N1). D'autres épizooties notamment au Chili en 2002 (virus H7N3) sont à noter mais n'ont pas eu l'ampleur des crises sanitaires précédemment citées.

En Italie, en 1999-2000, 413 élevages furent concernés dont seulement 25 basses cours. 14 millions d'oiseaux furent abattus. Les sommes versées aux éleveurs à titre de compensation s'élevèrent à US $ 63 millions mais on estime le coût total à US $ 620 millions. Quatre mois après l'extinction du dernier foyer, une forme IAFP a réapparu concernant 52 nouveaux foyers.

Aux Pays Bas, plus de 30 millions de volailles furent abattues, 2.7 millions en Belgique et 400 000 en Allemagne. Aux Pays Bas, 89 personnes ont été infectées parmi lesquels un vétérinaire qui décédera.

4 Situation internationale

4.1 Hong Kong 1997 et 2001

Le virus asiatique H5N1 a été détecté pour la première fois dans la province de Guandong, en Chine en 1996 où il a tué quelques oies mais n'a pas attiré l'attention des instances sanitaires de l'époque (Webster and Govorkova 2006). En 1997, à Hong Kong, le virus H5N1 sous la forme HP réalise une poussée épizootique dans les élevages des zones rurales de Hong Kong. Au total, 1.5 million d'oiseaux seront abattus, les pertes économiques seront estimées à HK $ 1.9 et 18 cas humains seront confirmés dont 6 décèderont (Chan 2002)

Après cet épisode, les mesures sanitaires prises (règlementation des marchés et controles actifs par écouvillonnages) ont permis de faire disparaître la présence du virus H5N1 de la production avicole. Cependant, en Mars 1999, le virus est de nouveau isolé sur un écouvillon fécal collecté sous des cages dans lesquelles avaient séjourné des oies sur un marché au gibier et volaille d'eau. La souche apparemment proche d'une souche isolée en 1996 en Chine ne cessera de muter pour passer de 4 variants en 1999 à 16 en 2000 et 18 dans les premiers mois de 2001 indiquant clairement que la souche H5N1 était une souche active en pleine évolution. Entre 1998 et 2001, aucun virus H5N1 n'a été isolé sur la volaille terrestre. Par la suite, entre février et mai 2001, cinq génotypes différents du virus IAHP H5N1 seront isolés sur plusieurs marchés. Tous les génotypes ont été isolés chez des poulets ou volailles terrestres (Guan, Peiris et al. 2002). En Novembre 2002, un nouveau génotype, le génotype Z est isolé dans l'avifaune sauvage. Ce nouveau virus est antigénétiquement différent des précédents isolats et surtout mortel pour les oiseaux d'eau. Ce génotype deviendra prédominant à partir de 2002 dans toute l'Asie (Webster, Guan et al. 2005).

4.2 L'extension asiatique de 2001 à 2005

En Décembre 2003 et Janvier 2004, des foyers d'IAHP causés par l'infection par le virus H5N1 sont déclarés simultanément dans 8 pays d'Asie du Sud Est : la Chine, le Cambodge, l'Indonésie, le Japon, la Corée du Sud, le Laos, la Thaïlande et le Vietnam. La Malaisie rejoindra la liste des pays touchés en Août 2004 (Sims, Domenech et al. 2005). Ces pays peuvent se répartir en quatre catégories :

- pays avec une densité d'élevage faible et une industrie avicole limitée (cas du Laos et du Cambodge)

- pays avec une industrie avicole développée et avec des mesures sanitaires d'éradication efficaces (cas de la Corée, du Japon et de la Malaisie)
- pays dans lequel l'infection se propage rapidement et où la vaccination n'est pas mise en place (cas de la Thaïlande et du Vietnam)
- pays dans lequel l'infection se propage rapidement et où la vaccination est mise en place (cas de la Chine et de l'Indonésie)

Au Laos et au Cambodge, la densité de population avicole est inférieure à 100 individus/km². De même, la densité humaine de population est faible. Les zones les plus densément peuplées sont les principales agglomérations et pour le Cambodge, une bande limitrophe de la frontière sud-est avec le Vietnam. Le système de surveillance y est essentiellement passif et les capacités de diagnostic limitées. Il est possible que des foyers n'aient pas été détectés, plus particulièrement dans les basse-cours de village où l'infection ne s'accompagne pas de mortalité massive. La déclaration de deux cas humains, un en septembre 2004 et un en tout debut 2005 laisse à penser que le virus circulait. La faible densité de population humaine et avicole sur la majorité du territoire a permis de minimiser le risque de propagation de la maladie.

En Corée du Sud, 19 foyers ont été déclarés entre 2003 et 2004. Les élevages concernés étaient des élevages de volaille terrestre (poulet, dinde) mais aussi des élevages de volaille d'eau (canard). Les autorités vétérinaires ont considéré que l'infection des élevages de canards a précédé celle des élevages de poulets/dindes de plusieurs mois. L'hypothèse d'une contamination par les oiseaux sauvages semble être celle qui a été retenue. 6 foyers au total ont été déclarés pour le Japon en 2003/2004. Il n'a pas été mis en évidence de lien entre les différents foyers. Les investigations de l'époque laissent à penser que l'eau de mares utilisées par les animaux des élevages serait la source principale de contamination. Cette eau aurait pu être contaminée par les oiseaux sauvages ayant séjourné sur ces mêmes mares. Les souches japonaises et coréennes montrent une analogie de plus de 99% de leur génome suggérant une origine commune (Mase, Tsukamoto et al. 2005).

La Malaisie déclara le premier foyer en août 2004 dans un village à 20 km de la frontière avec la Thaïlande, une zone faiblement peuplée et avec essentiellement de petits élevages familiaux. Au total, entre le 17 août et le 22 septembre 2004, 12 foyers seront déclarés. Un autre foyer sera détecté le 19 novembre 2004 mais l'infection ne se déclarera jamais. Il a été apparemment mis en évidence que l'introduction illégale d'un coq de combat porteur du virus serait à l'origine de l'infection.

Les analyses moléculaires des souches isolées en Thaïlande et au Vietnam mettent en évidence la présence de quasiment tous les variants détectés pendant le premier semestre 2004. Ces variants sont proches les uns des autres et appartiennent tous au génotype « Z » (Li, Guan et al. 2004). Ils montrent par contre plus de différences avec les variants H5N1 isolés dans les autres pays asiatiques. Ceci suggère que ces souches émergent d'une souche commune dont l'origine est toujours incertaine aujourd'hui. Le manque de surveillance de la volaille d'eau dans ces pays rend la compréhension de l'évolution des souches difficile. Au Vietnam, l'incidence de l'infection par le virus H5N1 dans la population humaine et avicole ne cessera d'augmenter au cours de 2004 et jusqu'en début 2005 probablement par la non détection de foyers dans les élevages de volaille d'eau. En Thaïlande, une campagne de surveillance active entre le 01 octobre 2004 et le 9 décembre 2004 a permis de détecter 750 élevages contaminés dans 51 provinces différentes. En parallèle de ces foyers dans les élevages avicoles, la Thaïlande déclarera pour la première fois des cas dans la population de chats domestiques et sauvages suite à l'ingestion de carcasses de poulets contaminés (Kuiken, Rimmelzwaan et al. 2004).

La Chine déclarera 50 foyers tous dans des élevages de volailles terrestres sur 4 semaines de temps (de janvier à février 2004). Les cas étaient largement répartis de la province de Guangdong au Sud à la province de Jilin au Nord et de la région autonome de Xinjiang Uygur à l'ouest à Shanghai à l'est. La majorité des foyers est apparue dans le sud est du pays. L'analyse des souches H5N1 en Chine montre une variation importante dans les gènes de l'HA tout au long de 2004. Cependant certaines souches isolées simultanément dans différentes provinces sont suffisamment proches pour suggérer une origine commune. Ceci est plutôt en faveur d'un pool de virus H5N1 qui évolue depuis plusieurs années (Chen, Deng et al. 2004).

En Indonésie, le virus présent en 2003 se répand rapidement en 2004 et persiste en 2005. Les données en matière d'épidémiologie moléculaire sont limitées mais les souches séquencées appartiennent toutes au génotype Z et sont proches des souches isolées en Chine et à Hong Kong (Li, Guan et al. 2004). La manière dont le virus a été introduit dans le pays est toujours inconnue. L'utilisation de la vaccination massive a permis de limiter l'extension de la maladie mais si de nouveau foyers continuent de se déclarer, ceci tend à suggérer la présence d'un réservoir de virus non atteint par la vaccination.

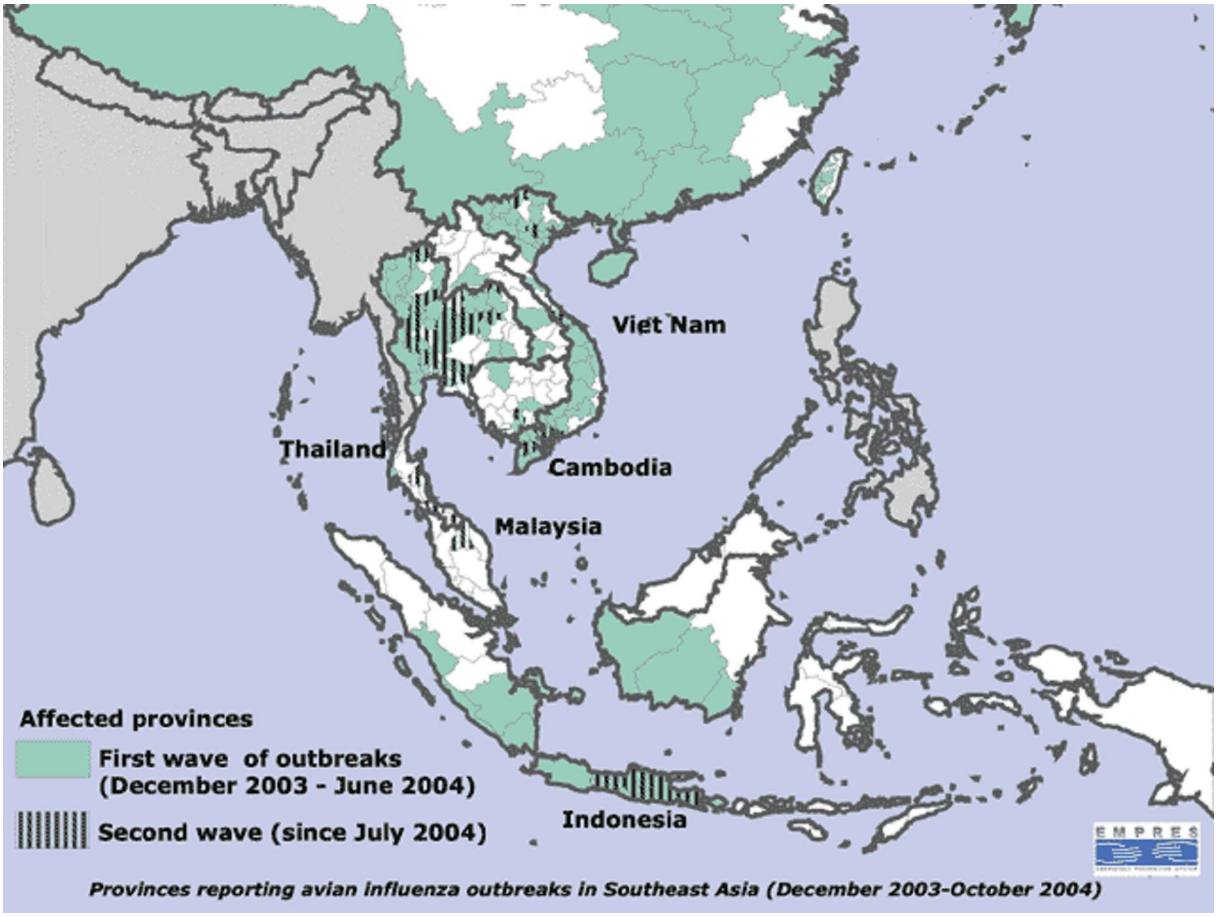


Figure 2 : Carte des foyers Influenza Aviaire Hautement Pathogène entre Décembre 2003 et Janvier 2005 (source EMPRES)

5 L'année 2005

5.1 Introduction

L'année 2005 est une année clef pour l'épidémiologie du virus H5N1 HP. Encore cantonné à l'Asie du Sud Est jusqu'en Avril 2005, il va connaître une expansion géographique sans précédent à partir du printemps 2005 avec un épisode marquant de mortalité importante d'oiseaux sauvages observée dans la région chinoise du lac Quinghai considéré comme origine de la dissémination du virus au reste du continent Eurasien.

Nous reportons ici une analyse effectuée tout au long de l'année 2005. Nous avons centralisé tous les rapports de déclaration d'infection disponibles sur le site internet de l'OIE (Office International des Epizooties) pays par pays dans l'objectif de décrire l'avancée de l'infection par le H5N1 HP asiatique.

5.2 De Janvier à Avril 2005

Seuls étaient concernés le Vietnam, la Thaïlande, Hong Kong, l'Indonésie et le Cambodge. La Chine déclarera l'épisode de mortalité massive dans les populations sauvages des bords du lac

de Quinghai le 21/05/2005 dans un rapport à l'OIE où elle fait état en date du 04/05/2005 de 519 cadavres d'oiseaux morts de différentes espèces, pour la plupart des oies à tête barrée (*Anser indicus*), des goélands ichthyaètes (*Larus ichthyaetus*) , mouettes du Tibet (*Larus brunnicephalus*), tadornes casarca (*Tadorna ferruginea*), et des grands cormorans (*Phalacrocorax carbo*).

5.3 De Mai à Décembre 2005

Le Vietnam, la Thaïlande l'Indonésie et la Chine continueront de déclarer des foyers d'IAHP H5N1. Ils seront rejoints par la Russie (portant déclaration d'infection à l'OIE le 24/07/2005), le Kazakhstan (le 04/08/2005), la Mongolie (le 10/08/2005), la Roumanie (le 07/10/2005), la Turquie (le 10/10/2005), la Croatie (le 21/10/2005), et l'Ukraine (le 12/12/2005).

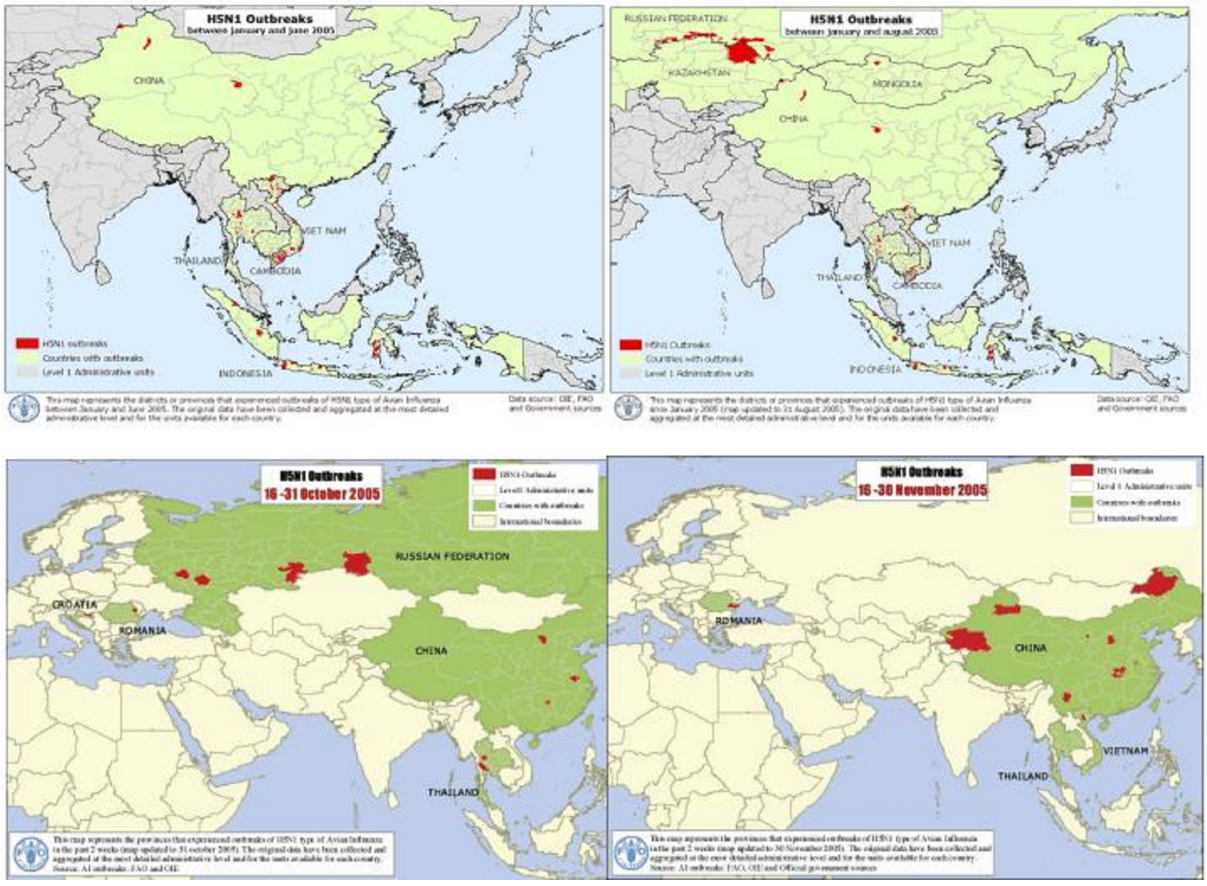


Figure 3 : Dissémination occidentale des foyers de H5N1 Hautement Pathogène de Juin à Décembre 2005 (source OIE FAO EMPRES)

Le tableau ci dessous résume l'épizootie IAHP H5N1 pour l'année 2005 pays par pays.

Tableau 1: Tableau récapitulatif des foyers d'H5N1 HP déclarés à l'OIE au cours de l'année 2005
(1) : avi pour espèces avicoles
(2) : fau pour avifaune sauvage
(3) : ind pour individus

Pays	Date de 1ère infection	Date de déclaration	Espèce(s) concernée(s)	Nombre de foyers	Nombre de cas (ind)	Nombre de sensibles (ind)	Population humaine ($x10^6$ind)
Vietnam		04/01/2005	avi(1)	37	333536	6700	81
Thaïlande		06/01/2005	avi	103	32167	368098	62
Hong Kong		14/01/2005	fau(2)	1	1		7
Indonésie	27/02/2005	08/03/2005	avi	85	369783	6495110	223
Cambodge	02/02/2005	28/03/2005	avi	2	89	133	14
Chine	04/05/2005	21/05/2005	avi,fau	25	38793	104086	1 276
Russie	18/07/2005	24/07/2005	avi	56	22015	800969	143
Kazakhstan		02/08/2005	avi	1	400	2800	15
Mongolie	07/08/2005	10/08/2005	avi,fau	2	89		2
Roumanie		07/10/2005	avi,fau	35	1216	164	22
Turquie		10/10/2005	avi	3	2900	1800	70
Croatie	19/10/2005	21/10/2005	avi,fau	3	31	1744	4
Ukraine	25/11/2005	12/12/2005	avi	24	2407	57343	48

6 Situation et état des connaissances en France jusqu'en 2005-2006

En France, les études menées par C. Hannoun et J.M. Devaux concernant l'avifaune aquatique de la Baie de Somme ont mis en évidence la présence de 93 souches de virus isolées entre 1976 et 1985, avec un maximum d'infection au mois d'octobre, l'existence d'un réservoir sauvage permanent ayant été confirmée (Hannoun 1977; Hannoun and Devaux 1981).

A l'époque où notre travail de thèse a été initié (Septembre 2004), en France peu d'études récentes avaient été publiées sur le suivi épidémiologique de ces viroses aviaires : une enquête sérologique portant sur Influenza et Newcastle sur des cormorans de Lorraine avait révélé une circulation de paramyxovirus de type 1 assez fréquente mais aucune présence sérologique d'Influenza aviaire n'avait pu être mise en évidence sur les échantillons étudiés (Artois, Manvell et al. 2002). Une enquête réalisée par l'Unité Sanitaire de la faune de l'ONCFS en collaboration avec l'AFSSA de Ploufragran a montré la présence de virus Influenza faiblement pathogène sur plusieurs espèces d'oiseaux capturées dans l'estuaire de la Loire et en Dombes (Hars, Louboutin et al. 2004). Les espèces concernées étaient essentiellement le colvert (*Anas platyrhynchos*), la sarcelle d'hiver (*Anas crecca*), la foulque (*Fulica atra*) et le cormoran (*Phalacrocorax carbo*).

7 Une année particulière, l'année 2006

Le 17 Février 2006, un premier cas de mortalité dans l'avifaune sauvage imputé au virus H5N1 Hautement Pathogène (5HN1 HP) est déclaré. A partir de cette date, la Dombes est une zone d'accès restreinte avec la mise en place de zones de sécurité et de zones de surveillance autour de chaque nouveau foyer déclaré. L'organisme en charge du suivi sanitaire dans l'avifaune sauvage est l'ONCFS. Le bilan de sa surveillance épidémiologique au 09 Juin 2006 fait état de 42 lots de cadavres analysés confirmés positifs au H5N1 par l'AFSSA Ploufragran (Laboratoire National de Référence des Pestes Aviaires).

La majorité (90%) des lots confirmés le sont entre la semaine 7 et la semaine 13 (entre le 17 février et le 01 Avril 2006) et se situe dans 15 communes différentes de l'Ain dont 11 font partie de la Dombes. Cependant, seulement 6 communes ont recensé des cas en mars et avril.

Les espèces concernées sont essentiellement le cygne tuberculé (*Cygnus olor*), le fuligule milouin (*Aythya ferina*). Quelques cas erratiques sont signalés sur un héron cendré (*Ardea cinerea*), une buse variable (*Buteo buteo*), une oie cendrée (*Anser anser*), une grèbe huppée (*Podiceps cristatus*) et un fuligule morillon (*Aythya fuligula*)

Dans l'avifaune domestique, un seul cas d'élevage contaminé par le virus H5N1 sera recensé. Il concerne un élevage de dindes de type « rationnel » (conduite d'élevage enfermée) sur la commune de Versailleux.

Cet épisode de survenue de foyers de H5N1 HP dans la population d'anatidés sauvages en Dombes fera d'ailleurs l'objet d'un chapitre à part dans ce mémoire.

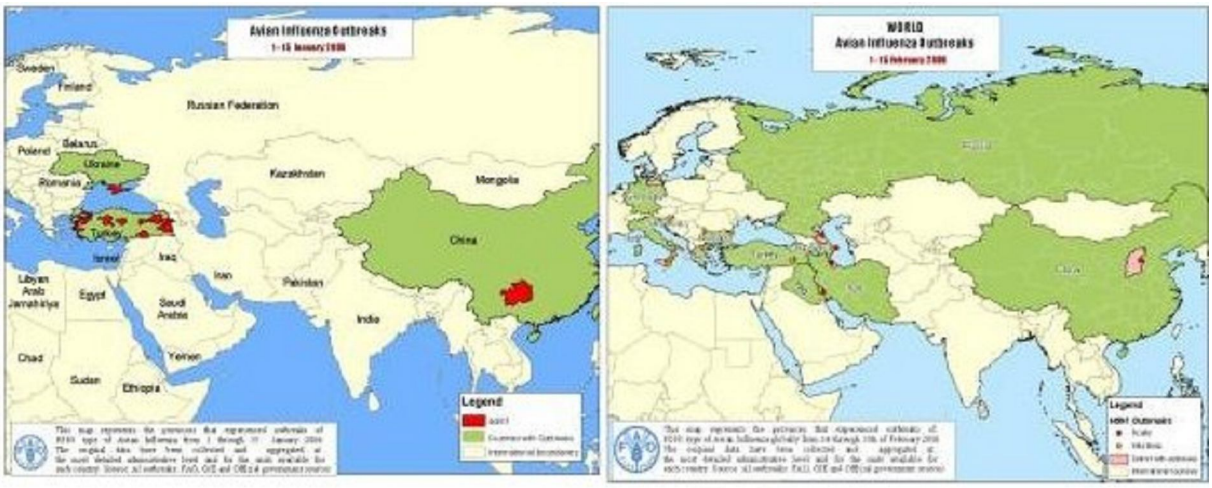


Figure 4 : Cartographie des foyers européens de H5N1 Hautement Pathogène entre le 1er Janvier et le 28 Février 2006. (source OIE FAO EMPRES).

En résumé : Depuis 2006, le virus H5N1 a continué de se propager en Europe, en Afrique et en Asie. En 2007, en ce qui concerne :

- l'Europe ; l'Allemagne, la France, la Pologne, la Roumanie, le Royaume Uni, la Slovénie, la République Tchèque, la Turquie, la Russie et l'Ukraine,

- l'Afrique et le Moyen Orient ; l'Arabie Saoudite, le Bénin, la Côte d'Ivoire, Djibouti, l'Egypte, le Ghana, le Togo,

- l'Asie ; le Bangladesh, le Cambodge, la Chine, la Corée, l'Inde, le Japon, la Malaisie, le Myanmar, le Pakistan, la Thaïlande et le Vietnam

déclaraient des foyers de H5N1 HP.

En 2008, l'Iran, Israël, le Nigeria et la Suisse rejoignaient les pays précédemment cités sur la liste de pays portant déclaration d'infection pour le H5N1 HP

Les victimes humaines de ce virus s'élèvent aujourd'hui à 421 cas et 257 morts (incidences cumulées sur la période 2003-2099)

Nous nous proposons maintenant de dégager les caractéristiques épidémiologiques de la maladie dans l'avifaune sauvage en commençant par rappeler les éléments importants de l'écologie aviaire en lien étroit avec l'épidémiologie de la maladie. Nous appuyons nos propos sur un article récemment paru dans la Revue Scientifique et Technique de l'OIE dont nous sommes l'un des co-auteurs (Artois, Bicout et al. 2009).

8 Rôle épidémiologique des oiseaux

8.1 Les caractéristiques écologiques du comportement aviaire

Les caractéristiques écologiques des oiseaux sont en étroite relation avec l'épidémiologie de l'Influenza Aviaire notamment sur l'extension géographique de la maladie. Le risque est qu'une espèce aviaire héberge, introduise, et propage une souche IA dans une zone géographique donnée. Ce risque est fortement corrélé avec la taille de la population de l'espèce concernée. Le risque de propagation d'un virus IA doit toujours être estimé en relation avec la zone géographique étudiée, prenant ainsi en compte la démographie des espèces présentes dans cette zone.

Le comportement grégaire au cours de la saison d'hivernage ou au moment des mouvements migratoires est un élément important à prendre en considération dans l'évaluation des échanges de souches.

Les espèces aviaires d'eau jouent un rôle essentiel dans l'épidémiologie de l'Influenza Aviaire. Elles exploitent les zones humides naturelles à des fins de nourrissage et de reproduction et sont retrouvées dans quasiment tous les types de zones humides.

Les espèces aviaires concernées par l'épizootie d'HPAI H5N1 en 2006 appartenaient aux ordres suivants :

- les Ansériformes notamment les canards, oies et cygnes
- les Charadriiformes notamment les mouettes
- les Ciconiformes notamment les cigognes
- les Falconiformes comme les aigles ou les buses
- les Gruiformes
- les Passeriformes notamment les corbeaux et moineaux
- les Pélicaniformes
- les Strigiformes notamment les chouettes et hiboux

Dans les espèces concernées par l'Influenza Aviaire, dans l'ordre des Ansériformes, la famille des *Anatidae* est particulièrement concernée. Cette famille se subdivise en deux groupes principaux : les canards de surface, comme le colvert (*Anas platyrynchos*) qui trouve sa nourriture en eaux de surface et les canards plongeurs comme les fuligules qui comme leur nom l'indique plongent pour trouver leur nourriture. Le taux de renouvellement de ces espèces est élevé. La population de colverts se renouvelle d'un tiers tous les ans, impliquant une proportion non négligeable d'individus immunologiquement naïfs.

Les différences dans les séquences comportementales des espèces aviaires peuvent entraîner des variations de l'exposition aux virus et autres agents pathogènes.

L'avifaune sauvage occupe habituellement les zones humides où se côtoient des étendues d'eaux douces et salées, des terres agricoles plus ou moins inondées, des canaux d'irrigation, des élevages y compris piscicoles. Le recul de ces zones humides au profit notamment de la riziculture entraîne une concentration des populations aviaires d'eau sur de plus petites surfaces et par conséquent une augmentation de leur densité et du risque de transmission virale.

Les oiseaux sont des migrateurs qui peuvent aussi parcourir de grandes distances. Un très grand nombre d'espèces migre annuellement. La plupart des mouvements migratoires se fait le long de « couloirs ». Ces couloirs sont des aires géographiques au sein desquelles une espèce ou un ensemble d'espèces transite entre une région d'hivernage et une région de reproduction. Il peut y avoir plusieurs milliers de kilomètres entre ces deux zones et donc des sites constituant des aires de repos sur le trajet.

L'axe migratoire est généralement suivi par de nombreuses espèces mais des mouvements erratiques peuvent aussi avoir lieu.

Durant leur migration, les oiseaux sauvages interagissent régulièrement sur leur site de reproduction, de nourrissage ou de repos ce qui favorise l'échange d'agents pathogènes. De plus, de nombreuses populations qui ne suivent pas le même couloir migratoire peuvent à un moment et à un endroit donné se rencontrer car certains couloirs se superposent.

Enfin, en dehors des grandes périodes de migration, les oiseaux présentent des mouvements migratoires « locaux » parfois à échelle nationale voire internationale courte distance pour échapper à des conditions défavorables (manque de nourriture, conditions météorologiques instables comme les périodes de gel prolongé ou les périodes de sécheresse)

Les activités humaines et surtout les pratiques agricoles, notamment les espèces cultivées, les rythmes de culture, les pratiques piscicoles ou la chasse ont une influence directe et indirecte sur les habitats naturels ainsi que sur les déplacements locaux des oiseaux sauvages.

Les habitudes sociales et culturelles qui consistent à nourrir les oiseaux des parcs et réserves naturelles parfois proches d'habitations ou d'élevages avicoles entraînent des modifications dans la répartition spatiale des espèces et favorisent les interactions entre l'homme et l'animal ainsi qu'entre espèces domestiques et sauvages.

8.2 Les espèces concernées

Les oiseaux d'eau sont le réservoir naturel des virus IAFP. Ceux-ci ont été isolés au total chez 105 espèces d'oiseaux sauvages appartenant à 26 familles différentes (Webster, Krauss et al. 2007). Bien que de nombreuses espèces abritent ces virus, les espèces aquatiques comme les Ansériformes (plus particulièrement les canards, oies et cygnes) et les Charadriiformes (plus particulièrement les mouettes et goélands) constituent le réservoir naturel principal des virus IAFP (Olsen, Munster et al. 2006). Ces oiseaux ont une répartition géographique large avec une présence dans quasiment toutes les régions du globe sauf les plus arides (Del Hoyo, Elliot et al. 1996).

8.3 Variabilité géographique

Plusieurs lignées sont impliquées dans l'infection de la population aviaire. Ces lignées sont géographiquement séparées par les océans qui limitent naturellement les échanges entre les populations d'Eurasie et d'Amérique. Les virus Influenza Aviaire s'individualisent très nettement (Donis, Bean et al. 1989; Schäfer, Kawaoka et al. 1993). Cependant des échanges limités entre les lignées eurasienne et américaine ont été décrits (Wallensten, Munster et al. 2005) indiquant que les interactions entre les populations des deux continents sont suffisantes pour que des échanges de souches aient lieu.

Il existe aussi des différences significatives dans la prévalence des sous-types selon la zone géographique d'un même continent probablement de nouveau à cause d'échanges limités entre les populations de la même espèce sur un même continent.

8.4 Variabilité intra-saisonnière

Les résultats des enquêtes épidémiologiques conduites dans l'avifaune sauvage montrent une variabilité des résultats selon la saison durant laquelle les enquêtes sont réalisées.

Les données disponibles dans ce domaine concernent majoritairement le colvert.

En général, la prévalence de portage des virus Influenza est maximale à la fin de l'été ou au tout début de l'automne dans l'hémisphère nord (Munster, Baas et al. 2007). Il en va de même pour les colverts d'Amérique du Nord (Stallknecht and Brown 2007). Les résultats de la surveillance de l'avifaune sauvage en Europe ou en Amérique montrent que la prévalence des virus Influenza A chez les canards sauvages est inférieure à 1% pendant une grande partie de l'année mais peut atteindre jusqu'à 30% entre les mois d'août/septembre et décembre (Krauss, Walker et al. 2004; Globig, Starick et al. 2006). La prévalence virale chez les canards est généralement plus élevée au printemps dans les populations du Nord de l'Europe que dans les

populations du Nord de l'Amérique (Wallensten, Munster et al. 2007). Cette constatation peut être liée au fait qu'il existe des différences dans l'écologie des interactions entre les virus et leurs hôtes sur les deux continents. La prévalence élevée au début de l'automne a tendance à décroître avec le départ en migration des populations ce qui entraîne la formation d'un gradient de prévalence virale entre le Nord et le Sud au sein d'une même espèce (Munster, Baas et al. 2007).

8.5 Variabilité inter-saisonnière

En Amérique du Nord, cette variabilité est assez bien documentée. Les taux d'isolement viral et l'occurrence des sous-types varient significativement d'une année sur l'autre (Stallknecht and Shane 1988). Les auteurs décrivent un schéma cyclique avec une année où la circulation virale est maximale suivie de une ou deux années où la fréquence d'isolement virale chute drastiquement.

Cependant, les années où la prévalence chez les canards est maximale, la prévalence chez les oiseaux côtiers est minimale.

8.6 Distribution des différents sous-types

Une grande diversité de sous-types a été mise en évidence dans les études à la fois européennes et américaines (Olsen, Munster et al. 2006). Chez le Colvert, 40 combinaisons différentes ont été retrouvées. Les combinaisons les plus fréquemment rencontrées sont H4N6, H7N7 et H6N2. Cependant, il faut garder à l'esprit que les différences entre les études sont généralement dûes au fait que celles-ci ont été réalisées à des échelles très différentes et plutôt petites et que les espèces prélevées étaient assez limitées.

Dans les sous-types connus pour être responsable d'Influenza Aviaire Hautement Pathogène (HPAI) dans les populations aviaires domestiques, les sous-types H7 sont communément décrits alors que la fréquence d'isolement de sous-types H5 est plus variable. En comparaison avec les études américaines, les sous-types H7 et H5 sont plus fréquemment rencontrés en Europe.

En plus de leurs classifications à partir du type de protéines de surface, les virus Influenza sont aussi classés en fonction de leur pathogénicité sur le poulet. Les virus de sous-types H5 et H7 (contrairement aux autres sous-types) peuvent devenir Hautement Pathogènes (HP). Les souches HP ne sont retrouvées que très rarement dans l'avifaune sauvage (ce qui est cependant le cas du virus H5N1 asiatique) (Osterhaus and Munster 2008)

8.7 Persistance et survie des virus Influenza

Les virus de la forme IAFP se transmettent donc essentiellement par voie oro-fécale (Swayne and Suarez 2000). Ces virus Influenza sont résistants dans le milieu extérieur sous certaines conditions d'humidité et de température (Lowen, Mubareka et al. 2007). Il a été démontré que ces virus restent infectieux dans l'eau des étangs pour des durées pouvant aller jusqu'à quatre jours pour une température de 22°C et jusqu'à 30 jours pour une température de 0°C (Webster, Yakhno et al. 1978). Les niveaux de prévalence élevés décrits dans les populations d'oiseaux d'eau laissent à penser que l'eau de surface de ces étangs pourrait jouer un rôle non négligeable dans la transmission de ces virus.

Pour les virus IAHP, par contre, les modalités de transmission entre les oiseaux sauvages sont encore mal définies car il y a encore peu, les chercheurs pensaient que les oiseaux sauvages ne pouvaient être les victimes d'une forme IAHP (Webster, Krauss et al. 2007). Cependant, des infections expérimentales de canards colverts par des souches IAHP ont montré des titres viraux élevés dans les sécrétions nasales et trachéales voire plus élevés que dans les fientes (Sturm-Ramirez, Ellis et al. 2004; Sturm-Ramirez, Hulse-Post et al. 2005). Ces informations laissent à penser qu'une contamination par contact direct ou par aérosol en plus de la transmission oro-fécale traditionnellement admise serait une voie de transmission non négligeable.

Même si de nombreuses études s'intéressent au portage virologique des virus Influenza par les espèces d'oiseaux migrateurs et plus particulièrement d'oiseaux d'eau, les mécanismes d'entretien du pool génétique de virus qu'ils soient IAFP ou IAHP restent mal connus. L'infection pourrait se faire d'individus à individus (les adultes peuvent être à l'origine de la contamination des juvéniles pendant les périodes de rassemblements pré-migratoires) ou via l'environnement.

8.8 Transmission aux populations cibles

L'utilisation d'habitats communs entre les populations aviaires sauvages et domestiques accroît le risque d'échange des virus et autres agents pathogènes. Les contacts peuvent être directs ou indirects. Les élevages de plein air occupent un large nombre d'habitats qui sont aussi utiles aux espèces sauvages. Celles ci peuvent aussi bien être plutôt sédentaires, semi-migratrices ou migratrices sur de très grandes distances. Les espèces qui peuvent constituer le lien pour les virus entre l'avifaune sauvage et domestique doivent présenter les

caractéristiques suivantes : elles doivent être sensibles, être capables d'excréter les virus et être fréquemment en contact étroit avec l'avifaune domestique (ou l'homme).

Le contact peut être direct. Les espèces concernées seront celles qui se nourrissent ou nichent dans les même biotopes que les espèces domestiques, par exemple les moineaux, corbeaux et corneilles, pigeons, canards et hérons. Des études dans le Sud Est Asiatique ont montré que la présence de canards sauvages retrouvés dans les rizières augmentait l'incidence de la maladie dans les élevages de poulets aux alentours (Chen, Smith et al. 2005).

Le contact peut aussi être indirect. Notamment, l'approvisionnement en eau des élevages est un point clé dans la transmission indirecte des virus de la population sauvage à la population domestique. De même, la nourriture stockée dans un bâtiment annexe de l'élevage reste parfois accessible à l'avifaune sauvage et devient de ce fait source de contamination pour les virus Influenza. Enfin tout le matériel zootechnique des élevages peut aussi être une source de contamination pour l'avifaune domestique.

9 Synthèse

Le risque tel que nous l'avons défini pour notre travail serait donc la probabilité d'apparition de foyers d'Influenza Aviaire dans des élevages plein air, suite à l'introduction dans ces élevages d'une ou de plusieurs souches Influenza Aviaire via un contact direct ou indirect avec des oiseaux d'eau des étangs de la Dombes.

Nous avons basé notre travail d'évaluation du risque tel qu'il vient d'être défini sur un schéma conceptuel de transmission entre deux compartiments classiquement décrits en épidémiologie : un compartiment « réservoir » contenant à la fois des hôtes « source » et des hôtes « pont » et un compartiment contenant les hôtes « cible ».

Les espèces « source » sont des espèces chez qui les virus Influenza circulent de façon continue. Ces espèces sont capables d'assurer la persistance intra et inter-saisonnière de ces virus.

Les espèces « ponts » sont des espèces qui ont à la fois des interactions fréquentes avec les espèces « source » et avec les espèces « cibles ». Ces espèces ne sont pas forcément capables d'assurer la survie des virus mais en raison de leur comportement interactif vont accélérer à la fois au sein de leur population l'évolution génétique des virus (dérive ou shift et/ou réassortiment ou drift) et les échanges avec les autres catégories « source » et « cible ».

Les espèces « cibles » sont enfin des espèces sensibles et qui sont connues pour avoir été concernées par des épizooties d'Influenza Aviaire Hautement Pathogène (HPAI).

Les virus peuvent circuler entre ces trois catégories de populations quelques soient leurs caractéristiques intrinsèques notamment les indices de pathogénicité.

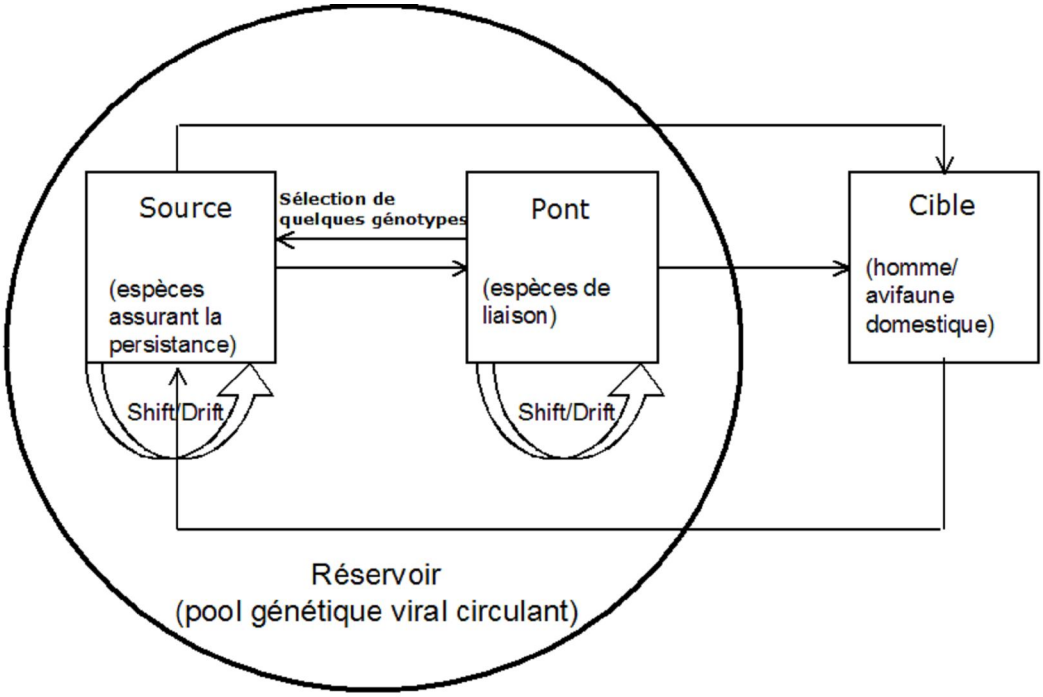


Figure 5: Schéma conceptuel de la circulation des virus Influenza Aviaire dans les différentes populations hôtes.
Les compartiments correspondent à des catégories de populations qui peuvent jouer un rôle épidémiologique précis dans l'épidémiologie d'Influenza Aviaire. L'ensemble « Réservoir » correspond à toutes les espèces aviaires sensibles aux virus Influenza et dans lesquelles les virus circulent plus ou moins « librement » en subissant dérives (drift) et recombinaisons (shift) génétiques. Dans cet ensemble, nous proposons de distinguer les espèces « source » et les espèces « ponts ». Une dernière catégorie d'espèces semble être beaucoup plus sensible aux virus Influenza. C'est chez ces espèces que nous retrouvons des épizooties d'HPAI.

Dans chaque population hôte, la dynamique de l'infection varie tant en fonction des caractéristiques de la souche infectante (faiblement ou hautement pathogène, souche unique ou co-infection par plusieurs souches…) qu'en fonction des caractéristiques de la population hôte (densité de population et taux de contact, sensibilité à l'infection, immunité croisée et immunité de masse).

Ainsi tout notre travail s'articulera autour de la caractérisation du comportement de chaque population hôte lorsque celle-ci se trouve infectée par une ou plusieurs souches virales Influenza Aviaire.

En résumé : Nous allons développer dans la deuxième partie de notre travail la démarche analytique que nous avons choisi d'adopter à partir des hypothèses qui émanaient de l'élaboration du modèle conceptuel que nous avons explicité ci dessus :

- caractérisation des différentes catégories (« source », « ponts », « cible »)

- caractérisation des virus circulant au sein du système ainsi formé

- caractérisation des échanges entre ces catégories

Nous commençons par exposer les résultats de l'enquête épidémiologique réalisée au cours de la saison d'hivernage 2005-2006 en Dombes visant à caractériser la population « source » dans cette région.

Quand l'objectif initial était en 2004 principalement de décrire, d'analyser et d'anticiper le risque de survenue d'une épizootie d'Influenza Aviaire Hautement Pathogène (IAHP) en région Rhône Alpes, l'apparition des premiers cas IAHP dans l'avifaune sauvage en Dombes nous a permis dans un deuxième temps de mieux comprendre, en tout cas d'émettre un certain nombre d'hypothèses quand aux modes de circulation des virus Influenza dans l'avifaune sauvage afin de caractériser les échanges entre les différentes catégories du système décrit.

Première partie:

Epidémiologie analytique de l'Influenza Aviaire

1 Terrain d'études

La Dombes est une région humide qui débute à une trentaine de kilomètres au nord de Lyon et qui s'étend sur environ 1000km². La partie la plus centrale est communément appelée la « Dombes ornithologique ». Elle couvre environ 700 km² et connaît la plus forte densité d'oiseaux (Lebreton, Bernard et al. 1991). En effet, elle regroupe plus de 1000 étangs offrant pour 80% d'entre eux une surface suffisante pour accueillir de nombreuses espèces. De plus, le climat relativement tempéré de cette zone favorise la présence de nombreuses espèces nidificatrices. L'une des principales familles aviennes rencontrées dans cette région sont les Anatidés avec comme chef de file pour les canards de surface le colvert (*Anas platyrhynchos*) et pour les canards plongeurs le fuligule milouin (*Aythya ferina*) . Des études préliminaires ont montré que les canards en Dombes étaient porteurs de virus Influenza et pouvaient être considérés comme le réservoir de la maladie (Hars, Louboutin et al. 2004).

De plus, il existe en Dombes et à proximité de cette région des nombreux élevages notamment des élevages dits « de plein air »avec plus particulièrement des élevages répondant à l'AOC « poulet de Bresse ». Ces élevages sont tenus d'avoir un parcours et un ou plusieurs points d'eau (petites mares ou bassins) sur leur exploitation. Les volailles sont lâchées la journée et le plus souvent rentrées la nuit. Il est évident que ce type de gestion d'élevage favorise l'exposition de la volaille domestique aux virus Influenza dans la mesure où elle facilite le contact direct entre les populations sensibles (la volaille) et les populations réservoirs (les canards sauvages) attirées par la nourriture et les points d'eau.

Ainsi nous pouvons résumer : la Dombes est une zone épidémiologiquement majeure en terme d'introduction et de circulation de virus Influenza Aviaire dans la mesure où elle présente tous les paramètres épidémiologiques la classant « à risque »

- présence de populations sauvages potentiellement réservoir (études préliminaires ONCFS et estimation du niveau d'émission)
- présence de populations sensibles (les filières d'élevage avicole dans la région)

2 Enquête écologique : variabilité de la prévalence des souches IA dans l'avifaune sauvage

Dans cette partie de notre travail, nous avons voulu dresser un état des lieux de la situation épidémiologique chez les populations sauvages réservoirs : quelles sont les souches circulant pour l'année 2005-2006 dans l'avifaune sauvage ? Peut on mettre en évidence des échanges entre populations sauvages et populations domestiques ? Quels facteurs influencent

l'exposition des oiseaux sauvages et domestiques aux virus Influenza Aviaire dans la population d'Anatidés, présente en Dombes. Peut-on utiliser des espèces « sentinelles » qui permettraient une détection précoce de toute circulation virale ? Quelle(s) espèce(s) seraient alors la ou les plus pertinentes ?

Cette enquête a ainsi fait l'objet d'un article soumis à la revue *Avian Diseases*.

Population vulnerability to HPAIV strains by wild waterfowl? A survey before H5N1 outbreak (France 2005/2006).

Running head: variability of AIV

Authors: Doctrinal-Creton D. (1), Grandhomme,V. (2, 3), Chang C-M. (2, 3, 4), Durand I. (1), Bicout D. (1), van der Werf S. (3) and Artois M. (1)

Affiliation Address
[1] Université J. Fourier, Laboratoire TIMC-IMAG, Unité Environnement et Prévision de la Santé des Populations F-38000 Grenoble; Ecole nationale vétérinaire de Lyon, France*
[2] GEMI, UMR CNRS/IRD 2724, IRD, 911 avenue Agropolis BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France
[3] Unité de Génétique Moléculaire des Virus à ARN, URA3015 CNRS, Université Paris Diderot Paris 7, Institut Pasteur, 25-28 Rue du Dr Roux, 75724 Paris Cedex 15, France
[4] Present address: Research Center for Emerging Viral Infections, Departement of Medical Biotechnology and Laboratory Science, Chang Gung University, Taoyuan, Taiwan

*corresponding author : M. Artois, ENVL, 1 av Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile; France + 33 4 78 87 27 74 m.artois@vet-lyon.fr

Summary

A survey of AIV was carried out in an area important for bird conservation and traditional production of outdoor poultry in the Autumn 2005 and early winter 2006, just before an outbreak of HPAI H5N1. A total of 979 samples were analysed by RT-PCR. The frequency of positive detection of AIV RNA appeared relatively variable by sample geographic origin, type of sampling, species and time, ranging from 0.5% up to more than 8% (and even more in some small size sub-samples). It is argued that local density reached by wild birds and mixing of species can lead to a relatively high prevalence of AIV. The interaction with domestic ducks and poultry in this area could be a factor of strain diversity (mostly H6 and N2 subtypes, together with H3, H9 and N8). Nevertheless no HPAI virus was detected, moreover no H5 or H7 nor N1 subtypes were identified suggesting no potential protection from recent infection by viruses of the H5 and/or N1 subtype to the HP H5N1 virus.

Key words/Index

6/8 words: Avian-Influenza, Wild birds, Dombes, Prevalence

Abbreviations

AIV: avian influenza virus
CI: Confidence Interval
HPAI: Highly Pathogenic Avian Influenza
LPAI: Low Pathogenic Avian Influenza
PCR: Polymerase chain reaction

Introduction

As part of a risk assessment of outdoor poultry exposure to avian influenza viruses (AIV) of wild waterfowl in the Dombes region (France) we conducted a survey study during the winter 2005-2006 just before the outbreak of H5N1 HPAI that occurred in february 2006. Our aim was to check whether H5 or H7 AIV were prevalent in the area where poultry can be in direct or indirect contact with wild birds as they are bred outdoor at day time. The Dombes region is an area of secular free range farming of poultry together with an important place for stop over migration and permanent presence of resident wild waterfowl. Despite no historical record of HPAI outbreaks in local poultry, it is the hypothesis that LPAIV of subtypes H5 or H7 can evolve to virulence if they enter into the population of domestic birds [1-4]; this makes the region at risk for the introduction and exposure of poultry to AIV strains. The local outbreak recorded in late winter 2006 of H5N1 HPAI [5] suggested that exotic AIV strains can as well be introduced probably through long distance movements of wild birds. Our survey intended to determine the degree of vulnerability of the wild bird population to potentially virulent AIV strains, as some degree of mass immunity can be expected by exposure to heterologous AIV strains [6]. This survey suggests that the wild population of ducks was entirely susceptible to infection by a H5N1 subtype before its introduction in February 2006. We compare AIV prevalence in different samples and discuss the possible local interactions between wild and domestic anatid birds there.

Material and methods

Specimens

From September 4th 2005 to February 10th 2006: 979 cloacal swabs were collected from ducks caught alive or shot dead together with swabs repeatedly obtained from 35 sentinel ducks. The samples were mostly focused on Anatinae species (951 samples) as detailed in table1.

Cloacal swabs were collected and stored in 3 ml of transport medium consisting in isotonic buffered saline solution (HANKS solution)/20 mM HEPES/gelatine (0.5%) containing antibiotics (gentamicin 100µg/mL, B amphotericin 4µg/L). The transport medium allows virus conservation in between 5°C and 25°C for at least 5 days.

Species	**Analysed**	**AIV+**	***p (%)***
Mallard(P1)	16	1	6.3%
Mallard(P2)	34	1	2.9%
Mallard(P3)	80	1	1.3%
Common Pochard	110	7	6.4%
Common Teal	47	1	2.1%
Greylag Goose	62	1	1.6%
LOCAL	349	12	3.4%
Blue-winged Teal	3	3	100.0%
Chiloe Wigeon	6	2	33.3%
Ringed Teal	7	2	28.6%
Rosy-billed Pochard	16	2	12.5%
White-cheeked Pintail	13	1	7.7%
Wood duck	15	1	6.7%
EXOTIC	60	11	18.3%

Table 1 : Anatinae and other species concerned by the survey. The table shows the number of analysed samples, the number of positive samples to gene M (considered to be AI positive: AIV+) and *p* the prevalence of positive samples by species. P1 in the table stands for free range exotic and local wild birds, alive (Dombes), P2 for free range exotic and local wild birds, dead or alive (Lyon) and P3 for local wild birds, alive.

Negatively tested birds:

Egyptian Goose (Alopochen aegyptiacus =4); Brazilian Teal (Amazonetta brasiliensis =1); Northern Pintail (Anas acuta=5); Chestnut Teal (Anas castanea =2); Australian Shoveler (Anas rhynchotis=1); Gadwall (Anas strepera=14); Yellow billed duck (Anas undulata=7); Bar-headed Goose (Anser indicus=6); Tufted duck (Aythya fuligula= 3); Greater scoop (Aythya marila=2); Ferruginous Duck (Aythya nyroca=1); Black-necked Swan (Cygnus melanocorypha=2); Fulvous Duck (Dendrocygna bicolor=13); White-faced Duck (Dendrocygna viduata=8); Common coot (Fulica atra=5); Southern Pochard (Netta erythrophthalma=1); Red-crested Pochard (Netta rufina =20); Common Shelduck (Tadorna tadorna=11); Mute Swan, dead (Cygnus olor=1); Grey Crowned Crane (Balearica regulorum=2); Great White Pelican (Pelecanus onocrotalus=3); Grey Partridge (Perdix perdix=3); Great Cormorant (Phalacrocorax carbo=11); Pheasant (Phasianus colchicus=6); Thrush (Turdus merula=2).

Sentinels

35 sentinel mallard ducks (*Anas platyrhynchos*) were settled in small pens on the shore of three different ponds. They were hatched and born in a local game farm and tested negative prior to released in their pen. Limited direct or indirect contact with free living birds was

allowed. These captive ducks were tested every two weeks until the 10th of February 2006 which represents 188 cloacal swabs.

Wild ducks

325 cloacal swabs were collected on shot dead birds soon after hunting: once in September, October, November, or December 2005 and two times in January 2006. Meanwhile 94 samples were obtained from birds captured alive for ringing purpose in a nature reserve.

Semi captive birds

Our survey benefited from another study in two ornithological parks just before mandatory confinement in closed facility buildings. These samples accounted for respectively 233 and 138 different free moving birds of European and exotic species.

Virus identification

RNA extraction was performed from cloacal swabs using the automatic BioRobot MDx workstation and QIAamp Virus BioRobot MDX kit (QIAGEN) according to the manufacturer's instructions. Extraction was from 200 µl of specimen and the RNA was eluted into a final volume of 80 µl. The presence of AIV was detected by real time reverse transcription-polymerase chain reaction (rRT-PCR) targeting the conserved matrix gene segment. The rRT-PCR was performed using a LightCycler 480 (Roche Diagnostics) and a Superscript III One-Step qRT-PCR system (Invitrogen). The reaction was carried out in a final volume of 10 µl containing 2.5 µl of total RNA and using primers described in Fouchier et al. [7] with a specific hydrolysis probe 5'-(fam) CCT CAA AGC CGA GAT CGC GCA (Tamra)-3'. Amplification conditions were: 15 min at 45°C, 3 min at 95°C following by 50 cycles of 10 sec at 95°C, 10 sec at 55°C and 20 sec at 72°C, and ended by 30 sec at 40°C. Positive samples were tested for H5, H7, H9 and N1 according to the same protocol. Real time RT-PCR targeting H5 was performed in a multiplex reaction using two sets of primers and probe targeting the 1544-1683 and 1063-1162 regions of the H5. The reaction specific of

avian N1 subtype was performed using primers and probe targeting the 459-648 region of the N1. Both rRT-PCR targeting H7 and H9 were carried out with an annealing temperature of 54°C using the primer pairs H7-For/H7-deg Rev and H9-For/H9-Rev with their specific probes described in [Reference: Monne, I. et al., *Development and validation of a one step real time PCR assay for the simultaneous detection of H5, H7 and H9 subtype avian influenza viruses*. J Clin Microbiol, 2008. 46(5):1769-73.]. The presence of H3, H4, H6, N2, N6 and N8 subtypes has also been investigated by conventional RT-PCR. The reaction was performed using a GeneAmp® PCR System 9700 thermocycler (Applied Biosystems) and a Superscript One-Step RT-PCR system (Invitrogen). The reaction was carried out in a final volume of 25 µl containing 5 µl of total RNA. The H6 specific primer pair H6-661f and H6-962r used for this assay was described by Lee and al. [Reference: Lee, M-S. et al., *Indentification and subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR*. J Virol Methods. 2001. 97(1-2):13-22.]. Amplification conditions were: 30 min at 45°C, 15 min at 55°C, 2 min at 94°C followed by 40 cycles of 30 sec at 94°C, 40 sec at 45°C, 50°C or 55°C (depending on primers) and 1 min at 72°C, and ended by 5 min at 72°C. The amplification products were analyzed by 1% agarose gel electrophoresis and ethidium-bromide staining. Sequences of all primers and probes are available upon request.

Results

As a whole, from September 2005 onward up to February 2006, a total of 36 out of 790 birds (4.4%, CI= [3.0;5.9], $p=0.05$) were tested positive for type A avian influenza RNA by RT-PCR; (an additional opportunistic sampling of a dead mute swan gave a negative result; in addition none of the non anatid species gave a positive result).

During the course of the survey, positive results were obtained from samples collected from the very beginning of the study up to its last day (i.e. from september 2005 onward up to february 2006). No significant trend in time was noticed, meaning that the circulation of AIV

in the environnement had started before the sampling began and was still ongoing up to the end of the study

In addition, in the mallard sentinel group, among 188 samples analyzed, a single swab tested positive which represents a detection rate of 0.5 % (CI= [0.0; 1.6], *p=0,05*) over the five months of study.

In the hunted anatid bird group, 12/ 317 samples were found positive for AIV by RT-PCR, i.e. 4.1% (CI= [1.9; 6.3], p=0.05).

Among free flying captive and truly wild anatid, 316 originated from the Dombes area, and 133 from the natural environment in the town of Lyon, both places being distant of about 50km, respectively 21 i.e. 6.6% (CI=[4,1;10]) and 2 i.e. 1.5% (CI=[0,15;5,]) swabs tested positive for AIV. These results actually encompassed a diversity of results by species and origin which is detailed in table 1. The variability by species is noteworthy. In total, after exclusion of the sentinel sample, 349 mallards were analysed. This represents the most numerous sample size by species. Among these: 12/219 (5.5%; (CI= [2.5; 8.5], p=0.05)) and 1/34 (2.9% (CI= [0; 8.6], p=0.05)) were shot and swabbed respectively in the Dombes and in Lyon. One out of 16 (6.3%; (CI= [0; 18.1], p=0.05) and 1/80 (1.3%; (CI= [0; 3.7], p=0.05)) were swabbed alive in two different, but close, places in the Dombes area.

Regarding the other European species of birds, positive detections of AIV were found in 7/110 infected common pochards (*Aythya ferina*) and 1/47 common teal (*Anas crecca*) either hunted or captured alive in the Dombes and in 1/61 Greylag geese (*Anser anser*) captured in Lyon. It might be worth to mention that none of the 20 red crested pochards (*Netta rufina*) or of the nine Eurasian wigeons (*Anas Penelope*) were found infected at the time of sampling.

As two ornithological parks were sampled, several exotic free ranging wild birds were sampled. Exotic species represent more than 56% of the number of studied species, but 13% of the swab samples only. Five such species were found infected: 3/3 Blue winged teal (*Anas*

discors), 2/6 Chiloe Wigeon (*Anas sibilatrix*), 2/7 Ringed Teal (*Callonetta leucophrys*), 2/16 Rosy billed pochard (*Netta peposaca*), 1/13 White Cheeked Pintail (*Anas bahamensis*) and finally 1/15 Wood duck (*Aix sponsa*). All infected exotic birds came from the Dombes area.

The amount of biological material available from the swabs was only sufficient for successful HA and NA subtyping for 11 out of the 36 samples found postive for AIV. The most common HA subtype was H6 (6/11); the most common NA subtype was N2 (5/11) (Tables 2 & 4). Each combination HA/NA was found either once or twice. Screening for H5 and H7 subtypes gave no positive result.

Species	Origin	Date	HA subtype	NA subtype
Red-crested Pochard (*Netta rufina*)	D	Sept-05	H6	N2
Common Pochard (*Aythya ferina*)	D	Sept-05	H6	?
Mallard (*Anas platyrhynchos*)	P1,D	Sept-05, Nov-05	H6, H9	N2,N6,N8
Common Coot (*Fulica atra*)	D	Sept-05	H3	?
Greylag Goose (*Anser anser*)	P2	Feb-06	H6	?

Table 2 : Subtypes detected in the different species. D stands for samples collected on shot dead local birds (Hunting). P1 for free range exotic and local wild birds, alive (Dombes). P2 for free range exotic and local wild birds, dead or alive (Lyon). (see table 4 for HA/NA associations found in this study)

Discussion

In the above survey we have attempted to evaluate the winter circulation of AIV among wild waterfowl at a place, and by chance, just before an outbreak of HPAI H5N1 in autumn/winter 2005/2006.

In this study, the overall prevalence of type A influenza virus in the Dombes region has been estimated to be close to 4% (ranging from 0.5 up to 8%). This figure fits within the range of AIV prevalence estimates obtained elsewhere in the North (Scandinavia) or South (Italy) of Europe for a similar season (table 3).

Ref.	Location	AIV prevalence
Cattoli, G. et al. [17]	Italy	5%
Hesterberg, U. et al [19]	France (2006) full range (EU):	<4% 0-18%
Wallensten, A. et al. [16]	Northern Europe	15% (3%-26%)
Munster, V. et al. [20]	Northern Europe	Mallard only, range: 1-21%

Table 3 : Average prevalence of AIV isolated from wild waterfowl in fall/winter in Europe (HPAI H5N1 excluded)

Among the six subtypes identified, three (H3N6, H4N6, H6N2) correspond to the most commonly reported subtypes both in wild and domestic anatid species (table 4) the remaining two (H9N2,H6N8) are not uncommon subtypes in Eurasia. Among the six AIV identified as being of the H6 subtype, three were obtained from adult mallards hunted during the first day of the hunting season. Half of the whole population of mallards at that time of the year is estimated to be composed of released game ducks ([8, 9]). It can thus be argued that released game birds can expose free living ducks to AIV strains of poultry duck origin (most of the released ducks are unfortunately not banded). Almost no recent data are available on the AIV strains circulating in domestic ducks in western Europe and none on ducks released for hunting purposes. Cherbonnel et al. [10] identified eight low pathogenic avian influenza subtypes (H5N1, H5N2, H5N3, H6N2, H6N8, and H11N9) in free range mule ducks bred in western France.

	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N?
H1	○◙ ⬥♦✧	○◙ ♦	◙			♦				○
H3	●	●○■◘◙ ♦✧	◙	◙		●○◘◙ ♦		●○◙ ♦❖✧		❖✧
H4	●◙	●◙ ♦	◙	●◙	◙	●○■◙ ♦❖✧	◙	◙		
H5§	○■□ ♦✧	○□◙ ⬥♦✧	○□◙ ⬥♦✧			♦✧	○		♦✧	✧
H6	●○◙ ♦	○◙ ♦❖✧	◙	◙	◙ ♦✧	◙ ♦		○□◙ ♦	◙	❖
H7§	■ ✧	◙	○ ✧	⬥✧			○ ⬥♦✧		♦	✧
H8	✧			♦✧						
H9		○◙ ❖✧				◙				● ✧
H10	◙	◙ ♦	◙	○■◙ ⬥♦✧	◙ ♦✧	♦	♦✧	◙ ♦	◙ ♦	✧
H11	♦	◙ ♦	○◙ ♦		♦	■ ♦		♦	●□◙ ♦❖	○ ❖
H12					♦				♦	
H ?										

Table 4: Comparison of Avian Influenza subtypes types detected in commercial and farmed ducks (Pekin and other breed derived from the Mallard, *Anas platyrhynchos*) and "wild ducks" in Eurasia. Subtypes detected in our survey are shown by a darker frame (boxed cells).

Domestic ducks

Alexander, D.J. [12] Eurasia :1997/2002 ●
Alexander, D.J. [13] Eurasia : 2002/2006 ○
Bragstad, K. *et al*. [14] Gene Bank, Europe ■
Cherbonel *et al*. [10] France □
Kang, S. *et al*. [15] Korea ◘
Shortridge, K.F. [16] China & Hong Kong ◙

Wild ducks (Anas only)

Alexander, D.J. [12] Eurasia :1997/2002 ❖
Alexander, D.J. [13] Eurasia : 2002/2006 ✧
Cattoli, G.et al. [17] Italy ⬥
Wallensten, A. et al. [18] Sweden (2002/2004) ♦

§: HPAIV are found among H5 & H7 subtypes

If ducks released for hunting purposes are similarly infected, they probably can infect their wild congeners with strains of domestic origin. As the domestic ducks to be released are bred in open air they are as well exposed to strains from wild birds. Therefore it can be anticipated that AIV can circulate between both compartments on a seasonal basis in the Dombes region. This is confirmed by the exposure of sentinel ducks. All tested negative when settled into the

different sites and one was later found infected with an AIV of the H6 subtype. This could have been an indicator of the circulation of AIV strains between wild and domestic ducks during the time of the study.

Regarding the risk of circulation of a highly pathogenic strain in the Dombes region, no HP H5 or H7 strains were detected in our survey. This suggests that the probability for a potentially highly pathogenic strain to be circulating at the time of our sampling was low. When the highly pathogenic H5N1 strain was discovered in February 2006, the wild bird population most likely did not experience recent infection with viruses of the H5 or N1 subtype (neither H5 HA nor N1 NA were detected in our samples). They should thus probably have been fully susceptible to the highly pathogenic H5N1 strain, although serological analyses would have been needed to establish the level of immunity. Actually a limited outbreak of HPAI H5N1 was experienced [11] involving mostly few affected mute swans (*Cygnus olor*) a fully resident species, which cannot have imported the virus [5].

Since for decades the current type of exchange of strains between free range domestic poultry and game and free living wild birds can have occurred, it could be hypothesised that a local resilience to HP strain can have been locally settled. Much more detailed studies on the genetics of circulating AIV strains, both in the domestic and wild compartments could enlighten this very peculiar ecosystem.

Bibliography:

1. Munster, V.J., et al., *Mallards and Highly Pathogenic Avian Influenza Ancestral Viruses, Northern Europe.* Emerging Infectious Diseases, 2005. **11**(10): p. 1545-1551.
2. Sims, L.D., et al., *Origin and evolution of highly pathogenic H5N1 avian influenza in Asia.* The Veterinary Record, 2005. **157**(6): p. 159-159.
3. Capua, I. and D.J. Alexander, *Avian influenza infections in birds; a moving target.* Influenza and Other Respiratory Viruses, 2007. **1**(1): p. 11-18.
4. Boyce, W.M., et al., *Avian influenza viruses in wild birds: A moving target.* Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 2008. **In Press, Corrected Proof**.

5. Hars, J., et al., *The epidemiology of the highly pathogenic H5N1 avian influenza in mute swan (Cygnus olor) and other anatidae in the Dombes region (FRANCE), 2006.* J Wildl Dis, 2008. **44**(4): p. 811-823.
6. van den Berg, T., et al., *Influenza vaccines and vaccination strategies in birds.* Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 2008. **31**(2-3): p. 121-165.
7. Fouchier, R.A.M., et al., *Detection of Influenza A Viruses from Different Species by PCR Amplification of Conserved Sequences in the Matrix Gene.* Journal of clinical microbiology, 2000. **38**(11): p. 4096–4101.
8. Fouque, C. and J.L. Couvillers, *Enquête sur les dénombrements hivernaux des anatidés et de la foulque macroule : 12 hivers en région Rhône-Alpes*, in *Réseau national : Oiseaux d'Eau et Zones Humides*, ONCFS, Editor. 2001: Birieux (01).
9. Lebreton, P., A. Bernard, and M. Dupuet, eds. *Guide du Naturaliste en Dombes*. ed. D.e. Niestlé. 1991: Neuchâtel, Paris. 430.
10. Cherbonnel, M., et al., *Virologic findings in selected free-range mule duck farms at high risk for avian influenza infection.* Avian diseases, 2007. **51**(s1): p. 408-413.
11. Doctrinal, D., et al., *Spatio-temporal pattern of the 2006 HPAI H5N1 outbreak in the Dombes area, France.* In progress, 2009.
12. Alexander, D.J., *Report on avian influenza in the Eastern Hemisphere during 1997–2002.* Avian diseases, 2003. **47**(s3): p. 792-797.
13. Alexander, D.J., *Summary of avian influenza activity in Europe, Asia, Africa, and Australasia, 2002–2006.* Avian diseases, 2007. **51**(s1): p. 161-166.
14. Bragstad, K., et al., *New avian influenza A virus subtype combination H5N7 identified in Danish mallard ducks.* Virus Research, 2005. **109**(2): p. 181-190.
15. Kang, S., et al., *Phylogenic analysis of reassorted avian influenza viruses isolated from Korean domestic ducks from 2005 to 2007.* Virus Genes, 2009. **38**(1): p. 80-84.
16. Shortridge, K.F., *Avian influenza A viruses of southern China and Hong Kong: ecological aspects and implications for man.* Bulletin of the World Health Organization, 1982. **60**(1): p. 129-135.
17. Cattoli, G., et al., *Influenza virus surveillance in wild birds in Italy: results of laboratory investigations in 2003–2005.* Avian diseases, 2007. **51**(s1): p. 414-416.
18. Wallensten, A., et al., *Surveillance of influenza A virus in migratory waterfowl in Northern Europe.* Emerg Infect Dis, 2007. **13**(3): p. 404-411.
19. Hesterberg, U., et al., *Annual Report on surveillance for avian influenza in wild birds in the EU during 2007.* . 2008, SANCO (European Commission).
20. Munster, V.J., et al., *Spatial, Temporal, and Species Variation in Prevalence of Influenza A Viruses in Wild Migratory Birds.* PLoS Pathogens, 2007. **3**(5): p. e61.

3 Discussion sur l'intérêt des sentinelles dans notre étude

Sur l'ensemble des échantillons prélevés sur les colverts sentinelles installés sur trois sites différents seul un écouvillon s'est révélé être positif, la souche n'ayant pu être identifiée. Ce résultat tend à montrer que le Colvert n'est pas une espèce intéressante dans un objectif de détection précoce de toute circulation de virus Influenza. L'espèce sentinelle choisie doit être suffisamment sensible pour permettre la mise en évidence de la présence de virus Influenza avant la phase épidémique. Certaines études se sont penchées sur le rôle du cygne (*Cygnus olor*) et font de cette espèce une espèce candidate au rôle de sentinelle (Hars, Ruette et al. 2008). Toute la communauté scientifique souligne que le système de surveillance de l'Influenza Aviaire passe par la mise en place de méthodes de détection précoce de circulation virale et un effort tout particulier serait à produire sur la sélection d'espèces sentinelles clé de voûte de la détection précoce (Guberti and Newman 2007; Martin, von Dobschuetz et al. 2007).

En résumé: Alors que la campagne de prélèvements d'écouvillons qui a donné lieu à la rédaction de l'article ci dessus se terminait, nous avons vu apparaître les premiers cas de H5N1 Hautement Pathogène dans notre région d'étude.

L'épizootie d'Influenza Aviaire Hautement Pathogène ne concernera que l'avifaune sauvage à l'exception d'un élevage de dindes de l'Ain situé au cœur du foyer épizootique.

Nous avons pu grâce aux autorités sanitaires locales (Direction des Services Vétérinaires de l'Ain et Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage) bénéficier d'un accès aux données de l'épizootie c'est à dire les cas, leur localisation, les espèces concernées ainsi que la chronologie des évènements. A partir de ces données, nous proposons dans l'article ci après une analyse spatio-temporelle de l'épizootie d'H5N1 Hautement Pathogène en Dombes

4 Estimation des principaux paramètres épidémiologiques de l'épizootie de 2006 en Dombes

4.1 Matériel et méthodes

Dans la mesure où le virus H5N1 HP n'était pas présent en Dombes avant Février 2006, nous partons du principe de la dynamique d'infection des étangs de la Dombes pendant l'épizootie d'H5N1 de 2006 résulterait de la combinaison de deux processus consécutifs ou simultanés : l'introduction du virus par des individus infectés et la transmission aux populations présentes au même moment dans cette région. Une telle situation peut être modélisée en appliquant un modèle compartimental classique aux étangs de la région d'étude. Chaque étang se voit attribué un état « sensible » (S), « infecté » (I) ou « mort » (D pour Dead). La totalité de l'effectif « étangs » (N) est réparti dans ces trois catégories (N= S+I+D). Les étangs « S » sont ceux sur lesquels on dénombre des oiseaux sensibles au virus mais dont aucun n'est infecté par celui-ci. Les étangs « I » sont ceux sur lesquels au moins un oiseau a été retrouvé infecté et les étangs « D » sont ceux sur lesquels au moins un oiseau a été retrouvé mort suite à l'infection par le virus H5N1. La dynamique d'infection des étangs est classiquement décrite par le système d'équations différentielles suivant,

$$\begin{cases} \dfrac{dS}{dt} = -\left[\lambda(t) + \beta I\right] S + \alpha(1-x) I \\ \dfrac{dI}{dt} = \left[\lambda(t) + \beta I\right] S - \alpha I \\ \dfrac{dD}{dt} = \alpha x I \end{cases}$$

où la force d'infection *F* est la somme de deux composantes :

$F = \lambda(t) + \beta(I)$

$\beta(I)$ est la force d'infection intrinsèque du compartiment « I »

et $\lambda(t)$ la force d'infection extrinsèque. Celle-ci s'écrit de la façon suivante,

$$\lambda(t) = \begin{cases} 0 & ; \quad t < t_d \\ \dfrac{\lambda_0 (t - t_d)}{\tau} \exp\left[-\dfrac{(t - t_d)}{\tau}\right] & ; \quad t \geq t_d \end{cases}$$

Comme la contagion des étangs est assurée par les déplacements d'oiseaux infectés d'un étang « infecté » à un ou des étangs « sensibles », nous supposons que dans notre système

d'équations, le coefficient de transmission d'étang à étang β est fréquence-dépendant. Les autres paramètres de notre modèle sont décrits dans le tableau ci dessous.

Nous résolvons le système d'équations en partant des conditions initiales suivantes : N=S(0), I(0)=D(0)= 0. Nous comparons ensuite les résultats de nos simulations avec la courbe d'incidence cumulée observée en minimisant notre erreur par la méthode des moindres carrés. Les résultats obtenus par chaque paramètre de notre modèle sont exposés dans le même tableau.

Tableau 2: Paramètres du modèle. Les paramètres n0, Ns et R0 sont considérés comme des paramètres caractérisant l'épizootie.

Paramètre	*Définition*	*Valeur*	*Unité*
N	Nombre d'étangs exposés	21	–
t_d	Date d'introduction des oiseaux infectés	3.635	jours
λ_0	Taux d'infection par immigration	0.285	1/jour
2τ	Durée moyenne de l'immigration infectante	0.8	jours
β	Coefficient de transmission	0.026	1/jour
$1/\alpha$	Durée moyenne d'infection d'un étang	6.456	jours
x	% d'étangs I → D	68.82	%
n_0	Nombres d'étangs initialement infectés	2.26 [(c)]	–
N_s	Taille de l'épizootie	18.74 [(b)]	–
R_0	Taux de reproduction	0.879 [(c)]	–

[(a)]Le nombre d'étangs initialement infectés par le processus de contagion est obtenu par la formule suivante : $n_0 = N\left[1-\exp\{-\lambda_0\tau\}\right]$

[(b)]La taille de l'épizootie obtenue par le processus de contagion se calcule comme: $N_s = N - n_0$.

[(c)]La taille de l'épizootie subcritique est obtenue en calculant: $N_s = n_0/(1-R_0)$. Elle nous permet donc d'approcher le R_0.

*4.2 **Résultats***

La simulation qui s'approche le plus de la courbe d'incidence cumulée observée est présentée sur la figure ci dessous.

Si nous partons du principe que seuls 19 étangs ont été contaminés, notre modèle indique qu'à ce moment là, sur les 1200 étangs présents en Dombes en 2006, seuls 21 ont réellement été exposés. Seuls deux étangs infectés suffisent pour obtenir le profil épizootique observé. La durée moyenne d'infection des étangs serait de l'ordre de 6-7 jours, le coefficient de transmission de 0,026 jours. Tous les paramètres ainsi calculés aboutissent à un R_0 de 0,879.

4.3 Discussion

Le très petit nombre d'étangs exposés, la durée moyenne d'infection relativement courte, le coefficient de transmission faible et enfin le R_0 inférieur à 1 confirment que l'épizootie observée était une épizootie mineure.

La simulation de notre modèle la plus approchante de la courbe d'incidence cumulée observée fait état de 2 étangs contaminés initialement. A partir de cette observation nous proposons l'hypothèse d'une introduction de deux souches qui auraient circulé de façon concomitante dans cette région.

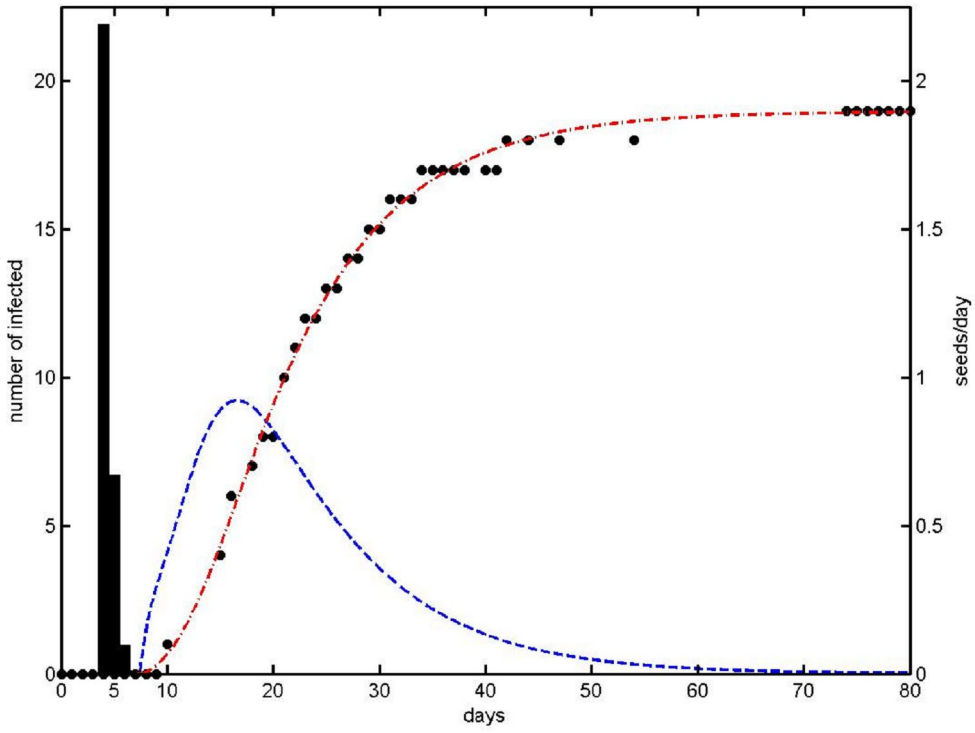


Figure 6 : Dynamique d'infection par le virus H5N1 des étangs en Dombes en 2006.
Axe des abscisses de gauche: les points représentent la courbe d'incidence cumulée observée (chaque point est un nouvel étang sur lequel au moins un oiseau a été retrouvé mort du virus H5N1), la courbe en pointillés rouge représente la meilleure simulation des données observées et la courbe en pointillés bleu représente la courbe théorique des étangs infectés (I) mais dont l'infection n'a pas été détecté d'après notre définition des

cas. Axe des abscisses de droite : l'histogramme représente le nombre d'étangs initialement infectés par jour tout au long de la phase d'introduction. Au maximum, un peu plus de 2 étangs seront infectés initialement d'après cet histogramme.

5 Analyse spatio-temporelle de l'épizootie de 2006 en Dombes

Cette analyse a fait l'objet de l'article ci-après paru dans la revue *Wildfowl* (Special issue (2009) 2 :202-214)

Spatial and temporal analysis of the highly pathogenic avian influenza H5N1 outbreak in the Dombes Area, France, in 2006

DELPHINE DOCTRINAL[1], SANDRINE RUETTE[2], JEAN HARS[3], MARC ARTOIS[4] & DOMINIQUE J. BICOUT[5]*

[1]Biomathématiques et Epidémiologie, EPSP/TIMC – ENVL, France.
[2]Office national de la Chasse et de la Faune Sauvage, Birieux, France.
[3]Office national de la Chasse et de la Faune Sauvage, Unité Sanitaire de la Faune, Gières, France.
[4]Biomathématiques et Epidémiologie, EPSP/TIMC – ENVL, France.
[5]Biomathématiques et Epidémiologie, EPSP/TIMC – Ecole National Vétérinaire de Lyon/Université de Lyon, 69280 Marcy l'Etoile, France.
*Correspondence author. E-mail: d.bicout@vet-lyon.fr

Abstract

In February 2006, the highly pathogenic H5N1 strain of the avian influenza virus was confirmed as being the cause of death for three Common Pochard *Aythya ferina* recovered at the same time from a pond in the Dombes, France. The subsequent epizootic lasted for 65 days in the Dombes region, with the last occurrence of the H5N1 strain of the virus confirmed on 18 April. Data recorded for dead wild birds collected on ponds and confirmed as being positive for the H5N1 strain of avian influenza were used to develop a pond-level analysis of the H5N1 outbreak. The outbreak was found to be limited mainly to Common Pochard and Mute Swan *Cygnus olor*, which were found dead at 20 of about 1,200 ponds in the Dombes. The outbreak was confined to an area of about 15 km in diameter, with two spatio-temporal clusters of ponds where birds had contracted the disease. The findings are used to assess the potential role played by wild waterfowl in avian influenza epidemiology and to suggest possible scenarios for the introduction and spread of the virus at a local scale based on analysis of its occurrence in the Dombes.

Key words: avian influenza, spatial analysis, temporal analysis, wild birds.

© Wildfowl & Wetlands Trust *Wildfowl* (2009) Special Issue 2: 202–214

Since the first cases of Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) H5N1 were reported in poultry in 1996, at which time efforts were made to eradicate the disease (Webster & Govorkova 2006), the H5N1 virus re-emerged in southeast Asia in 2003, resulting in sporadic human fatalities as well as mass mortality in the poultry industry (Peiris *et al.* 2004). This H5N1 strain is considered to be a good candidate for an influenza pandemic (Conly & Johnston 2004; Horimoto & Kawaoka 2001); attention therefore has focussed both on the mutation dynamics of this strain and on associated spatio-temporal patterns of HPAI outbreaks. The highly pathogenic H5N1 strain started to spread westwards in the summer of 2005, following an outbreak at Lake Qinghai, China, in April that year (Chen *et al.* 2005; Liu *et al.* 2005). The strain was found to be more lethal for wild birds than any previously recorded avian influenza virus (Chen *et al.* 2005; Liu *et al.* 2005). By the end of 2005, H5N1 outbreaks had occurred in both wild waterfowl and in domestic birds in Russia, Kazakhstan, Romania, Turkey and Ukraine, with Croatia and Mongolia additionally reporting cases for wild bird only (Webster & Govorkova 2006). Early in 2006, the HPAI H5N1 virus reached and spread throughout Western Europe (successively from Bulgaria, Italy, Germany, Austria, France and, almost simultaneously, Switzerland, United Kingdom and Bosnia) causing mortality most commonly in Mute Swan *Cygnus olor*. It has been suggested that the spread of the HPAI H5N1 virus could be due either to the movements of migratory birds or to the legal and illegal trade of birds and/or associated bird products (Kilpatrick *et al.* 2006; Gauthier-Clerc *et al.* 2007). Up to now, the spread of HPAI H5N1 virus within Europe remains poorly documented (Gaidet *et al.* 2007; Stallknecht & Brown 2007; Cromie *et al.* 2006), yet understanding how the virus propagates amongst wild birds is of paramount importance for controlling the disease in these populations.

On 13 February 2006 the HPAI H5N1 virus was first isolated in three Common Pochard *Aythya ferina* found dead on a pond in the Dombes, France (Hars *et al.* 2008). This was the first record of the disease in wild birds in France and the start date for this study. Ten days later, farm turkeys were found to be infected, but the subsequent epizootic which lasted for 65 days (*i.e.* until the H5N1 virus was last isolated from birds in the Dombes on 18 April 2006,) mainly concerned wild birds. During this period, the HPAI H5N1 virus was found in birds in a total of 42 swab pools (swab pools being swab samples grouped according to sample location) of which 39 were collected in the Dombes, two were recorded (on 27 February and 16 March) at Leman Lake, 100 km east of the Dombes, and one swan was found (on 28 February) on the Mediterranean coast, 300 km south of the Dombes (Hars *et al.* 2008; Le Gall-Recule *et al.* 2008). The 39 swab pools on the Dombes where birds tested positive for H5N1 consisted of 32 with Mute Swan cases, four with Common Pochard, one with a Grey Heron *Ardea cinerea*, one with a Buzzard *Buteo buteo* and one with a Greylag Goose *Anser anser*, giving a total of 67 dead wild birds of which 62 were collected on the ponds and five were collected either on roads or grazing areas

© Wildfowl & Wetlands Trust

next to the ponds. During the outbreak, a surveillance programme to monitor the spread of the disease was undertaken by staff of the National Game and Wildlife Service, who visited several ponds across the Dombes region every 1–5 days to allow early collection of bird carcasses. Between February and April 2006, The Dombes was the only region in France where the HPAI H5N1 virus was recorded in wild and domestic birds.

The aim of this paper was to perform a spatio-temporal analysis of incidence of HPAI in the Dombes, in order to provide some insight into the epizootology of the disease in this area. Ponds rather than individual birds therefore are treated as epidemiological units, and the analysis of the spread of HPAI H5N1 is at the pond scale.

Material and methods

Study area

The Dombes is located in the northern part of the Rhône Alpes region in France, ranging from 45°55'7"–46°12'20"N to 4°49'25"–5°14'59"E. It is a wetland mosaic, covering about 100,000 ha, and includes *c.* 1,200 ponds (Fig. 1). Pond size ranges from

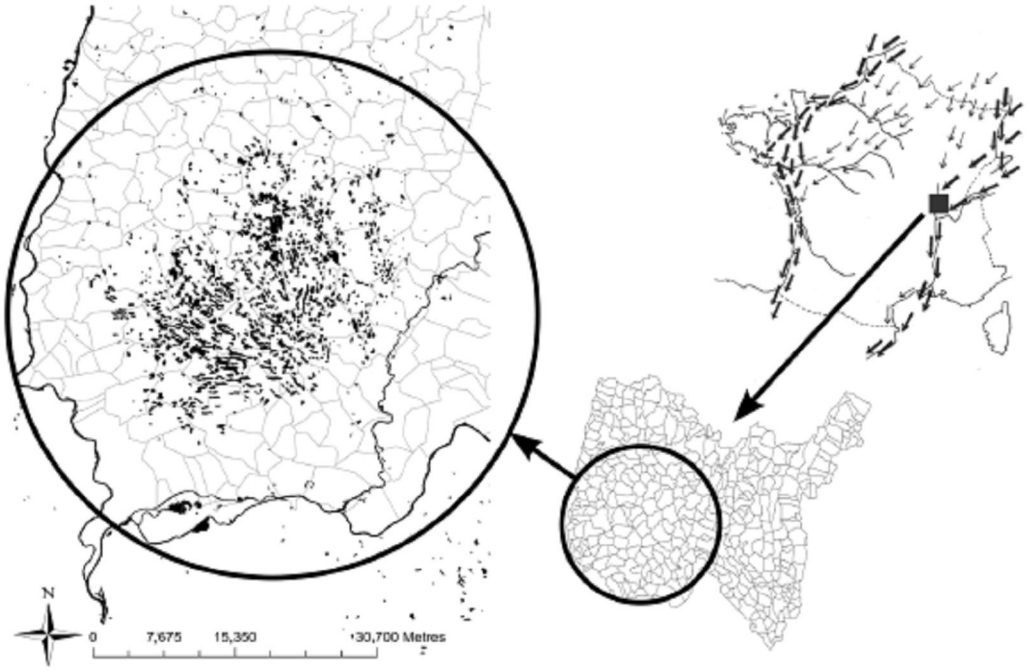


Figure 1: The Dombes area (enlarged map in the circle at the left), France (map at the top right), at the county level with lines representing boundaries between counties. The region is a stopover and wintering site for many bird species along one of the two main bird migratory routes (arrows in bold fonts in the map of France) across France. It is a wetland mosaic of more than a thousand ponds (scattered spots in the enlarged map).

© Wildfowl & Wetlands Trust

0.5–5.5 ha for half of them, while 10% of ponds exceed 22 ha. The mean distance between a pond and its nearest neighbouring pond is *c.* 370 m (s.d. = 358.53m). The site is on one of the two main routes used by birds migrating across France (Fig. 1), and is also an important breeding and wintering site for many wild waterfowl species, especially Mallard *Anas platyrhynchos* and Common Pochard (Hars *et al.* 2008; Bernard & Lebreton 2007; Fouque *et al.* 2005). The site is a wetland of international importance under the criteria set down in the Convention on Wetlands of International Importance especially as Waterfowl Habitat (the "Ramsar Convention") (Ramsar 2007), in that it receives > 20,000 waterfowl, including at least 1% of the biogeographic population for several Anatidae and Coot *Fulica atra* wintering in this area (Fouque *et al.* 2007). Mute Swan numbers have been growing exponentially in the Dombes (Benmergui *et al.* 2005), as in other parts of France and in Europe (Fouque *et al.* 2007). It is also close to the Bresse region, which has a large number of free-range poultry farms.

Definition of case ponds and treatment of the data

The way in which the swabs were collected does not allow a classical case study. When several dead birds were found on ponds or elsewhere, all were collected. Swab samples taken from the cloaca and trachea of these birds were then pooled according to birds' recovery location. It was therefore impossible to distinguish, within a pool, which swab corresponded to which individual bird. Thus, we did not consider individuals as cases but investigated the ponds from which a pool of swabs was found to include positive cases. As some of the swabs were not collected on ponds, but for example on roads or in grazing areas, and as these particular swab pools mainly consisted of one swab of a non-Anatidae species, the data were not homogeneous across swab pools. For the HPAI outbreak analysed in this study, the data consisted of 32 (out of 39 for the whole of the Dombes) H5N1 laboratory-confirmed positive swab pools, corresponding to 62 birds found dead on 20 different ponds, collected by National Game and Wildlife officers between 13 February and 18 April 2006. Dead birds were recovered from some ponds on >1 day, which provided several swab samples for these sites. The two waterfowl species mainly affected by the outbreak were Mute Swan and Common Pochard. Cloacal and tracheal swab samples collected from dead birds were tested by the local authorised laboratory and confirmed as positive at the National Reference Laboratory of Afssa Ploufragran (Le Gall-Recule *et al.* 2008). These data were recorded for the duration of the outbreak (Fig. 2) according to the geographic coordinates of the pond where the samples were collected and entered into a Geographic Information System. Ponds where dead birds were confirmed as being positive for HPAI H5N1 at least once during the outbreak are defined as "case ponds" for this study.

Spatial and temporal analyses

The K-mean clustering routine in CrimeStat (Aldenderfer & Blashfield 1984; Fisher 1958) was used to identify clusters of case

© Wildfowl & Wetlands Trust

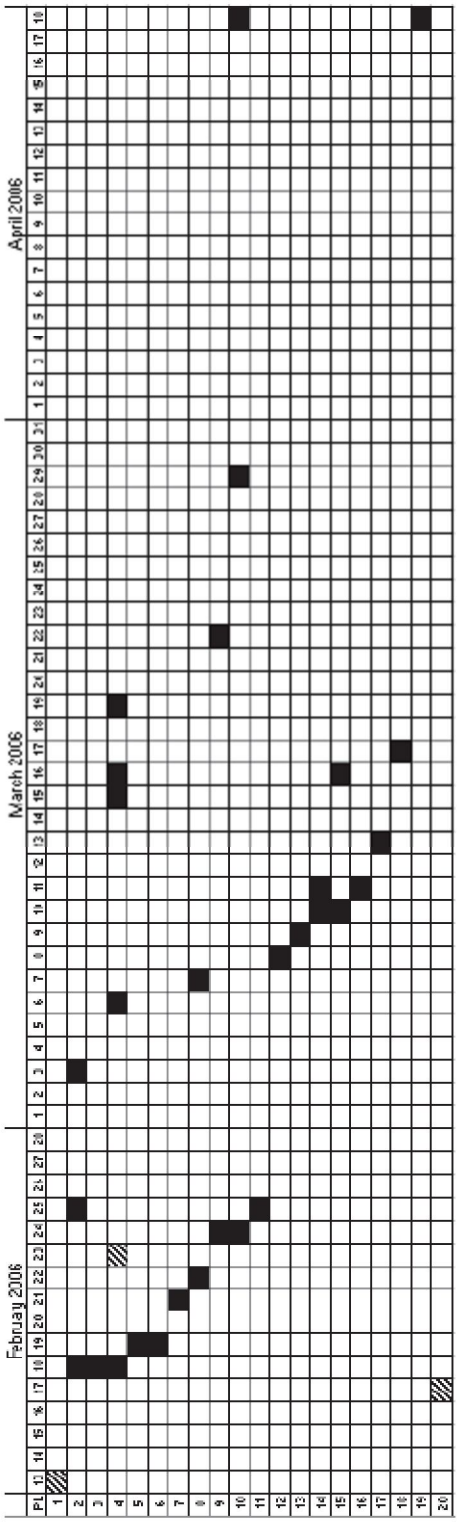


Figure 2: Chronology of the 2006 H5N1 outbreak on ponds in the Dombes area. PL stands for the pond label with the first case pond labelled 1. Dark squares correspond to case ponds with dead Mute Swans and dashed ones indicate those with Common Pochard. Pond 20 was excluded from the analysis as it is isolated and distant from the clusters of case ponds (see Fig. 4).

© Wildfowl & Wetlands Trust

ponds. A routine was developed and implemented in Matlab 7.0 to investigate space–time interactions and compute the relative risk of HPAI H5N1 occurring at case ponds, based on the Knox test (Knox 1964). This considered a case pond "i", characterised by its space-time coordinates $(\mathbf{r}_i, t_i)$, where $\mathbf{r}_i$ is the location and t_i the date of occurrence (*i.e.* the date of collection for dead birds confirmed positive for H5N1). For any pair "(i,j)" of case ponds, characterised by the space distance, $\Delta r_{ij} = |\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|$, and time spacing, $\Delta t_{ij} = |t_i - t_j|$, and given distance d and lag time t, the pair of cases was said to be: 1) close both in space and time if $\Delta r_{ij} < d$ and $\Delta t_{ij} < t$, or 2) close in space and not close in time if $\Delta r_{ij} < d$ and $\Delta t_{ij} > t$, or 3) not close in space but close in time if $\Delta r_{ij} > d$ and $\Delta t_{ij} < t$, or 4) not close both in space and time when $\Delta r_{ij} > d$ and $\Delta t_{ij} > t$. This latter case was omitted as it was not relevant for cluster identification. For all pairs of case ponds considered, the relative risk (RRn) with respect to the above criteria "n" (*i.e.*, n = criterion 1, 2 or 3) was defined as the ratio of the observed number of pairs satisfying the criteria n to the expected number of pairs found by chance to be satisfying the same criteria (Tran *et al.* 2004). The expected number of pairs found by chance was obtained from observed data by distributing the dates of occurrence (locations) at random across the case locations (dates of occurrence) and averaging the calculated numbers over the number of trials. RRn > 1 indicates the relative risk (RR) of occurrence of a case pond t days and d kilometres away from the first case for n = 1, d kilometers away from the first case for n = 2, and t days after the first case for n = 3. The three space-time interaction indices RR1, RR2 and RR3, corresponding respectively to criteria 1, 2 and 3, were computed for space distances d varying from 0.5–29 km (in 0.5 km steps) and lag times t varying from 1–66 days (in 2-day steps).

Results

Description of the outbreak

Not all of the 1,200 ponds were monitored throughout the outbreak, so the reported number of ponds with positive cases of HPAI H5N1 may have been higher than presented here. The results presented include an assumption that uncertainty regarding the number of positive ponds was of about 5%. Binomial tests therefore were used to provide a *P* value of ± 5% for each ratio, together with the corresponding 95% confidence intervals.

Dead birds were collected from ponds on 33 occasions on 24 days during the 65-day outbreak of the disease (Fig. 2). Of the 1,200 ponds in the study area, 20 (1.67%) were case ponds, with at least one bird tested positive for HPAI H5N1 during the outbreak (*P* = 0.05, 95% C.I. = 1–2.6%). A rough estimation of the basic reproductive number R_0 (the mean number of secondary case ponds generated from an index case) can be obtained in writing the epidemic size (total number of case ponds) $N_s = 20$ as $N_s = n_0 (1 + R_0 + R_0^2 + \dots) = n_0/(1 - R_0)$, where n_0 is the seed number of case ponds, n_0R_0 the number of new case ponds generated by n_0 ponds, and so forth. Inverting this expression for R_0, $R_0 = 0.95$ for $n_0 = 1$ and $R_0 = 0.90$ for $n_0 = 2$, with R_0

© Wildfowl & Wetlands Trust

decreasing with n_0. The distribution of the number of times that dead birds were found to be infected on case ponds was once for 13 of the ponds, twice for four ponds (ponds 8, 9, 14, 15), three times for two ponds (ponds 2 and 10) and six times for one pond (pond 4). Apart from pond 5, all case ponds were > 9 ha. An assessment of the first time that dead birds tested positive for H5N1 were found at each pond showed that pond-switching (*i.e.* the appearance or reappearance of the disease at a case pond) occurred on 25 occasions, with a mean time interval between the two successive events of 3.76 days (s.d. = 6.38 days) and mean distance of 8 km (s.d. = 4.42 km) corresponding roughly, for a two dimensional isotropic diffusion, to a diffusion constant of (8*8)/(4*3,76) = 4.25 km²/day.

Space-time interactions

Calculated values of the relative risk of occurrence were ≤ 1 both for RR1 (case occurrence close both in space and time) and for RR3 (case occurrence not close in space but close in time), but were >1 for two space-time windows for RR2 (*i.e.* where case occurrences are close in space but not close in time). RR2 increased and peaked at a spatial distance of 2–5 km between 25–45 days after the initial occurrence, and again at about 60 days, suggesting a spatial clustering of case ponds with occurrence of the disease occurring in two phases (Fig. 3).

Cluster identification

Two non-overlapping clusters of case ponds A and B were identified about 5 km from

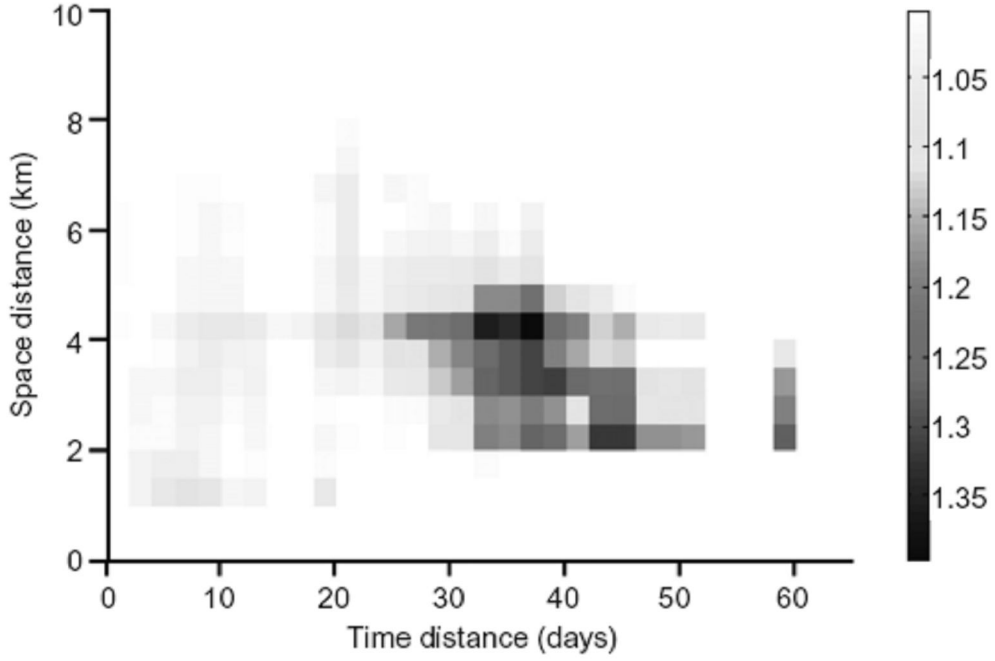


Figure 3: Relative risk (RR) for pairs of cases close in space but not in time. The grey bar indicates RR values with highest RR in darker grey and lowest ones in white.

© Wildfowl & Wetlands Trust

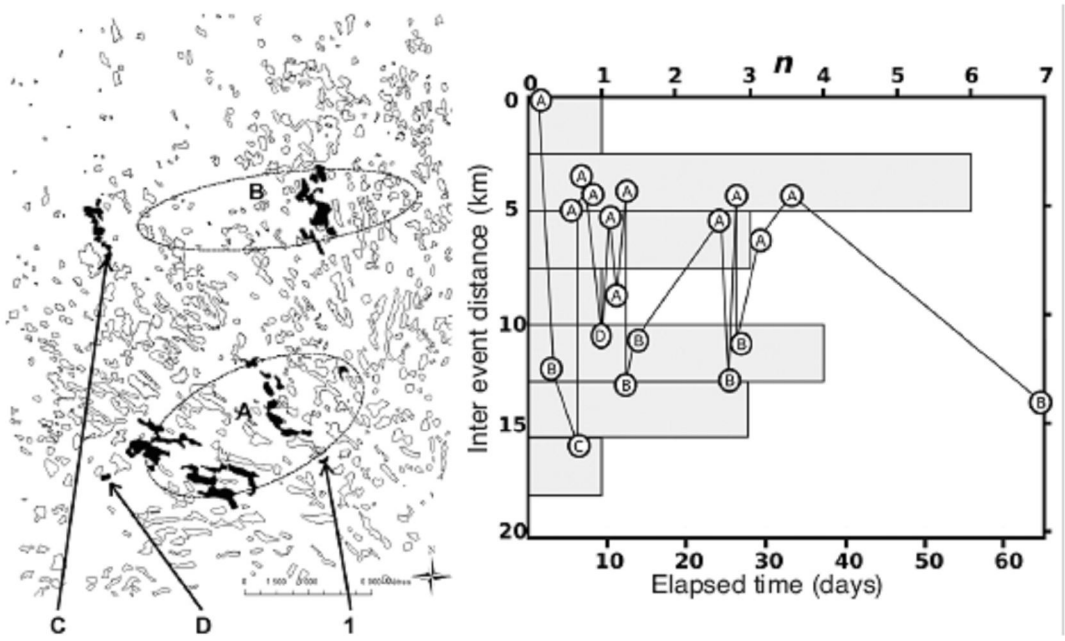


Figure 4: Left Panel: Cluster map of case ponds. Case ponds are shown in black and the two clusters A and B are delimited by ellipses around ponds. The distance between cluster centres is about 10 km. Pond C (the third one in the chronology of the outbreak course) belongs to cluster B. Pond 1 (the first case pond) and pond D (the seventh of the outbreak) are both included into cluster A.

Right Panel: Space – time and cluster – time distributions of cases. The vertical and bottom horizontal axes represent the spatial distance (km) and time interval (days) between the first case and the following ones, respectively. The upper horizontal axis corresponds to the number of case ponds (*n*) represented by a histogram. Circled letters stand for case ponds with the letter referring to the cluster they belong to.

each other (Fig. 4, left panel). Apart from the first case pond (belonging to cluster A) which concerned infected dead Common Pochard, all infected dead birds in both clusters A and B were Mute Swan. Fig. 4 (right panel) shows how the case ponds were distributed over the clusters during the course of the outbreak. It was observed that 11 ponds (labelled 1,4,5,6,8,9,10,13,15,17 and 18 in Fig. 2) belonged to cluster A; H5N1 appeared here for the first time between days 1–12, and again between days 24–32 of the outbreak. Five ponds (labelled 11, 12, 14, 16 and 19 on Fig. 2) belonged to cluster B. These were infected between days 2–23, and again between days 25–64 of the outbreak. One pond (pond 3; labelled C on Fig. 4) was located on the western side of cluster B. This pond is the furthest away from the initial outbreak at pond 1. One pond (pond 7; labelled D on Fig. 4) was located on the western side of cluster A.

Most case ponds (60%) belonged to the group centred < 5 km from the initial case

© Wildfowl & Wetlands Trust

pond (cluster A, if pond 7 labelled D in Fig. 4 is included in cluster A), while the remaining 40% of cases fell into cluster B (if pond 3 labelled C in Fig. 4 is included in cluster B), centred *c.* 12.5 km from the initial case pond (Fig. 4). The mean distance between case ponds within clusters was approximately 5 km (cluster A: mean = 6.18 km, s.d. ± 3.56 km; cluster B: mean = 5.38 km, s.d. ± 4.3 km).

Discussion

The outbreak of HPAI H5N1 in wild birds in the Dombes in 2006 followed a period of cold weather, during which wildfowl congregated in large numbers on large ponds. The outbreak was an epizooty of minor size, mainly involving wild birds. It was initially found in a few Common Pochard but had a greater effect on Mute Swans with more swans dying of the disease. The outbreak was fairly localised within the Dombes since it was confined to a circle of *c.* 15 km in diameter, with two clusters of case ponds *c.* 5km from each other.

Transmission of HPAI H5N1

At the time that the virus reached the Dombes area, waterfowl were highly concentrated on a small number of ponds, for two reasons. Firstly, in contrast to the summer, the occupation rate of ponds usually decreases down to 20% (*i.e.* during the winter season only 20% of the 1,200 ponds are occupied) as birds gather onto large unfrozen waterbodies (Bernard & Lebreton 2007). Secondly, the 2005/06 winter was particularly cold with a total of 97 days of sub-zero temperatures in the study area from 1 November 2005 to 30 April 2006. Freezing conditions result in an even higher concentration of birds on the remaining ice-free areas of water, and the areas of open water were at a minimum at the end of January 2006. Thus the weather not only led to a high concentration of birds but increased the likelihood of contact between them, which is favourable for the transmission of avian influenza viruses (Zhang *et al.* 2006; René & Bicout 2007). Despite the conditions, the number of dead birds and case ponds recorded suggest that the 2006 episode was a minor outbreak, with a basic reproductive number R_0 lower than one. Assuming that contacts between birds were very likely, a $R_0 < 1$ would thus imply either that the virus was weakly contagious (*i.e.* the bird-to-bird viral transmission was feeble), that the infectiousness duration was quite short for birds which later recovered, and/or that the virus was so highly lethal that the mean time from contracting the virus to the death of the bird was very short.

To attempt an understanding of the low number of cases observed during the outbreak, we suggest that the heterogeneity in the response to H5N1 viral infection of different bird species could have played the key role. In this perspective, populations of birds in contact for H5N1 transmission during the outbreak would be considered as being composed of mixed bird species, which could be classified into three categories according to their response to H5N1 infection. The first category, "Victim Birds", may be defined as being highly susceptible to viral infection with a short mean death time, and a high viral excretion level. Swans apparently behaved in this way

© Wildfowl & Wetlands Trust

in the present study. The second category, "Victim-Source Birds", could be defined as being less susceptible than victim ones to viral infection, with low mortality rate. When infected, such birds would either be highly contagious with a high excretion level but of short duration, or poorly contagious with a low excretion level but of rather long duration. These two opposite situations are equivalent in terms of generating secondary cases. Common Pochard apparently behaved in this way in the present study. Thirdly, "Source-like Birds" would have a low susceptibility to viral infection with no associated mortality and very low morbidity. The infection for these birds would mainly be asymptomatic and their excretion level high enough to ensure infection of the other bird species. One of the key roles of these reservoir like birds would be to allow both persistence of viruses in the ecosystem and transmission of viruses to other bird species (Haydon *et al.* 2002). Published data suggest that the Mallard would be a likely candidate for this category (Munster *et al.* 2005; Keawcharoen *et al.* 2008). This proposed categorisation of birds may be seen as speculative, but may also help with developing hypotheses and shaping the framework for future epidemiological fieldwork and mathematical modelling studies on the role of bird heterogeneity in the propagation of avian influenza. Other authors have also suggested a similar approach (Hars *et al.* 2008).

Introduction and propagation of HPAI H5N1 in the Dombes

Earlier studies suggest that there were no HPAI H5N1 viruses circulating in waterfowl in the Dombes before the 2006 outbreak (Durand 2006). Several possible scenarios for the introduction and propagation of the virus can therefore be proposed. Scenario 1) is that multiple introductions occurred, with all infections originating elsewhere and infected cases being imported into the Dombes, with no transmission between birds within the Dombes during the outbreak. This scenario implies several migration waves or a wider migration wave of birds during the 64-day outbreak. According to ornithologists, such kinds of bird movements are unlikely and were not observed at all in the area during the episode. Scenario 2) is a single introduction of the H5N1 virus from elsewhere to a pond in cluster A, followed by a contagion of ponds in both clusters A and B. Scenario 3) is the simultaneous introduction of the H5N1 virus from elsewhere into both clusters A and B (given that the first case on 13 February in cluster A and the next on 18 February in cluster B are close in time), followed by a contagion process of nearby ponds in both clusters. Scenario 4) is a combination of early introductions of H5N1 viruses by reservoir-like species during the incoming migration in autumn 2005 and persistence of infectious viruses in the bird-environment ecosystem due to favourable weather conditions. The increase in bird concentrations during the cold period in January–February 2006 may have triggered the onset of the transmission-contagion process to victim and/or intermediate bird species such as Common Pochard and Mute Swans.

Whether the contagion process, for any of the three last scenarios, was intra-cluster,

© Wildfowl & Wetlands Trust

inter-cluster or both simultaneously are all plausible and consistent with daily distances covered by birds (for instance ducks) to cover their resting and feeding requirements throughout the day (Tamisier 1978). In future assessment of the three scenarios, distances between ponds may be used as a proxy to assess the contact between infected units. The virus is known to survive in cold water (Stallknecht *et al.* 1990; Stallnecht *et al.* 1990), but propagation via cold water was not considered in the present study as it was not known exactly how ponds in the study area are inter-connected via canals or rivers. This would also be worth testing in a future analysis. Having some insight into the way in which the viruses were disseminated during the 2006 episode is of major importance for a better assessment of the risk of H5N1 spreading both spatially and temporally, not only in the study area but potentially for other areas. In the case of both intra- and inter-cluster contagion, the H5N1 infection spread with a diffusion constant of about 4.25 km²/day. Eventually, it was reported that two different H5N1 strains circulated in the Dombes during the outbreak (Le Gall-Recule *et al.* 2008). This finding may support the hypotheses of either two viral introductions with no mutations, or one single viral introduction with mutations. Further investigations on which strain infected which ponds would be very informative for describing the propagation of the H5N1 virus in the Dombes area in 2006.

Acknowledgements

We are grateful to the Veterinary services of the Ain Département and the National Game and Wildlife (ONCFS) officers for authorising us to analyse their collected data. This study was performed thanks to the collaboration of the staff of the National Reference Laboratory of the AFSSA Ploufragan and of the Departmental Veterinary Laboratory of Ain who performed *post mortem* examinations and virological analyses. We are also grateful to the Departmental Agriculture and Forest Office for providing the environmental database (BD Cartho® IGN and Landsat®). We thank Jean-Yves Fournier, Benoît Castanier and Philippe Lebreton for their help in the understanding of the ecology of wild waterfowl in the Dombes area. Finally, we acknowledge the financial support from "Region Rhône Alpes" in the form of Ph.D. grant to Delphine Doctrinal.

References

Aldenderfer, M. & Blashfield, R. (eds.) 1984. *Cluster Analysis*. Beverly Hills, California, USA.

Benmergui, M., Fournier, J. Y., Fouque, C. & Broyer, J. 2005. L'expansion du cygne tuberculé en Dombes. *Faune Sauvage* 266: 22–28.

Bernard, A. & Lebreton, P. 2007. Les oiseaux de la Dombes: une mise à jour. *Académie de la Dombes* 27.

Chen, H., Smith, G. J. D., Zhang, S. Y., Qin, K., Wang, J., Li, K. S., Webster, R. G., Peiris, J. S. M. & Guan, Y. 2005. H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl. *Nature* 436(7048): 191–92.

Conly, J. M. & Johnston, B. L. 2004. Influenza – Expect the unexpected. *The Canadian Journal of Infectious Diseases* 15: 1.

Cromie, R. L., Lee, R. & Hughes, B. 2006. Avian influenza: a short review of the disease in wild birds, and of winter bird surveillance during winter 2005/06. *Wildfowl* 56: 197–202.

Durand, I. 2006. Contribution à l'étude de l'Influenza aviaire en Dombes. Epidémiologie chez les anatinés sauvages. Veterinary Thesis, Université Claude Bernard, Lyon, France.

© Wildfowl & Wetlands Trust

Fisher, W. 1958. On grouping for maximum homogeneity. *Journal of the American Statistical Association* 53: 789–798.

Fouque, C., Caizergues, A., Guillemain, M., Fournier, J. Y., Benmergui, M., Mondain-Monval, J. Y. & Schrike, V. 2005. Distribution des effectifs hivernaux de Fuligules milouins en France et tendances d'évolution sur les 16 derniers hivers. *Faune Sauvage* 268: 4–17.

Fouque, C., Guillemain, M., Benmergui, M., Delacour, G. & Mondain, J.-Y. 2007. Mute swan (*Cygnus olor*) winter distribution and trends in numbers in France 1987/1988 – 2002/2003. *Journal of Ornithology* 148: 477–487.

Gaidet, N., Dodman, T., Caron, A., Balanca, 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 (Supplement No. 3): S22–28.

Gauthier-Clerc, M., Lebarbenchon, C. & Thomas, F. 2007. Recent expansion of highly pathogenic avian influenza H5N1: a critical review. *Ibis* 149: 202–214.

Hars, J., Ruette, S., Benmergui, M., Fouque, C., Fournier, J. Y., Legouge, A., Cherbonnel, M., Baroux, D., Dupuy, C. & Jestin, V. 2008. The epidemiology of the Highly Pathogenic H5N1 avian influenza in the mute swan (*Cygnus olor*) and other *Anatidae* in the Dombes region (France), 2006. *Journal of Wildlife Diseases* 44: 811–823.

Haydon, D.T., Cleaveland, S., Taylor, L.H. & Laurenson, M.K. 2002. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerging Infectious Diseases* 8: 1468–1473.

Horimoto, T. & Kawaoka, Y. 2001. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clinical Microbiology Review* 14: 129–149.

Keawcharoen, J., van Riel, D., van Amerongen, G., Bestebroer, T., Beyer, W. E., van Lavieren, R., Osterhaus, A. D. M. E., Fouchier, R. A. M. & Kuiken, T. 2008. Wild ducks as long-distance vectors of highly pathogenic Avian Influenza viruses (H5N1). *Emerging Infectious Diseases* 14: 600–607.

Kilpatrick, A.M., Chmura, A.A., Gibbons, D.W., Fleischer, R.C., Marra, P.P. & Daszak, P. 2006. From the Cover: Predicting the global spread of H5N1 avian influenza. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 19368–19373.

Knox, E. 1964. The detection of space-time interactions. *Applied Statistics* 13: 25–29.

Le Gall-Recule, G., Briand, F.X., Schmitz, A., Guionie, O., Massin, P. & Jestin, V. 2008. Double introduction of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus into France in early 2006. *Avian Pathology* 37: 15–23.

Liu, J., Xiao, H., Lei, F., Zhu, Q., Qin, K., Zhang, X.-w., Zhang, X.-l., Zhao, D., Wang, G., Feng, Y., Ma, J., Liu, W., Wang, J. & Gao, G.F. 2005. Highly Pathogenic H5N1 Influenza Virus Infection in Migratory Birds. *Science* 309: 1206.

Munster, J., Wallensten, A., Baas, C., Rimmelzwaan, G.F., Schutten, M., Olsen, B., Osterhaus, A. & Fouchier, R. 2005. Mallards and highly pathogenic Avian Influenza viruses, Northern Europe. *Emerging Infectious Diseases (serial on the internet)* 11(10): 1545–1551.

Peiris, J.S.M., Yu, W.C., Leung, C.W., Cheung, C.Y., Ng, W.F., Nicholls, J.M., Ng, T.K., Chan, K.H., Lai, S.T., Lim, W.L., Yuen, K.Y. & Guan, Y. 2004. Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. *The Lancet* 363: 617–619.

Ramsar 2007. *The Ramsar Convention Manual: 4th Edition*. Retrieved November 2007 from http://www.ramsar.org/lib/lib_manual2006e.htm

© Wildfowl & Wetlands Trust

Rene, M. & Bicout, D.J. 2007. Influenza aviaire: Modélisation du risque d'infection des oiseaux à partir d'étangs contaminés. *Epidémiologie et santé animale* 51: 95–109.

Stallknecht, D.E. & Brown, J.D. 2007. Wild birds and the epidemiology of Avian Influenza. *Journal of Wildlife Diseases* 43 (Supplement No. 3): S15–20.

Stallknecht, D.E., Shane, S.M., Kearney, M.T. & Zwank, P.J. 1990. Persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Diseases* 34: 406–11.

Stallnecht, D.E., Kearney, M.T., Shane, S.M. & Zwank, P.J. 1990. Effects of pH, temperature, and salinity on persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Diseases* 34: 412–8.

Tamisier, A. 1978. The functional units of wintering ducks: a spatial integration of their comfort and feeding requirements. *Verhandlungen der Ornithologischen Gesellschaft in Bayern* 23: 229–238.

Tran, A, Deparis, X., Dussart, P., Morvan, J., Rabarison, P. & Remy, F. 2004. Dengue spatial and temporal patterns, French Guiana, 2001. *Emerging Infectious Diseases.* 10: 615–621.

Webster, R.G. & Govorkova, E.A. 2006. H5N1 influenza – continuing evolution and spread. *The New England Journal of Medicine* 355: 2174–2177.

Zhang, G., Shoham, D., Gilichinsky, D., Davydov, S., Castello, J.D. & Rogers. S.O. 2006. Evidence of influenza A virus RNA in Siberian lake ice. *Journal of Virology* 80: 12229–35.

6 Discussion sur la première partie

Dans un premier temps, la réflexion théorique à partir d'un modèle SEIR sur les étangs infectés nous a permis de tester plusieurs scénarios d'introduction/propagation. Il en ressort que :

- un processus d'introduction simple n'explique pas le nombre de cas obtenus, il y a donc eu introduction et propagation
- mais les paramètres de l'épizootie et notamment le R_0 (estimé à 0,879) ne permettent pas la propagation à une échelle plus importante et que donc cette épizootie était mineure

Les résultats de l'analyse spatio-temporelle des cas met en évidence la présence de 2 clusters de cas étangs apparaissant au fur et à mesure sur un temps assez long mais avec un coefficient de diffusion faible par rapport à la capacité de dissémination des espèces concernées.

Les résultats des études phylogénétiques font apparaître la circulation concomitante de deux souches (Le Gall-Recule, Briand et al. 2008) alors que notre enquête épidémiologique n'a pas réussi à mettre en évidence la présence de souches H5N1 HP dans l'échantillon prélevé entre septembre 2005 et février 2006. Il s'agit donc bien d'une double introduction en Dombes de deux souches H5N1 HP en février 2006.

Il serait donc intéressant d'aller plus loin dans l'étude de la phase d'introduction en mettant en relation les données obtenues par notre analyse spatiale et temporelle, celles obtenues par le modèle SEIR et enfin celles obtenues par l'étude d'épidémiologie moléculaire conduite par le Laboratoire National de Référence de Ploufragran afin de vérifier si:

- le virus ne s'est introduit que sous la forme d'une seule souche puis que celle-ci a muté
- deux souches différentes du H5N1 ont été introduites dans la population aviaire sauvage en Dombes et ont co-circulé.

Pour ce qui est de l'analyse de la phase de propagation, il reste encore à exploiter les paramètres obtenus comme la durée moyenne d'infection d'un étang en les associant à un modèle de dispersion locale des oiseaux afin de mieux appréhender la propagation locale du virus par les mouvements d'oiseaux.

A partir des paramètres obtenus, un premier calcul de risque est envisageable afin de mieux cerner le niveau de risque pour chaque étang de façon dynamique. Il est aussi envisageable de faire de même avec les élevages voisins de ces même étangs afin de proposer des cartes de

niveau de risque évoluant au cours du temps en fonction du nombre d'étangs infectés. Ce calcul de risque sera proposé dans la seconde partie de notre travail.

En résumé : Dans la première partie de ce travail nous avons cherché à caractériser la population « source »

Notre enquête épidémiologique nous a permis d'établir un état des lieux de la présence des virus Influenza dans cette population en Dombes et surtout de souligner l'absence de H5N1 HP avant l'apparition des premiers cas en février 2006.

Le modèle SEIR proposé pour les étangs infectés fait état de paramètres épizootiques ne permettant pas à l'épizootie de se propager mais semble écarter l'hypothèse d'une simple introduction. Au contraire, il faut considérer un processus d'introduction puis de propagation pour expliquer au mieux la courbe d'incidence cumulée observée.

L'analyse spatio-temporelle des cas « étangs » concorde avec les observations des études d'épidémiologie moléculaire dans le sens où elle fait état de deux clusters où deux souches auraient pu circuler.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous nous proposons de réfléchir sur le mode de circulation des virus Influenza dans les populations concernées par le modèle conceptuel.

Dans un premier temps, nous avons réalisé une analyse théorique à partir de paramètres issus de la littérature. Cette analyse nous permet d'émettre des hypothèses quand aux caractéristiques des virus circulant au sein de chacune des populations du système.

Dans un deuxième temps, à partir des hypothèses émises par la modélisation théorique sur les caractéristiques des virus circulant dans les populations « source », nous nous intéressons aux interactions entre une population « source » et une population « cible ». Nous utilisons pour cette étude des données obtenues pour la région d'étude par des études ornithologiques et des données de comptages sur un étang réserve en Dombes. Nous caractérisons ces interactions à la fois à l'échelle temporelle et à l'échelle spatiale.

Enfin, dans un troisième temps, nous proposons un calcul de risque sur les élevages voisins des étangs infectés au cours de l'épizootie de 2006 sur la base du modèle d'exposition spatiale développé dans la partie précédente.

Deuxième partie:

Epidémiologie synthétique de l'Influenza Aviaire

Dans cette partie, nous abordons d'abord l'intérêt de la modélisation épidémiologique en tant qu'outil incontournable à l'évaluation du risque en matière d'Influenza.

Puis nous exposons les sorties de notre modèle SEIR développé au cours de notre travail de thèse et dégageons des axes de recherche à partir des conclusions obtenues par les sorties du modèle. Ces sorties ont été obtenues à partir de données théoriques récupérées de la littérature.

Enfin, nous réutilisons le modèle à partir de données réelles notamment des données démographiques concernant deux espèces sauvages, le colvert et le milouin. Notre but pour ce chapitre est de proposer une estimation du risque d'exposition de la volaille domestique à une souche Influenza Aviaire hébergée et transmise par les populations d'Anatidés sauvages. Ce risque d'exposition est estimé à la fois à l'échelle temporelle et spatiale.

A l'échelle temporelle, il s'agit d'estimer les conséquences sur les paramètres d'exposition de la variabilité de la proportion d'individus infectés dans la population sauvage. Cette estimation temporelle du risque a fait l'objet d'un premier article dont le texte est intégré ci dessous.

A l'échelle spatiale, il s'agit d'estimer le risque de contact entre population sauvage et domestique dans un environnement commun. La dimension spatiale du risque a fait l'objet d'un travail de Master 2 « Recherche » auquel nous avons contribué et qui a fait l'objet d'une deuxième publication faisant suite dans ce mémoire à la première publication

Enfin, le risque de contact est recalculé à partir des données de l'épizootie de 2006 afin de proposer des cartes de risque pour les élevages voisins des étangs contaminés.

1 Intérêt de la modélisation pour l'évaluation du risque

Cette partie représente un des chapitres de l'article intitulé « Role of Wild Birds in Avian Influenza » paru en Avril 2009 dans la Revue Scientifique et Technique de l'OIE (Artois, Bicout et al. 2009)

Le principe de la modélisation se résume ainsi : à partir de connaissances déjà acquises, le modèle essaye de prévoir l'évolution d'une maladie parmi une population, c'est à dire une espèce donnée (par exemple la population de colverts sauvages) ou une communauté c'est à dire un ensemble d'espèces (par exemple l'ensemble des espèces formant le « gibier d'eau »). L'objectif est :

- de mieux comprendre le mode de transmission et de circulation de l'agent pathogène causal

- d'élaborer des axes de recherches expérimentales ou de conduire une évaluation du risque
- d'évaluer l'efficacité de diverses stratégies de lutte contre la maladie étudiée

L'une des caractéristiques épidémiologiques de l'Influenza Aviaire est l'interaction entre un nombre très important de paramètres et de variables qui entrent en ligne de compte dans le processus de modélisation notamment :

- le nombre illimité de souches virales
- une pression sélective instable
- une expression clinique polymorphe (y compris des voies de transmission et d'excrétion multiples)
- une protection immunologique incertaine en lien étroit avec les infections précédentes par des sous-types plus ou moins associés
- une diversité d'hôtes avec la difficulté de catégoriser les individus par classe d'âge, de genre ou de comportement (Ferguson, Galvani et al. 2003)

Cependant, la modélisation est un des outils permettant de gérer la complexité. Elle permet notamment de dégager des priorités dans le choix des futures souches qui constitueront le vaccin de l'année suivante distribué à la population humaine (Earn, Dushoff et al. 2002). En matière d'Influenza Aviaire les avancées ne sont pas aussi importantes qu'en matière de grippe. Dans ce domaine, les scientifiques se sont focalisés sur les conditions d'un contrôle efficace des épizooties d'HPAI dans la filière d'élevage de la volaille (Ferguson, Cummings et al. 2005; Longini, Nizam et al. 2005; Ferguson, Cummings et al. 2006; Sharkey, Bowers et al. 2008).

Dans un principe de simplification deux approches de modélisation peuvent être considérées :

- la première est basée sur l'individu et la simulation de processus stochastiques (Situngkir 2004)
- la deuxième est connue sous le nom de « modélisation compartimentale » dans laquelle la population étudiée se subdivise en « compartiments » en fonction du statut infectieux des individus. Il s'agit des modèles dit « SIR » S pour Sensibles ou Susceptible en anglais, I pour Infecté ou Infected/Infectious et R pour Immunisé ou Recovered.(Anderson and May 1979)

Les modèles sont le plus souvent utilisés afin d'expliquer la dynamique de transmission de l'HPAI. Ils sont particulièrement utiles dans l'évaluation des conséquences de l'introduction de la maladie dans la filière commerciale et de l'efficacité des mesures de contrôle mises en place dans ce genre de situation. Cependant, les modèles ont rarement servi dans l'analyse

épidémiologique de la maladie chez les oiseaux sauvages. A ce jour, les modèles épidémiologiques considèrent que le risque épidémiologique chez les oiseaux sauvages est imprévisible .

L'évolution des souches dans leur environnement naturel est pourtant important. Des modèles se sont notamment intéressés à la dynamique d'interaction entre quatre souches sous l'influence de l'immunité croisée de l'hôte hébergeant ces souches. Par simplification les individus infectés devenaient immunisés ou sensibles après exposition à chacune des souches (Gog and Grenfell 2002). Ces modèles prévoient l'espérance de vie de l'hôte. Ils mettent en évidence l'influence de l'immunité « de masse » de la population infectée. Une immunité à long terme de la majorité des individus tend à réduire la diversité des souches en circulation dans la population. Le modèle ne prend cependant pas en considération l'effet « saison » ni la dimension spatiale de l'infection. Ceci sous entend que seule l'interaction hôte/virus décide de la dynamique d'infection de la maladie.

Le renouvellement de la population aviaire joue un rôle clef dans l'équilibre entre les virus Influenza Aviaire et l'avifaune aquatique (Guberti, Scremin et al. 2007). Le modèle développé par Guberti et. al. associe une dynamique de population de canards plongeurs et une dynamique d'infection par un virus LPAI. L'objectif du modèle est d'étudier la circulation d'une souche LPAI sur toute une année. Selon cette simulation, la taille critique nécessaire au maintien du virus durant tout un hiver au sein de la population est d'environ 1200 canards. Dans ces circonstances, le risque d'extinction de la souche avant le printemps suivant et l'apparition d'une nouvelle génération d'individus sensibles est très probable.

La fenêtre temporelle favorable au maintien et à la circulation des souches AI dans les populations d'oiseaux sauvages semble être aussi étroite (Doctrinal, Artois et al. 2006; Simon, Doctrinal et al. 2006). Le modèle montre que la période la plus favorable à l'introduction des souches HPAI dans le type de population étudié dépend fortement de la phénologie de la migration des espèces concernées et de la durée d'infection des souches. De même, si nous transposons les connaissances sur l'épidémiologie de la maladie dans la population domestique, le statut de portage virologique est essentiel dans le maintien de la maladie dans la population d'oiseaux sauvages (Sharkey, Bowers et al. 2008). Ainsi le seul moyen de défense efficace contre la maladie pour la filière avicole reste l'ensemble des méthodes diminuant l'exposition de la volaille domestique aux diverses espèces sauvages responsables de la circulation silencieuse des virus AI. Cependant, les mesures de protection peuvent être difficiles à mettre en œuvre par la filière, notamment pour les élevages dit de « plein air » ou encore les élevages familiers ou les volières d'ornement. Dans le cadre d'un programme de

surveillance de l'Influenza Aviaire, de nouvelles données pourront être mises à la disposition des modèles. Ceux-ci pourront ainsi intégrer toutes ces informations afin d'anticiper l'émergence dans l'avifaune sauvage de souches qui potentiellement deviendraient HP.

2 Modélisation de la propagation des virus IA dans différents types de populations sauvages réceptives

Notre objectif dans ce chapitre sera d'améliorer notre compréhension du mode de circulation des virus au sein des différentes populations sensibles. Nous essayons ensuite à partir des informations obtenues de proposer un modèle épidémiologique conceptuel dans lequel nous définissons différents types de populations sensibles aux virus Influenza Aviaire : les hôtes « source », les hôtes « pont » et les hôtes « cible »

2.1 Matériel et méthodes

La dynamique de la maladie est décrite par un système compartimenté SEIR (S pour « Sensible », E pour « Exposé » ou « Incubant », I pour « Infecté » et R pour « Immunisé » ou « Résistant »). Chaque individu en fonction de son statut épidémiologique appartient à l'un ou l'autre des compartiments. Plus particulièrement, la population que nous décrivons est constituée de N individus, repartis en 5 compartiments : S, E, I_1, I_2 et R.

I_1 est la proportion d'individus infectants qui développeront une immunité.

I_2 est la proportion d'individus infectant qui mouront de leur infection.

Une certaine proportion d'individus infectés n'excrèteront pas le virus en quantité suffisante pour passer au stade infectant, ceci explique pourquoi il existe un flux entre les individus E et les individus R.

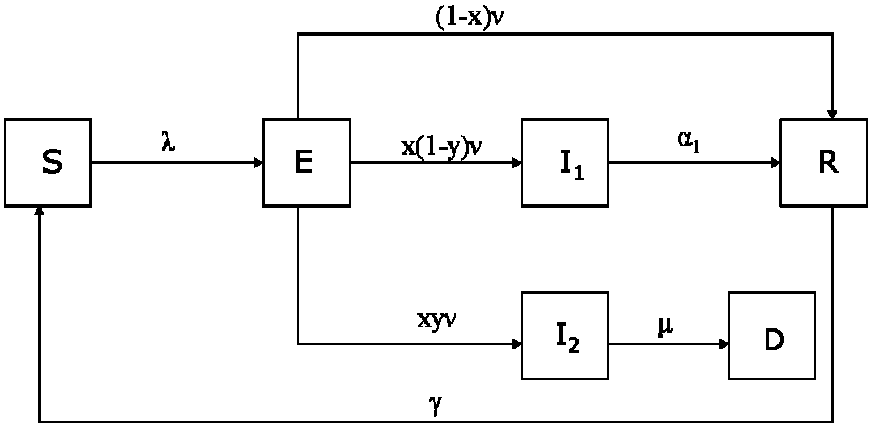


Figure 7 : Schéma conceptuel du modèle SEIR de dynamique d'Influenza aviaire au sein d'une population constante

Nous considérons notre population constante, homogène dans un premier temps, d'effectif N tel que :

$$N(t) = S(t) + E(t) + I_1(t) + I_2(t) + R(t)$$

Le système est régit par le système d'équations suivantes :

$$\begin{cases} \frac{dS}{dt} = -\lambda S + \gamma R \\ \frac{dE}{dt} = \lambda S - \nu E \\ \frac{dI_1}{dt} = x(1-y)\nu E - \alpha_1 I_1 \\ \frac{dI_2}{dt} = xy\nu E - \alpha_2 I_2 \\ \frac{dR}{dt} = (1-x)\nu E + \alpha_1 I_1 - \gamma R \end{cases}$$

avec $\lambda = \underbrace{\underbrace{\frac{\beta_d}{N} I}_{direct} + \underbrace{\beta_a I}_{aerosol}}_{contact}$

La force d'infection λ se constitue de deux composantes : le taux de transmission par contact direct (contamination féco-orale par exemple) et le taux de transmission par contact indirect avec des matières infectantes (aérosols).

Le taux de transmission par contact direct est choisi dépendant de la taille de la population : plus la population est grande plus le taux de transmission par contact direct sera faible (la probabilité de rencontre/ de contact du canard A avec le canard B est plus grande dans un espace faiblement dense que dans un espace fortement peuplé, ceci sans préjuger du temps nécessaire à ce contact)

Le taux de transmission par aérosol est choisi comme étant indépendant de la taille de la population (la probabilité de contact du canard B avec l'aérosol contaminé du canard A est la même quelque soit la densité de population de l'espace dans lequel les deux individus évoluent car cet espace permet la mobilité de l'aérosol indépendamment de cette même densité).

*2.2 **Résultats, discussion***

Les résultats obtenus par le modèle décrit ci dessus ont fait l'objet d'un article ci après.

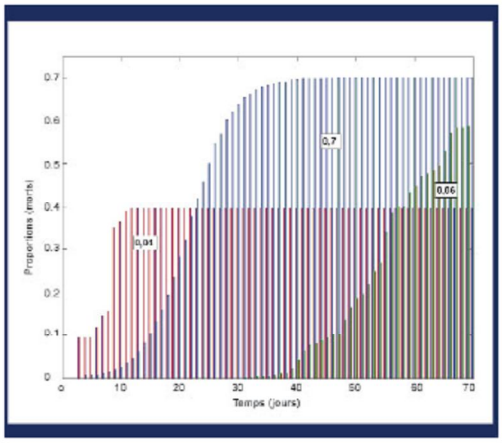
DES MODÈLES POUR LA GRIPPE AVIAIRE

Plus virulent sera le virus de la grippe aviaire, moins longtemps il persistera, et moins il tuera. Voilà un des résultats, pour le moins surprenant, auxquels sont arrivés les chercheurs de l'équipe EPSP du laboratoire TIMC-IMAG et de l'ENVL (Ecole nationale vétérinaire de Lyon). Depuis deux ans, l'équipe s'intéresse plus particulièrement à la propagation de cette maladie émergente qui, il y a quelques mois, faisait la Une de l'actualité. Après avoir récolté des informations sur le terrain, les scientifiques sont retournés dans leur laboratoire. Depuis février dernier, leurs modèles commencent à parler...

D'un coté, il y a l'Ain, une jolie région avicole... De l'autre, la « peste aviaire », la violente grippe des oiseaux... Et la réunion des deux a de quoi inquiéter les éleveurs.

C'est peu dire après l'épisode qu'a connu le département en février dernier : 400 volailles décimées par la grippe, 11 000 autres abattues pour prévenir tout risque d'épidémie. Il faut dire que les conditions de confinement des volailles sont propices au développement de maladies émergentes telles que la grippe aviaire. Les oiseaux ainsi isolés sont naturellement très sensibles à tous types d'infections.

Comme le nouveau né qui n'a jamais rencontré de maladie est très peu doté d'anticorps pour se défendre, la volaille d'élevage n'est, elle non plus, pas encore immunisée. Elle constitue un vecteur particulièrement apte à développer puis à propager la maladie sur tout un élevage.



Mais quels sont réellement les risques de propagation de cette maladie ?

C'est précisément ce que cherche à mesurer l'équipe EPSP du laboratoire TIMC-IMAG en collaboration avec l'ENVL : *« Nous construisons des modèles capables d'évaluer le risque de survenue de la grippe aviaire si jamais un individu contaminé devait s'introduire dans la région. Nous étudions également quelles seraient les caractéristiques d'une éventuelle propagation de la maladie et bien sûr les stratégies possibles pour enrayer le phénomène »*, explique DOMINIQUE BICOUT, chargé de recherche au laboratoire TIMC. Et les résultats sont surprenants : ce ne sont pas les souches les plus virulentes qui provoquent le plus fort taux de mortalité ! L'explication est simple. Plus la maladie est grave, plus les animaux meurent rapidement et deviennent de ce fait incapables de transmettre la maladie. La propagation du virus est ainsi stoppée. Au final, ce sont les souches moyennement pathogènes qui font le plus de ravages. En effet, elles persistent longtemps et tuent plus d'individus que les souches les moins virulentes.

Pour arriver à ces résultats, un travail pluridisciplinaire a permis de construire un modèle capable de simuler la propagation de la maladie : *« Mes collègues* (DELPHINE DOCTRINAL et MARC ARTOIS) *et moi même avons beaucoup travaillé avec des ornithologues et virologues au début de notre étude. Il fallait que nous nous imprégnions de tous les mécanismes écologiques, que nous apprenions comment les oiseaux se comportent pour découvrir toutes les caractéristiques dont nous devions tenir compte pour réaliser ce modèle. »*, explique DOMINIQUE BICOUT. Les chercheurs ont évalué la fréquence des contacts entre oiseaux d'élevage et oiseaux sauvages. Ils ont également pu estimer les éventuelles périodes d'introductions de souches pathogènes. Autant de paramètres qu'ils pourront intégrer au modèle. Cependant, le chercheur rappelle : *« Le travail n'est pas fini puisque plusieurs paramètres manquent toujours à l'appel comme la susceptibilité et la résistance de différentes espèces d'animaux face à ces pathogènes. »*.

Comment la grippe aviaire pourrait elle s'humaniser ?

La grippe aviaire n'est pas une maladie humaine... Les humains ne développent les symptômes de la grippe aviaire qu'à condition d'avoir été en contact étroit avec des animaux contaminés. Une fois atteint, les hommes ne deviennent pas contagieux pour leurs semblables.

Pourtant, les virus de la grippe possèdent les caractéristiques de muter très régulièrement et de se combiner ou réassortir avec d'autres lors des coinfections avec différents virus. Dans ce cas, la grippe aviaire peut elle s'humaniser ? En d'autres termes, est-il possible que le virus acquiert par mutation la capacité de se transmettre d'homme à homme ?

« Bien sûr, deux mécanismes au moins pourraient le permettre, explique DOMINIQUE BICOUT. Première possibilité, le virus mute chez l'oiseau et acquiert la capacité de transmission d'homme à homme. » Ce serait cette voix qui aurait conduit à l'émergence de la souche hautement pathogène H5N1. La deuxième solution ferait appel au réassortiment des souches virales chez certains animaux voire chez l'homme. En effet, certains animaux, le porc par exemple, possède la caractéristique de pouvoir abriter à la fois la grippe humaine et la grippe aviaire. Ils peuvent alors jouer le rôle de « cocotte minute » dans les processus de mutations, combinaison et réassortiment des virus. Ces phénomènes pourraient aboutir à de nouvelles souches plus pathogènes. *« La divergence et le brassage génétique étant beaucoup plus fréquents chez ces animaux, il est tout à fait possible qu'un réarrangement entre les deux virus, grippe aviaire et grippe humaine, puisse donner naissance à une nouvelle variante transmissible d'homme à homme. Quel que soit le mécanisme, on est certain que l'humanisation des virus aviaires se fera tôt ou tard ».*

Grâce à la collaboration d'ornithologues du parc de la Dombes, de la fondation Verots, des biologistes de l'institut Pasteur, et d'autres partenaires, une surveillance active a été menée dans la Dombes avant que les premiers cas de H5N1 ne soient découverts dans la région. *« Notre étude présente un autre volet,* explique DOMINIQUE BICOUT, *nous avons voulu faire en quelques sortes un inventaire des souches d'influenza aviaires circulant dans la région de la Dombes, notre zone d'étude. Étant donnée la fugacité des souches hautement pathogènes, l'analyse du risque de grippe aviaire passe nécessairement par l'étude de la diversité dynamique des souches faiblement et moyennement pathogènes ».*
Aujourd'hui, le travail s'effectue en laboratoire. Fort de nombreuses informations récoltées sur le terrain, les chercheurs poursuivent leur travail de modélisation.

L'étude de la propagation de la grippe aviaire s'intègre dans un cadre beaucoup plus global, celui de l'étude de la propagation de maladies émergentes, thème de recherche de l'équipe EPSP du laboratoire TIMC-IMAG. Leurs études portent aussi sur les maladies à transmission vectorielle comme la fièvre de WEST NILE causée par un flavivirus, dont les oiseaux sont des réservoirs, et transmis par des moustiques. Le défi de ces chercheurs est donc aujourd'hui beaucoup plus large. *« Il faut créer des modèles précis, fiables et qui, pourquoi pas, pourraient s'adapter à plusieurs types de pathologies, plusieurs espèces, plusieurs régions... ».*

Contact :
DOMINIQUE BICOUT, DELPHINE DOCTRINAL ET MARC ARTOIS (TIMC-IMAG)
Dominique.Bicout@imag.fr, bicout@ill.fr,
d.doctrinal@vetHyon.fr, m.artois@vet-lyon.fr

LA BOITE QUANTIQUE : ORIGINES ET PROPRIETES

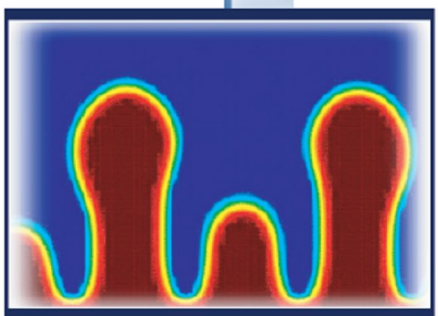
La miniaturisation des puces électroniques, la conception de transistors à un seul électron, le développement de la transmission photonique ou de l'ordinateur quantique constituent autant d'applications prometteuses. Mais le développement de ces applications est basé sur la capacité des scientifiques à mettre en œuvre de nouvelles lois de comportement en physique et à déployer un important effort de modélisation pour l'interprétation des phénomènes macroscopiques et mésoscopiques inédits, observés à l'échelle nanométrique.

Les interactions électromagnétiques, mécaniques et cinétiques ont lieu sur des échelles de distance et de temps différentes des systèmes classiques. De nouveaux modèles sont donc indispensables et leur complexité est telle que leur analyse ne peut s'effectuer sans le recours au calcul numérique, où les mathématiques apportent une contribution significative. Les techniques asymptotiques permettent d'analyser les équations qui régissent ces systèmes, et proposent des méthodes adaptées et efficaces pour les simulations numériques. De plus, sur un plan strictement mathématique, des questions nouvelles se posent, tant au niveau de l'analyse que du contrôle, ou encore de l'optimisation des méthodes numériques.

L'équipe EDP du laboratoire LMC s'intéresse à ce travail de modélisation dans le contexte des applications nanotechnologiques. A travers un projet soutenu par l'IMAG, le projet PIF (Physique des Interactions Fines), les scientifiques de cette équipe développent de nouveaux modèles concernant particulièrement la fabrication et la caractérisation des boîtes quantiques.

Les boîtes quantiques sont des structures composites, formées d'îlots d'un matériau semi-conducteur. Leur taille caractéristique est de quelques centaines de nanomètres, ce qui leur confère des propriétés d'interaction très particulières avec certaines ondes électromagnétiques comme les lasers.
Ces structures se forment par croissance hétéro-épitaxiale. Lors de la dépose d'un semi-conducteur sur un substrat de Silicium, le décalage entre le substrat et les réseaux cristallins du film induit des contraintes élastiques dans ce film. Pour relâcher une partie de cette énergie, les atomes du film peuvent se diffuser le long de la surface libre. Ils forment ainsi des structures en îlots. Selon ces applications, les instabilités (appelées instabilités d'ASARO-TILLER-GRINFELD) sont inhibées ou au contraire activées. Elles serviront, par exemple, à la fabrication de boîtes quantiques.
Comment la structure s'organise-t-elle à petite échelle ? Comment se créent les inclusions[1] ? Ou encore comment comprendre le processus d'auto-organisation des atomes ? Autant de questions auxquelles le premier versant du projet tente de répondre.
Le deuxième axe du projet s'articule autour de la caractérisation des propriétés physiques des boîtes quantiques selon les phénomènes d'interaction (entre le laser et le milieu de l'inclusion) et de propagation des ondes électromagnétiques dans ce milieu. Il s'agit plus précisément de comprendre comment la lumière interagit avec les structures fines, présentes dans le matériau (génération d'harmoniques, effet Raman, etc.), pour déterminer leurs propriétés optiques. L'objectif est de proposer des modèles macroscopiques effectifs, qui prennent en compte les propriétés quantiques des matériaux.
En permettant des collaborations pluridisciplinaires entre mathématiciens et physiciens, PIF a contribué à lancer d'autres projets, et notamment le projet thématique régional « Elasticité et Nanostructures ».

1- Perturbation des caractéristiques physiques, chimiques ou mécaniques d'un métal, alliage ou milieu cristallin.



Simulation de croissance de boîtes quantiques produites par Eric Bonnetier et Morgan Brassel (doctorant UJF)

Contact :
BRIGITTE BIDÉGARAY ET ERIC BONNETIER (LMC)
Brigitte.Bidegaray@imag.fr
Eric.Bonnetier@imag.fr

L'article qui précède étant un exercice de communication dans une revue diffusée par le laboratoire TIMC, nous pensons qu'il est intéressant de reprendre les conclusions de celui-ci et de les approfondir.

En guise d'illustration, nous présentons des résultats de simulations d'une épizootie d'influenza aviaire dans une population de 1000 volailles suite à l'introduction d'un individu en phase d'incubation. A l'instant initial, les oiseaux, tous sensibles ou réceptifs, sont en contact (exposé) avec l'oiseau infecté par une souche de pathogénicité donnée. Les Figures 3 et 4 résument l'incidence et la sévérité en terme de morts d'une telle situation en fonction du caractère pathogène de la souche infectante : faiblement (courbe verte), moyennement (courbe bleue) et hautement (courbe rouge) pathogène.

Il apparaît clairement de la Figure 8 que l'incidence instantanée diminue avec l'indice de pathogénicité alors que la Figure 9 indique que le taux de mortalité est plus grand pour une souche moyennement pathogène, et plus petit pour les deux autres souches. En effet, une souche faiblement pathogène tue très peu les individus infectés permettant ainsi de contaminer une grande proportion de la population. Cela se traduit par une longue persistance du virus dans la population associée à une forte incidence et une faible mortalité. Au contraire, une souche hautement pathogène tue les individus infectés en un temps très court qui ne permet pas la propagation de l'infection ; tout se passe comme si le virus « scie lui – même la branche sur laquelle il est assit ». Il en résulte alors une très brève épizootie à la fois de faible incidence et mortalité. Entre ces deux extrémités, on a la souche moyennement pathogène qui, de par ses caractéristiques, peut engendrer à la fois une forte incidence et une forte mortalité. Ces observations montrent aussi que la dérive génétique des souches sera plus probable à partir des souches faiblement et moyennement pathogène qui peuvent circuler plus longuement dans les populations aviaires sans les décimer.

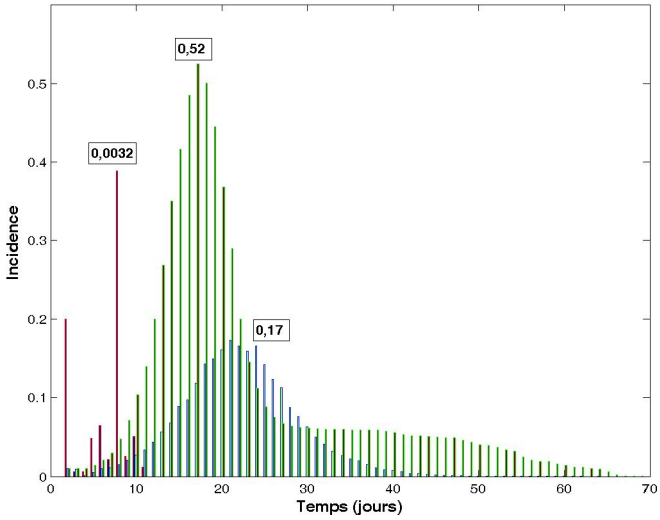


Figure 8: Proportions d'individus infectés dans une population.
En fonction du temps et pour différentes valeur de l'indice (ou caractère) de pathogénicité (IP) de la souche d'Influenza, la courbe rouge représente (dont les valeurs ont été multipliées par 20) l'incidence dans une population infectée par une souche Hautement Pathogène d'Influenza dont IP = 2.8 (le maximum étant de 3). Les IP pour les courbes bleue et verte sont respectivement 2,27 et 0,44 (cette dernière correspondant à une souche Faiblement Pathogène. Les chiffres encadrés représentent les incidences maximales simulées.

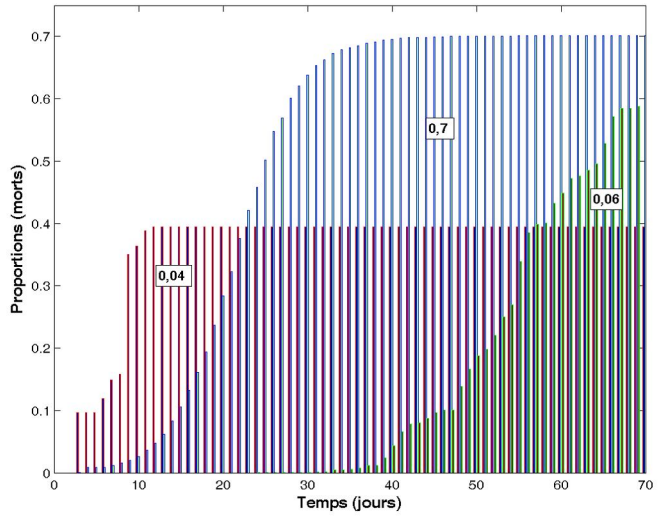


Figure 9: Proportions du nombre de morts cumulé au cours d'une épizootie d'Influenza Aviaire.
En fonction du temps et pour différentes valeur de l'indice (ou caractère) de pathogénicité (IP) de la souche d'Influenza, la courbe rouge représente (dont les valeurs ont été multipliées par 10) le nombre de morts dans une population infectée par une souche Hautement Pathogène d'Influenza dont IP = 2.8 (le maximum étant de 3). Les IP pour les courbes bleue et verte (dont les valeurs ont été multipliées par 10) sont respectivement 2,27 et 0,44 (cette dernière correspondant à une souche Faiblement Pathogène). Les chiffres annotés représentent les valeurs maximales simulées.

Nous retiendrons que le modèle permet de dégager les hypothèses suivantes :

- chez les espèces « source », les souches ont intérêt à garder un profil IAFP (faible morbidité, persistance élevée)
- chez les espèces « pont », les souches peuvent évoluer vers une pathogénicité plus élevée et viser le maintien dans la population (plus forte morbidité et persistance élevée)
- chez les espèces « cibles », le niveau de morbidité est élevé mais la persistance faible ce qui ne favorise pas le maintien de l'infection dans la population.

3 Circulation des virus Influenza dans une population « source » et estimation de l'exposition de la population « cible »

Cette analyse a fait l'objet d'un article paru dans le journal Epidémiologie et Santé animale de l'AEEMA (Association pour l'Etude de l'Epidémiologie des Maladies Animales)

Epidémiol. et santé anim., 2006, **50**, 71-81

MODELISATION DU RISQUE D'EXPOSITION DE LA VOLAILLE AUX VIRUS INFLUENZA AVIAIRE D'ORIGINE SAUVAGE *

***Delphine Doctrinal* [1], *Marc Artois* [1], *Philippe Sabatier* [1] *et Dominique J. Bicout* [1]**

RESUME : *La menace que constituait l'extension géographique des zones contaminées par le virus H5N1 hautement pathogène avait conduit les autorités à décider la mise en confinement des volailles dès le mois d'Octobre 2005. Ces mesures ont été prises dans le but de limiter les contacts entre avifaune sauvage et domestique. Notre objectif dans cet article est de fournir une estimation du risque d'exposition de la volaille à une souche Influenza aviaire d'origine sauvage. Nous avons développé un modèle de circulation de virus grippaux au sein d'une population aviaire sauvage dont les paramètres du modèle sont issus des données de comptage et de la littérature sur les infections expérimentales. Les effets de certains paramètres du modèle sur les caractéristiques de l'exposition sont étudiés, et les résultats obtenus sont confrontés aux mesures sanitaires mis en œuvre cette année en France. L'analyse de ces résultats révèle un effet plus important de la date et de la période d'introduction des virus dans la population que des caractéristiques intrinsèques de la souche considérée notamment de sa pathogénicité et de sa durée d'excrétion virale. Nous concluons que la période de confinement comme elle a été décidée cette année permet de minimiser le risque d'exposition de l'avifaune domestique à une souche d'origine sauvage. Par contre, si le virus arrive dans cette population au cours des migrations d'automne, l'exposition serait maximale avant le début de la période de confinement. Le réseau de surveillance active doit donc être maintenu afin d'assurer une détection précoce de la circulation de virus Influenza dans la population sauvage.*

Mots-clés : Influenza aviaire, risque d'exposition, modélisation.

SUMMARY: *The threat represented by the geographical extension of the zones contaminated by highly pathogenic virus H5N1 had led the authorities to decide the setting in containment of the domestic poultries since October 2005.These sanitary measurements were taken with the aim of limiting the contacts between wild waterfowl avifauna and domestic poultry. Our objective in this paper is to provide an estimate of the risk of exposure of the domestic poultry to an avian Influenza strain of wild origin. We have developed a model of circulation of avian influenza virus within a wild avian population from which the parameters of the model result from the data of counting and the literature on the experimental infections. The effects of certain parameters of the model on the characteristics of the exposure are studied, and the results obtained are confronted with the sanitary measures taken this year in France. The analysis of these results reveals a more important effect of the date and period of introduction of the viruses into the population than that of intrinsic characteristics of the strain considered such as its pathogenicity and its duration of viral excretion. We conclude that the period of containment as it was decided this year makes it possible to minimize the risk of exposure of the domestic poultry to avian influenza of wild origin. On the other hand, if the viruses arrive in this population during migrations of autumn, the exposure would be higher before the beginning of the period of containment. The active inspection network must thus be maintained in order to ensure an early detection of the circulation of Influenza viruses in wildfowl population.*

Keywords: Avian Influenza, exposure risk, modelling.

---

* Texte de la communication orale présentée lors de la Journée AESA-AEEMA, 18 mai 2006

1 Unité Biomathématiques et Epidémiologie, EPSP – TIMC, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France (d.doctrinal@vet-lyon.fr, d.bicout@vet-lyon.fr)

Epidémiol. et santé anim., 2006, **50**, 71-81

I - INTRODUCTION

Les virus Influenza sont des virus à ARN de la famille des *Orthomyxoviridae*. Ils se composent de trois groupes : les virus Influenza A, B et C. Les virus du groupe A sont des virus d'origine aviaire. Leur capside présente deux protéines de surface permettant de les sous-typer : l'hémagglutinine (H) dont il existe 16 sous types et la neuraminidase (N) dont il existe 9 sous types [Webster *et al.*, 1992 ; Swayne *et al.*, 2000]. Les oiseaux sauvages et plus particulièrement les espèces d'oiseaux d'eau sont les principaux hôtes et constituent le réservoir naturel de ces virus. Chez ces hôtes, les virus n'évoluent que très peu indiquant une association virus Influenza-oiseaux ancienne et harmonieuse [Webster *et al.*, 2006]. De ce fait, les oiseaux sauvages d'eau pourraient être responsables de la dissémination des virus Influenza au gré de leurs déplacements et migrations. La France est traversée du Nord au Sud par deux couloirs migratoires majeurs qui constitueraient des voies d'entrée possibles pour les virus influenza aviaires. Ces mouvements ont essentiellement lieu au printemps et à l'automne et concernent notamment les espèces d'eau, plus particulièrement les Anatidés (Canards, Sarcelles, Fuligules). L'une de ces routes se trouve sur l'axe Rhin-Rhône et traverse plusieurs zones humides dont la région de la Dombes. Cette région se situe au Nord Est de Lyon. Elle est constituée d'un millier d'étangs représentant ainsi un patrimoine ornithologique non négligeable. Au plus fort de la saison d'hivernage, on dénombre plus de 20 000 Anatidés en Dombes. Cette région est ainsi classée comme entité d'importance internationale [Fouque *et al.*, 2001]. De plus, cette région est aussi composée d'une forte densité d'élevages. Deux filières sont essentiellement représentées : la filière « label rouge » et l'AOC « Poulet de Bresse » dont la caractéristique zootechnique majeure est l'élevage plein air. Ce mode d'élevage a été décrit comme étant un facteur de risque dans la transmission des virus influenza aviaires car favorisant le contact (direct ou indirect) entre la volaille et les individus sauvages [Webster, 1998 ; Alexander, 2000]. Un recensement réalisé en décembre 2005 par la Direction des services vétérinaires de l'Ain dénombre actuellement en Dombes un peu moins d'un millier d'élevages amateurs (basses-cours et petits élevages « plein air ») pouvant répondre au facteur de risque précédemment évoqué. La Dombes est donc une région où sont présents tous les acteurs et facteurs nécessaires du cycle de transmission et de propagation des virus influenza aviaires (figure 1).

Nous nous proposons d'étudier le risque de propagation d'une souche virale dans la zone d'étude choisie : la Dombes, sans nous intéresser aux modalités d'introduction du virus dans celle-ci. Notre objectif est de caractériser la pression d'infection (λ) que peut exercer la population sauvage porteuse d'une souche potentiellement pathogène pour la volaille. Nous estimons de cette façon le risque d'exposition de la volaille par contact direct avec la population sauvage infectée. Cette pression d'infection est la combinaison d'une dimension spatiale (évaluation du risque de contact) [Simon *et al.*, 2006] et d'une dimension temporelle locale qui fait l'objet de cet article. Notre travail se base sur la construction d'un modèle de circulation de virus grippaux au sein d'une population aviaire sauvage. Il s'agit d'étudier l'évolution au cours du temps de l'infection de la population sauvage et de proposer des indices d'exposition de la volaille.

Partant de l'hypothèse que le risque d'exposition de la volaille est non nul aussi longtemps qu'il y a circulation de virus dans l'avifaune sauvage, nous caractérisons ce risque de la façon suivante :

- Temps de persistance ou durée d'exposition : combien de temps se maintient la circulation virale d'Influenza A dans la population sauvage réservoir ?
- Taux d'attaque ou intensité de l'exposition : quelle est la proportion d'individus sauvages infectés pouvant potentiellement entrer en contact avec la volaille ?

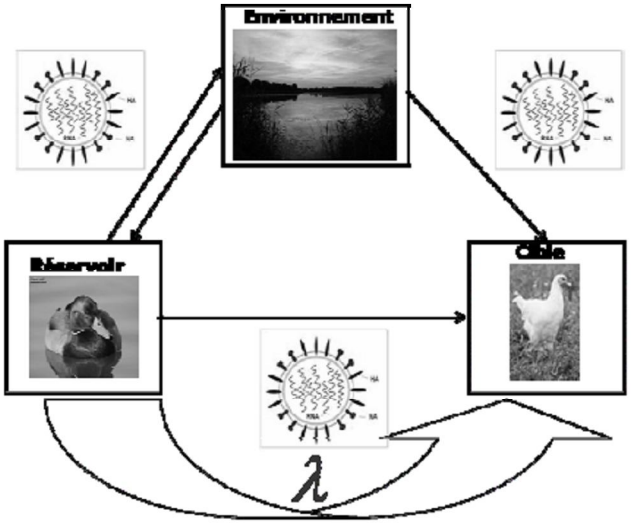
Nous étudions ensuite les effets de la pathogénicité de la souche considérée, de la durée d'excrétion virale et de la date d'introduction du virus sur ces indices caractérisant l'exposition.

Epidémiol. et santé anim., 2006, 50, 71-81

Figure 1

Schéma des voies de transmission des virus influenza à la volaille.

Les oiseaux d'eau sont porteurs d'une ou plusieurs souches virales. L'excrétion fécale de celles-ci entraîne une contamination de l'environnement. Si les conditions sont favorables (température, pH de l'eau ...), les virus peuvent subsister pendant une période suffisante à la ré-infection du réservoir ou être responsables de la transmission à la population cible. Les souches virales peuvent aussi être transmises par contact direct (contamination féco-orale ou par aérosols) entre la population réservoir et la population cible. λ représente alors la pression d'infection qu'exerce la population sauvage porteuse des virus sur la population domestique.



II - MODELISATION

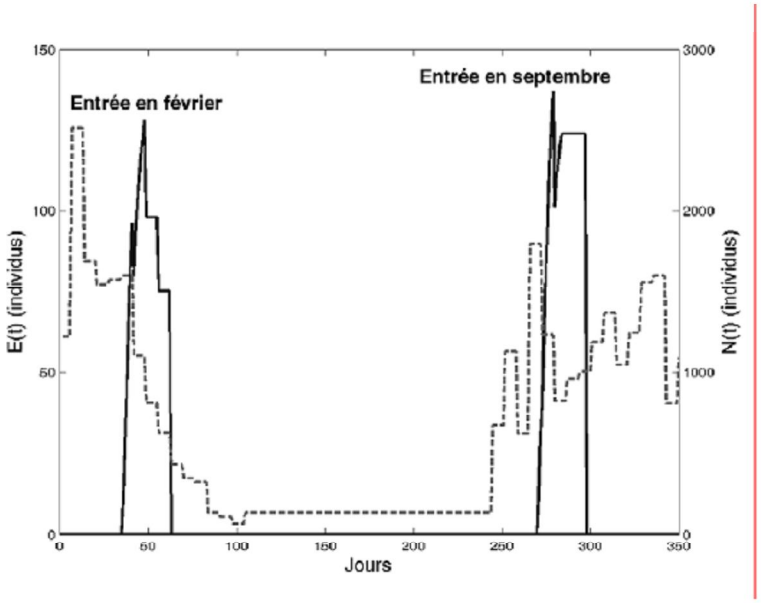
Nous avons employé ici une analyse fondée sur la théorie des processus épidémiques et des simulations stochastiques [Anderson *et al.*, 1991]. Nous avons choisi à partir d'une étude bibliographique les paramètres caractérisant les souches faiblement et hautement pathogènes. En ce qui concerne les paramètres caractérisant la population sauvage dans laquelle nous modélisons la circulation virale, nous avons analysé des données de comptage de canards (toutes espèces confondues) sur une réserve naturelle en Dombes et obtenu une courbe d'occupation du site [Castanier, 2006 ; Doctrinal *et al.*, 2006]. Nous construisons ensuite un modèle à compartiments pour la population dans laquelle circulent les virus en différentes classes : S (Sensibles ou Réceptifs), E (Exposé ou Incubant), I (Infecté ou Excréteur) et R (Résistant). Nous considérons la situation où des oiseaux sauvages en phase d'incubation d'influenza aviaire arrivent sur le site dans une population de N canards tous réceptifs et en contact.

La figure 2 résume la dynamique de la population modélisée et les modalités d'introduction des individus en cours d'incubation au sein de celle-ci. La courbe a été obtenue en moyennant mois à mois et pour dix saisons d'hivernage et de reproduction des effectifs de comptage sur un site de remise protégé en Dombes [Castanier, 2006 ; Doctrinal *et al.*, 2006]. Les individus en incubation qui sont introduits, représentent 10% de la population totale au moment de l'introduction. Ils arrivent sur le site tous les jours pendant une semaine et contaminent de nouveaux individus qui entrent en incubation. Nous décrivons la variation des effectifs des différentes classes S, E, I et R en fonction du temps, et calculons à partir des effectifs d'individus infectés les variables d'exposition retenues :

Figure 2

Courbe d'occupation du site choisi par une population de canards sauvages (courbe en pointillés) et courbe des effectifs d'individus introduits en incubation (courbe pleine).

Les individus peuvent être introduits dans la population à deux dates (février ou septembre) et sur une période d'une semaine. L'axe des abscisses représente le temps. J=0 correspond au 1er Janvier. L'axe des ordonnées de gauche mesure les effectifs des individus en incubation (trait plein). L'axe des ordonnées de droite mesure l'effectif total de la population modélisée au même moment (trait pointillé).



- La durée d'exposition représentée par la période pendant laquelle les effectifs de la classe I sont non nuls.
- Le taux d'attaque défini ici comme le rapport du nombre total de cas par l'effectif maximal de la population sur le site pendant toute la durée de circulation du virus.

Pour ensuite estimer l'effet de différents paramètres d'entrée du modèle, nous faisons varier ceux-ci et quantifions les conséquences sur les paramètres d'exposition calculés. Nous avons principalement testé l'effet de la pathogénicité et de la durée d'excrétion virale de la souche circulante et l'effet de la date d'introduction sur la durée d'exposition de la volaille et le taux d'attaque.

III- RESULTATS ET DISCUSSION

Tous les résultats rapportés ci-dessous ont été obtenus à partir de simulations stochastiques avec les valeurs des paramètres résumées dans le tableau 1. N'ayant pu paramétrer le taux de transmission à partir de l'étude bibliographique, nous avons fixé le R_0 à 1,5. Ce paramètre représente le nombre de cas secondaires générés par un seul individu infecté. Il nous permet d'obtenir au cours du temps le taux de transmission. Les figures 3, 4, 5 et 6 fournissent les résultats obtenus moyennés pour 1000 trajectoires des simulations stochastiques décrites comme ci-dessus.

1. EFFET DE LA PATHOGENICITE

La figure 3 montre l'évolution de l'infection de la population sauvage par une souche faiblement pathogène (IAFP) en fonction du temps pour deux dates d'entrée des individus en incubation dans le système : début février

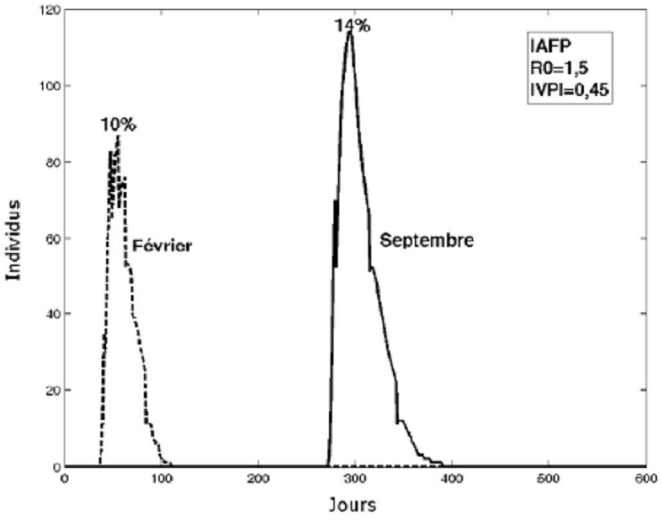
Epidémiol. et santé anim., 2006, 50, 71-81

(correspondant au début de la saison de reproduction) et début septembre (correspondant au début de la saison d'hivernage). Nous constatons que pour ce schéma d'infection, le taux d'attaque représente respectivement 10% de la population totale pour une entrée du virus en Février et 14% pour une entrée du virus en Septembre. La souche étant faiblement pathogène, elle n'engendre aucune mortalité dans la population sauvage. La durée de l'épizootie obtenue autrement dit la durée d'exposition de la volaille est de 10 semaines pour une entrée du virus au mois de février et de 17 semaines pour une entrée au mois de septembre.

Figure 3

Evolution de l'infection par une souche IAFP (IVPI = indice de pathogénicité intraveineuse) dans la population sauvage.

La courbe d'infection est représentée pour deux dates d'entrée : février (courbe en pointillés) et septembre (courbe pleine). L'axe des abscisses représente le temps, l'axe des ordonnées l'effectif des individus infectés. Les prévalences d'infection (proportion d'individus infectés par rapport à la population maximale pendant toute la durée de circulation des virus) sont indiquées au sommet de chaque courbe.



La figure 4 montre l'évolution pour une infection par une souche hautement pathogène (IAHP). Le taux d'attaque est respectivement de 35% pour une entrée en février et de 59% pour une entrée en septembre. Cette souche entraîne respectivement 18% (entrée en Février) et 40% (entrée en Septembre) de morts dans la population sauvage. La durée d'exposition est de 14 semaines pour une entrée du virus au mois de février et de 28 semaines pour une entrée au mois de septembre.

Ainsi, dans notre modèle, la pathogénicité de la souche influence les paramètres d'exposition de la manière suivante : plus la souche est pathogène plus elle circule longtemps et plus elle génère d'individus infectés augmentant ainsi le risque d'exposition pour la volaille.

Epidémiol. et santé anim., 2006, 50, 71-81

Tableau 1

Définitions, valeurs, unités et références utilisées pour les paramètres du modèle SEIR

Définition	Valeur (LPAI)	Valeur (HPAI)	Unité	Références
Taux de reproduction de base (R_0)[a]	1,5	1,5	—	
% E introduit	10	10	%	
Durée d'introduction	7	7	jours	
Date d'introduction	[35;335][b]	[35;335][b]	jours	[Tamisier *et al.*, 1999]
Durée Incubation	2	1	jours	[Van Der Goot *et al.*, 2003]
Indice de pathogénicité (IVPI)	0,45	1,64 [1,46;1,66][c]	—	
Délai Moyen avant le décès (MDT)	100	3,18	jours	[Chen *et al.*, 2004]
Durée Virémie	20	13 [3,3;17][c]	jours	[Perez *et al.*, 2003 ; Van Der Goot *et al.*, 2003 ; Chen *et al.*, 2004 ; Hulse-Post *et al.*, 2005]
Survie naturelle	0,625	0,625	an	[Hannoun, 1977]
Durée de survie après infection	0	2	jours	[Perez *et al.*, 2003 ; Van Der Goot *et al.*, 2003 ; Chen *et al.*, 2004 ; Hulse-Post *et al.*, 2005]
% de E → I	66	100	%	
% de I → R	100	50	%	
Renouvellement (Survie des Ac)	111	111	jours	
Espérance de vie	1,6022	1,6022	année	[Hannoun, 1977 ; Johnson *et al.*, 1988 ; Pradel *et al.*, 1997]
Ratio Juvéniles/Adultes	1,54	1,54	—	
Taux de renouvellement	0,0069	0,0069	1/jours	[Bernard, 2006 ; Castanier, 2006]
Début du renouvellement	90	90	jours	[Tamisier *et al.*, 1999 ; Bernard, 2006 ; Castanier, 2006]
Durée du renouvellement	135	135	jours	[Tamisier *et al.*, 1999 ; Bernard, 2006 ; Castanier, 2006]
Durée du stade juvénile	10	10	jours	[Tamisier *et al.*, 1999 ; Bernard, 2006 ; Castanier, 2006]

[a] : R_0 (taux de reproduction de base) est fixé à 1,5 que ce soit pour les simulations avec une souche IAFP ou une souche IAHP

[b] : pour estimer l'effet de la date d'introduction sur les paramètres d'exposition, le virus a été introduit à différentes dates de début février (J35) à début septembre (J335 ; avec J0 = 1er Janvier)

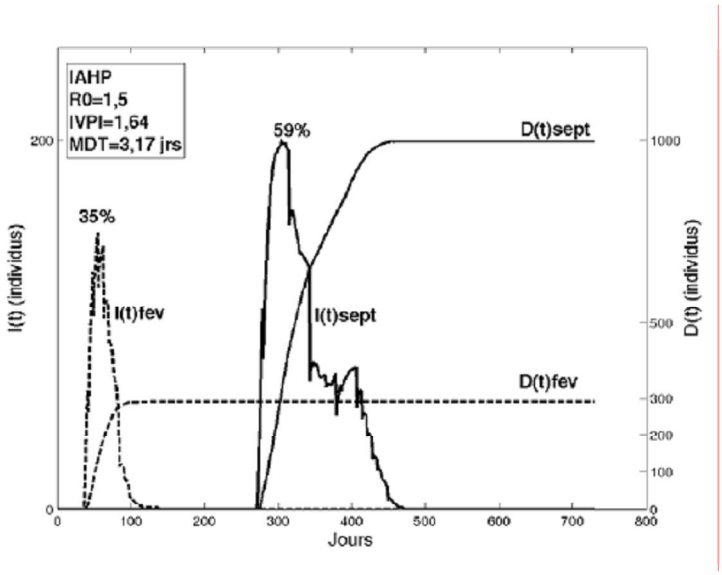
[c] : pour estimer l'effet de la durée d'excrétion virale sur les paramètres d'exposition, la durée de virémie varie de 3,3 à 17 jours. De ce fait, l'indice de pathogénicité (IVPI) varie de 1,46 à 1,66

Epidémiol. et santé anim., 2006, 50, 71-81

Figure 4

Evolution de l'infection et de la mortalité dans la population sauvage suite à l'introduction d'une souche IAHP (IVPI = indice de pathogénicité intraveineuse et MDT = mean death time).

Sont représentées les mêmes dates d'introduction que pour la figure 3. L'axe des abscisses et des ordonnées de gauche sont les mêmes que sur la figure 3. L'axe des ordonnées de droite représente la mortalité cumulée. Les prévalences d'infection (proportion d'individus infectés par rapport à la population maximale pendant toute la durée de circulation des virus) sont indiquées au sommet de chaque courbe *I(t)*.



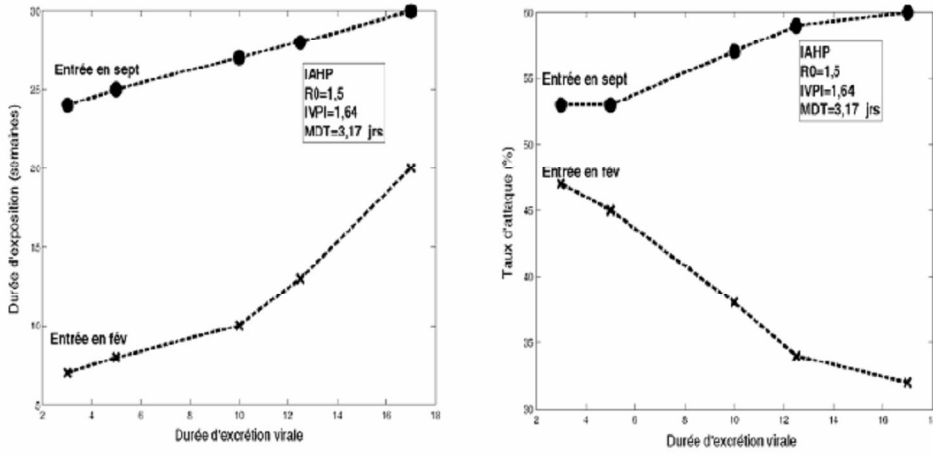
2. EFFET DE LA DUREE D'EXCRETION VIRALE

Pour tester l'effet des paramètres intrinsèques de la souche considérée dans notre modèle, nous faisons varier la durée d'excrétion virale de la souche IAHP. En effet, actuellement, l'évolution des souches H5N1 HP semble favoriser celles dont la durée d'excrétion est la plus longue [Hulse-Post *et al.*, 2005] tendant vers une durée d'excrétion comparable aux souches IAFP. La figure 5 montre l'évolution des paramètres d'exposition en fonction de la durée d'excrétion virale. Pour une durée d'excrétion virale de cinq jours, la durée d'exposition est respectivement de huit semaines pour une entrée du virus en février et de 25 semaines pour une entrée en septembre. Pour une durée d'excrétion virale de 17 jours, la durée d'exposition passe à 20 semaines (entrée en février) et 30 semaines (entrée en septembre). Ces résultats vont dans le même sens selon lequel plus les virus sont excrétés pendant longtemps, plus sa durée de circulation dans la population réservoir s'allonge même si la souche est hautement pathogène. Cette constatation est valable quelle que soit la date d'entrée du virus dans le modèle. En revanche, le taux d'attaque évolue de façon divergente selon la date d'introduction. Pour une durée d'excrétion de cinq jours, le taux d'attaque est de 45% pour une entrée au mois de février et de 53% pour une entrée au mois de septembre. Pour une durée d'excrétion virale de 17 jours le taux d'attaque est de 32% pour une entrée en février et de 60% pour une entrée en septembre. Plus la durée d'excrétion augmente, plus la sévérité de l'épizootie augmente si le virus est introduit en septembre. L'effet est inverse si le virus est introduit en février. Ce résultat nous emmène à penser que la sévérité de l'épizootie d'Influenza dans notre système serait plus sensible à la date d'introduction qu'aux caractéristiques même de la souche considérée.

Figure 5

Effet de la durée d'excrétion virale sur la durée d'exposition et le taux d'attaque pour un souche IAHP circulant dans la population sauvage.

Les courbes marquées d'un cercle correspondent aux simulations obtenues quand la souche est introduite mois de septembre. Les courbes marquées d'une croix correspondent aux simulations obtenues pour un introduction de la souche en février.



3. EFFET DE LA DATE D'INTRODUCTION

La figure 6 vérifie la sensibilité du modèle à la date d'introduction de la souche dans la population. La durée et l'intensité de l'exposition ont tendance à diminuer lorsque le virus arrive de plus en plus tardivement dans la saison d'hivernage ou autrement dit au début de la saison de reproduction. Pour une entrée d'une souche IAFP en septembre, la durée d'exposition est de 17 semaines et le taux d'attaque de 14%. Pour une entrée d'une souche IAHP en février, la durée d'exposition est de 28 semaines et le taux d'attaque de 35%.

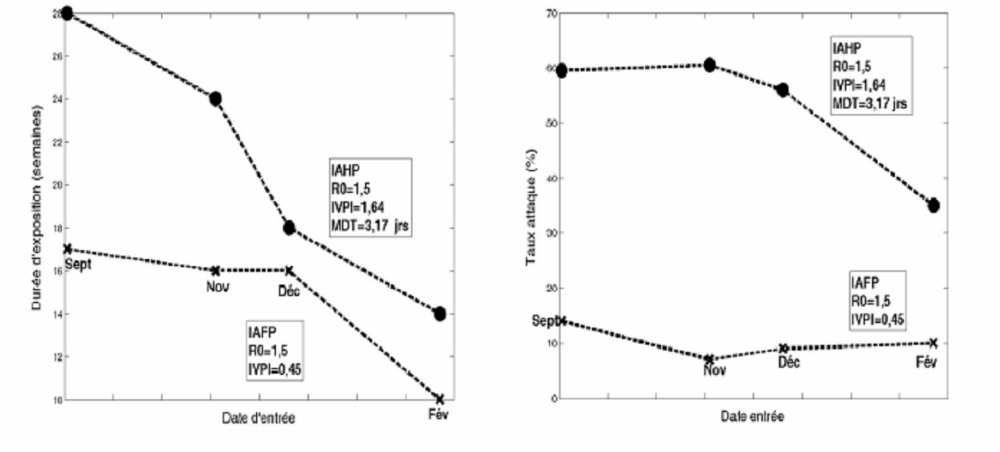
Le modèle se base sur une population de canards de plusieurs espèces se mélangeant de façon homogène dans le temps. Si le virus est introduit pendant la saison d'hivernage, les effectifs de la population sont suffisants pour permettre la circulation du virus d'où une durée d'exposition et un taux d'attaque élevés. Si le virus est introduit en fin de saison d'hivernage, certaines espèces constituant la population auront déjà quitté le site vers leur lieu de reproduction. Les effectifs de la population sont alors insuffisants pour permettre une longue circulation du virus d'où la diminution des caractéristiques d'exposition. L'effet de la date d'introduction observée dans le mo est donc à relier avec la variation tempo de la population de canards. Cet effet va le même sens que l'hypothèse consista expliquer la variabilité de la circulation virus influenza par le comportement canards. Ceux-ci ont deux comporten distincts au cours de leur cycle saisonnie septembre à février, toute espèce confor ils ont un comportement grégaire, rassemblant sur de grandes étendues d (remises) [Tamisier, 1985 ; Tamisier e 1999]. En Dombes il existe une dizain sites majeurs utilisés par les canards co lieu de repos pendant la saison d'hiverr Sur ces sites se concentrent plus centaines voire milliers d'individus ce favorise le contact et donc la circulation virus [Hannoun *et al.*, 1981]. A parti février, les canards adoptent un comporte moins grégaire, ils vont utiliser l'es indépendamment de leurs congénères proportion d'occupation de l'espace pass 0,01% des étangs utilisés en Dombes per l'hiver à 20% des étangs utilisés pou reproduction [Bernard, 2006]. comportement ne facilite plus le conta donc la circulation des virus Influenza.

78

Figure 6

Effet de la date d'introduction de la souche virale sur la durée d'exposition et le taux d'attaque.

Les simulations sont réalisées pour une souche IAFP (courbe marquée de croix) et une souche IAHP (courbe marquée d'un rond).



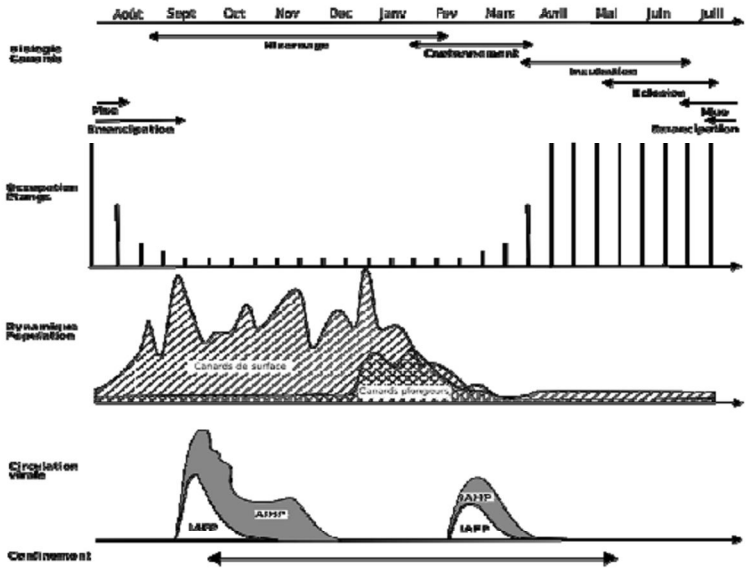
4. SYNTHESE

La figure 7 résume les différents déterminants épidémiologiques du risque d'épizootie d'Influenza aviaire sur l'avifaune aquatique en Dombes. Nous superposons en fonction du temps le cycle biologique des canards, le taux de fréquentation des étangs en Dombes et la dynamique des populations de canards. Nous constatons que pendant toute la saison d'hivernage (de début septembre à fin février), les effectifs de canards sont maximaux et le taux d'occupation des étangs minimal. Ceci signifie que pendant cette période, la densité de canards sur les quelques sites d'hivernage est favorable à la circulation des virus influenza. Nous y superposons aussi des dynamiques d'infection pour deux dates d'entrée : février et septembre, et deux souches : une IAFP et une IAHP. Enfin, nous y indiquons la période de confinement strict qui a été décidée pour la saison d'hivernage 2005-2006. Nous constatons que la période de confinement suffisait bien à minimiser l'exposition de la volaille à une souche influenza qui aurait été introduite au mois de février. Ces résultats sont comparables quelle que soit la pathogénicité de la souche. Avec les paramètres utilisés dans notre modèle pour une introduction au début du mois de septembre, nos simulations suggèrent que le maximum d'individus infectés dans la population sauvage intervient dans la dernière quinzaine de septembre voire première quinzaine d'octobre. Cette première constatation renforce la nécessité de la mise en place d'un dispositif d'alerte précoce. Celui-ci est essentiel à la détection des premières infections pour une mise en confinement optimale permettant de limiter le risque d'exposition de la volaille à une souche influenza aviaire introduite dans la population sauvage.

Figure 7

Schéma de synthèse.

Sont représentés le cycle biologique des oiseaux d'eau, la proportion d'occupation des étangs en Dombes au cours du temps, la dynamique de la population sauvage dans laquelle circulent les souches virales, les dynamiques d'infections obtenues par les simulations et la période de confinement appliquée pour la saison 2005-2006.



IV- CONCLUSION

Les résultats que nous présentons sont des résultats préliminaires d'analyse de sensibilité d'un modèle. Celui-ci nous permet de lister les paramètres qu'il nous faut renseigner de façon plus précise afin de pouvoir affiner nos prédictions. Dans ce but, une étude de terrain est en cours pour déterminer quelle(s) souche(s) circulent dans la population sauvage en Dombes, quelles en sont leurs caractéristiques et à quel moment circulent-elles le plus. Ce travail est aussi à mettre en perspective avec celui de *A. Simon et al.* [Simon *et al.*, 2006] qui traite du contact entre oiseaux sauvages et oiseaux domestiques. En combinant la dimension spatiale de l'indice de contact et la dimension temporelle introduite par le modèle de circulation virale, nous obtenons une modélisation spatio-temporelle de la pression d'infection qu'exerce la population sauvage directement sur la volaille, et du même coup, la construction de cartes dynamiques du risque d'exposition et propagation d'influenza aviaire.

BIBLIOGRAPHIE

Alexander D.J. - A review of avian influenza in different bird species. *Vet. Microbiol.*, 2000, **74**(1-2), 3-13.

Anderson R.M., May R.M. - Infectious diseases of humans, 757 pages, Oxford University Press, London, 1991.

Bernard A. - Recensements d'Anatidés nicheurs en Dombes. Année 2005. Données CORA (01), 2006.

Castanier B. - Données de comptage de la population de canards des étangs Boufflers et Riquet sur les dix dernières années, 2006.

Chen H., Deng G., Li Z., Tian G., Li Y., Jiao P., Zhang L., Liu Z., Webster R.G., Yu K. - The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China. *PNAS*, 2004, **101**(28), 10452-10457.

Doctrinal D., Castanier B., Bicout D. - Risk of circulation of Influenza A viruses in a wild waterfowl population in the Dombes region., 2006, (en préparation).

Fouque C. et Couvillers J.L. - Enquête sur les dénombrements hivernaux des anatidés et de la foulque macroule : 12 hivers en région Rhône-Alpes. Réseau national : Oiseaux d'Eau et Zones Humides. O. N. d. I. C. e. d. l. F. Sauvage. Birieux (01), 2001.

Hannoun C. - Isolation from birds of influenza viruses with human neuraminidases. In: International symposium on influenza immunization (II). Genève 469-472, 1977.

Hannoun C. et Devaux J.M. - Circulation enzootique permanente de virus grippaux dans la Baie de Somme. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1981, **(3)**, 177-183.

Hulse-Post D. J., Sturm-Ramirez K.M., Humberd J., Seiler P., Govorkova E.A., Krauss S., Scholtissek C., Puthavathana P., Buranathai C., Nguyen T.D., Long H.T., Naipospos P., Chen H., Ellis T.M., Guan Y., Peiris J.S.M., Webster R.G. - Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *PNAS*, 2005, **102**(30), 10682-10687.

Johnson D.H., Nichols J.D., Conroy M.J., Cowardin L. M. - Some considerations in modeling the Mallard life cycle. In: Waterfowl in Winter. M. W.Weller. Minneapolis, the University of Minnesota Press., 1988, 9-18.

Perez D.R., Lim W., Seiler J.P., Yi G., Peiris M., Shortridge K.F., Webster R. G. - Role of Quail in the Interspecies Transmission of H9 Influenza A Viruses: Molecular Changes on HA That Correspond to Adaptation from Ducks to Chickens. *J. Virol.*, 2003, **77**(5), 3148-3156.

Pradel R., Rioux N., Tamisier A., Lebreton J.D. - Individual turnover among wintering teal in Camargue : a mark-recapture study. *J. Wildl. Manage.*, 1997, **61**(3), 816-821.

Simon A., Doctrinal D., Bicout D. - Risque de contact entre oiseaux sauvages et domestiques dans la région de la Dombes. *Revue Epidémiol. et Santé Anim.*, 2006, **50**, 27-39.

Swayne D.E., Suarez D.L. - Highly pathogenic avian influenza. *Rev.sci. tech. Off. int. Epi.*, 2000, **19**(2), 463-482.

Tamisier A. - Some considerations on the social requirements of ducks in winter. *Wildfowl*, 1985, **36**, 104-108.

Tamisier A., Dehorter O. - Camargue, Canards et Foulques pages, C.O.Gard, Nîmes, 1999.

Van Der Goot J.A., De Jong M.C. M., Koch G., Van Boven M. - Comparison of the transmission characteristics of low and high pathogenicity avian influenza A virus (H5N2). *Epidemiol. Infect.*, 2003, **131**, 1003-1013.

Webster R.G. - Influenza : an emerging disease. *Emerg. Infect. Dis.*, 1998, **4**(3), 436-440.

Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T.T.M.C., Kawaoka Y. - Evolution and ecology of Influenza A virus. *Microbiol. Revue*, 1992, **56**, 152-179.

Webster R.G., Peiris M., Chen H., Guan Y. - H5N1 outbreaks and enzootic influenza. *Emerg. Infect. Dis.*, 2006, **12**(1), 3-8.

Remerciements

Nous remercions M. B. Castanier (Fondation VEROTS) pour la mise à notre disposition des données de comptage « Canards » pour les dix dernières années. Nous exprimons toute notre gratitude à Mme. C. Dupuy (DSV 01) pour son soutien administratif, logistique et pour la mise à notre disposition des données de recensement de l'élevage avicole dans l'Ain. Nous remercions également M. E. Bureau (Parc des Oiseaux de Villars les Dombes), M. J.Y. Fournier (ONCFS) et M. M. Gauthier-Clerc pour leur expertise ornithologique et leur aide dans la recherche de documents bibliographiques concernant la biologie des espèces d'oiseaux d'eau.

Nous remercions la région Rhône-Alpes pour son soutien financier au projet.

4 Estimation des contacts entre avifaune sauvage et domestique en Dombes

Cette analyse a fait l'objet d'un second article dans la revue Epidémiologie et Santé Animale de l'AEEMA.

Epidémiol. et santé anim., 2006, 50, 27-39

RISQUE DE CONTACT ENTRE OISEAUX SAUVAGES ET DOMESTIQUES DANS LA REGION DE LA DOMBES, FRANCE *

Audrey Simon [1], Delphine Doctrinal [1] et Dominique J. Bicout [1]

RESUME : *Réservoirs naturels de virus influenza A, les oiseaux sauvages sont susceptibles de transmettre ces virus aux oiseaux domestiques cibles à l'occasion de contacts. Au Nord - Est de Lyon dans le département de l'Ain, la zone humide de la Dombes à la fois héberge des élevages avicoles plein air et accueille chaque année de nombreux canards migrateurs, réunissant ainsi les conditions favorables au contact entre canards sauvages et volaille. L'objectif de ce travail est de modéliser le risque de contact en développant une méthode de calcul d'un indice de contact entre oiseaux sauvages et domestiques pour chaque élevage avicole de la région de la Dombes. Trois facteurs de risque d'importance décroissante ont été identifiés à partir de cartes représentant le risque de contact en période hivernale : la présence et la dispersion des canards sauvages, l'effet de l'environnement présent autour des élevages et l'effet des caractéristiques de l'élevage. A partir de ces résultats, les zones délimitées selon leur niveau de risque de contact semblent comparables à celles définies par les mesures réglementaires mises en place lors du foyer d'influenza aviaire en février 2006 en Dombes.*

Mots-clés : Influenza aviaire, oiseaux, risque de contact, modélisation.

SUMMARY: *As natural reservoirs of Influenza A viruses, the wild birds can transmit these viruses to the domestic bird targets at the time of contacts. In the North-East of Lyon in the department of Ain, the wetland of Dombes combines at the same time full air avicolous farms and accomodates each year of many migrating ducks, thus meeting the conditions favorable to the contact between wild ducks and poultry. Our objective in this report is to model the risk of contact by developing a method of calculation of an index of contact between wild and domestic birds for each avicolous farm of the Dombes. Three factors of risk of decreasing importance were identified based on charts representing the risk of contact in winter period: the presence and dispersion of wild birds (ducks), the environment effect present around the breedings or farms and the effect characteristics of breeding. From these results, the areas defined according to their level of risk of contact appears similar to those defined by lawful measurements set up at the time of the avian Influenza episode in February 2006 in Dombes.*

Keywords: Avian Influenza, Birds, Risk of contact, Modelling.

* Texte de la communication orale présentée lors de la Journée AESA-AEEMA, 18 mai 2006

[1] Unité Biomathématiques et Epidémiologie, EPSP – TIMC, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile (audysimon@yahoo.fr, d.bicout@vet-lyon.fr)

Epidémiol. et santé anim., 2006, **50**, 27-39

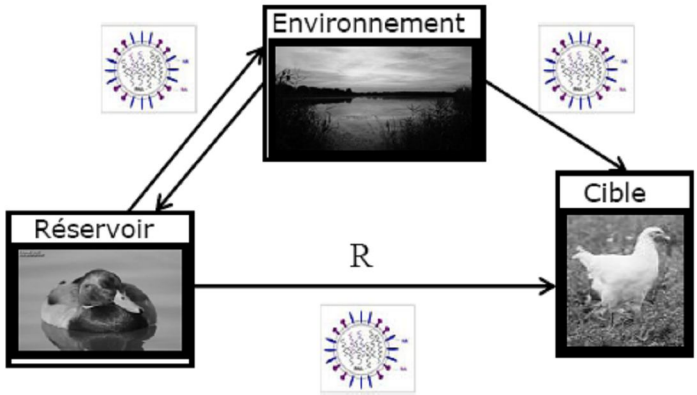
I - INTRODUCTION

Les virus influenza A appartiennent à la famille des *Orthomyxoviridae*. Largement répandus, ils infectent une grande variété d'animaux, y compris l'Homme, et sont responsables chez les volailles d'une maladie très contagieuse provoquant une forte mortalité : la peste aviaire [Webster *et al.*, 1992]. Depuis 1997, une épizootie d'influenza aviaire, due à des virus de souche H5N1, sévit en Asie ; la persistance de ces virus et leur forte plasticité génomique rendent possible l'émergence d'un virus grippal adapté à l'Homme [Chen *et al.*, 2005]. Les oiseaux sauvages, surtout aquatiques, hébergent un grand nombre de souches virales faiblement pathogènes sans manifester de symptômes ; ils sont qualifiés de rése Ils excrètent ces virus dans leurs f sources infectieuses pour les o domestiques qui sont des cibles très ser [Campitelli *et al.*, 2004]. La transmiss ces souches virales entre réservoirs et peut se faire directement par contact, aussi via l'environnement par les aé l'eau, la nourriture ou d'autres mat contaminés par les fientes (figure 1). Tr de travaux ont analysé l'importance relat ces différentes voies d'infection lors épizootie de peste aviaire [Thomas 2005].

Figure 1

Schéma des voies de transmission des virus influenza à la volaille.

Les virus influenza A, présents chez les canards sauvages réservoirs, peuvent être transmis à la volaille par contact direct ou indirect via l'environnement. La force d'infection qu'exerceraient les oiseaux sauva sur les oiseaux domestiques est fonction notamment d'un paramètre R, risque de contact entre oiseaux sauvages et domestiques.



La région de la Dombes, située au nord est de Lyon en France, se trouve sur un des axes migratoires d'oiseaux sauvages. Cette zone humide aux mille étangs, accueille chaque année de nombreux oiseaux aquatiques qui sont des hôtes préférentiels pour la plupart des souches virales [Sharp *et al.*, 1993]. L'élevage avicole y est très développé, notamment les élevages plein air où les volailles passent la majeure partie de leur temps dehors, caractéristique identifiée comme facteur de risque dans le contact. L'étude de Perchet a estimé négligeable le risque d'introductio virus grippal par le commerce dans la D [Perchet, 2005], la voie de contaminati les oiseaux sauvages pourrait prépondérante dans cette région concentration d'oiseaux sauvages aqua réservoirs de virus, dans une région volaille cible est souvent élevée en pl pourrait faciliter le contact entre ces populations. Le foyer de peste avia février 2006 dans un élevage de la D est fortement corrélé à l'arrivée m

d'oiseaux sauvages infectés. Ceci suggère fortement que les virus ont été transmis des oiseaux sauvages aux oiseaux domestiques par contact physique ou distant via l'environnement. Le choix de cette région pour l'étude de la transmission des virus influenza entre oiseaux sauvages et domestiques pourrait donc être pertinent.

L'exposition des oiseaux domestiques aux virus Influenza peut être appréciée par le calcul de la force d'infection qu'exerceraient les oiseaux sauvages sur les oiseaux domestiques, c'est-à-dire le taux d'infection d'oiseaux domestiques au cours du temps. La quantification de cette force d'infection, suppose de considérer la modalité de transmission des virus influenza : le contact

entre oiseaux sauvages et domestiques. Nous nous sommes intéressés au paramètre de contact β, nombre de contacts infectie oiseau et unité de temps entre c sauvages et oiseaux domestiques, don l'expression suivante : β = R x T. Dan formule, T désigne la probabilit transmission des virus en fonction du te R le risque de contact entre oiseaux sa et oiseaux domestiques.

L'objectif de notre travail est de caracté risque de contact R entre oiseaux sauv domestiques pour chaque élevage de la de la Dombes. Il s'agira de détermin facteurs et de définir des zones à risqu le contact.

II – MATERIELS ET METHODE

1. INDICE OU RISQUE DE CONTACT

Chez les oiseaux sauvages, les fientes excrétées constituent la source infectieuse principale de virus influenza. Ainsi, la transmission des virus aux oiseaux domestiques peut se faire soit par contact direct ou physique, soit par contact indirect ou distant par l'intermédiaire de l'environnement. Un exemple de transmission par cette seconde voie pourrait être l'infection de volailles par une eau de boisson contaminée par des fèces d'oiseaux sauvages. Tous ces contacts nécessitent une certaine proximité entre réservoirs (oiseaux sauvages) et cibles (oiseaux domestiques) du fait de la relative fragilité des virus dans le milieu extérieur [Lu *et al*., 2003]. Ainsi, le contact oiseaux sauvages – oiseaux domestiques peut survenir du fait :

- de la proximité géographique de réservoirs et de cibles, via l'environnement ;
- de l'attraction des canards sauvages par des canards domestiques (phénomène d'appelants) ou de la disponibilité de nourriture dans les élevages ;
- par le biais d'un hôte intermédiaire qui serait sensible aux virus et aurait un comportement exploratoire, l'amenant à entrer en contact à la fois avec les oiseaux sauvages et domestiques (Passériformes essentiellement [Alexander, 2000]). Dans cette étude, nous nous sommes limités aux contacts ne faisant pas intervenir un hôte intermédiaire.

Le risque de contact R qui nous intéres alors défini comme la probabilité qu oiseaux sauvages entrent en contact, ph ou distant via l'environnement, ave oiseaux domestiques suite à leur pr géographique, au phénomène d'appela au fourragement. Pour chaque unité d'él le risque de contact R entre oiseaux sa et oiseaux domestiques peut s'écrire suit, R = Danger ⊗ Exposition, où :

- le signe ⊗ représente un opérat connexion entre oiseaux sauva domestiques, c'est-à-dire le déplac des oiseaux sauvages des source unités élevages. Cet opérateu caractérisé par les longueurs σ_x et dispersion locale des oiseaux sa respectivement selon les direction et « y » ;
- le Danger, représenté par la pr d'oiseaux sauvages au niveau des s « s », caractérisées par les coord $r_s = (x_s, y_s)$ du barycentre de « par la probabilité (ou proportion) présence d'oiseaux sauvages ;
- l'Exposition, matérialisée par l'ex d'un ensemble de n = 1, 2, …, N Chaque unité (élevage + environnement) est caractérisée p coordonnées $r_n = (x_n, y_n)$, pa

Epidémiol. et santé anim., 2006, **50**, 27-39

attractivités intrinsèques (capacité à attirer les oiseaux sauvages) des éléments constitutifs (élevage et environnement), et des poids respectifs ou importance relative b_{elv} et b_{env} (tel que, $b_{elv} + b_{env} = 1$).

En combinant tous ces éléments, le risque de contact R pour chaque unité « n » exposée à un ensemble de sources d'oiseaux sauvages peut s'écrire de manière compacte comme suit [Bicout, 2006] :

$$R_n = b_{elv} R_n^{elv} + b_{env} R_n^{env} + b_{elv} b_{env} Q_n^{elv-env} \quad (1)$$

où R_n^{elv} et R_n^{env} sont les risques de contact respectivement associés à l'élevage et à l'environnement seuls, alors que le terme $Q_n^{elv-env}$ représente le risque de contact croisé dû à l'effet élevage couplé avec l'effet environnement du voisin et vice versa.

2. APPLICATION A LA DOMBES

2.1. POPULATIONS CONSIDEREES

Deux types de canards sont présent en Dombes : les canards de surface et les canards plongeurs, en proportion respective d'environ 60% et 40% sur toute la période d'hivernage [Fouque *et al*., 2001]. Nous avons choisi les deux espèces les plus abondantes dans chacun des deux types : le canard Colvert (*Anas platyrhyncos*) et le Fuligule milouin (*Aythya ferina*). Le Colvert est une espèce opportuniste qui se nourrit sur des étangs mais également sur d'autres milieux comme les terres arables ou les prairies. Par contre, le Fuligule milouin est une espèce sélective : inféodée au milieu aquatique, il n'utilise que des étangs supérieurs à sept hectares. Ces deux espèces ont été considérées dans notre étude comme les principaux candidats réservoirs viraux pour les élevages avicoles cibles de la région. Les caractéristiques zootechniques de ces élevages sont très variées, ils sont constitués en partie par des élevages AOC « Poulets de Bresse » et « label rouge » où la volaille est élevée en plein air.

2.2. PERIODE D'ETUDE

La période la plus à risque en terme de transmission virale et donc de contact semble corrélée à la dynamique saisonnière des virus [Halvorson *et al*., 1985], mais également aux comportements des oiseaux sauvages réservoirs [Tracey *et al*., 2004]. En effet, les rassemblements et les mouvements d'oiseaux pourraient faciliter la circulation virale [Deibel *et al*., 1985]. Sur la figure 2 nous avons résumé les différents éléments qui nous ont permis de déterminer la période d'étude la plus à risque en terme de contact infectieux.

- Biologie : pendant l'hiver, la majorité des canards se concentrent le jour sur quelques étangs connus appelés remises [2], tandis que la nuit ils se divisent en quelques groupes pour se nourrir sur des étangs de gagnage périphériques [Tamisier *et al*., 1999].
- Occupation des étangs : le nombre des étangs utilisés diminue de 60% environ par rapport à la période de reproduction où les couples se dispersent [Bernard, 2005]. Les déplacements quotidiens de la remise aux zones de gagnage, pouvant se faire sur une distance maximale de 15 à 20 km [Hannoun *et al*., 1980], sont intéressants sur le plan du contact et donc de la transmission des virus.
- Dynamique de population : d'après les données fournies par Castanier [2006] sur l'étang remise de Boufflers, deux vagues d'arrivée se succèdent : celle des canards de surface type Colvert dès la fin août, puis celle des canards plongeurs type Fuligule en décembre. Les effectifs chutent ensuite dès le mois de janvier pour atteindre leur minimum au mois de mars.
- Circulation virale : elle est différente d'une région à l'autre. En France, nous disposons des données d'Hannoun en Baie de Somme [Hannoun *et al*., 1980] : un seul pic dans la prévalence virale y est décrit, au mois d'octobre ; le degré de circulation des virus en période de reproduction, et plus particulièrement à partir de l'éclosion, n'est pas connu.

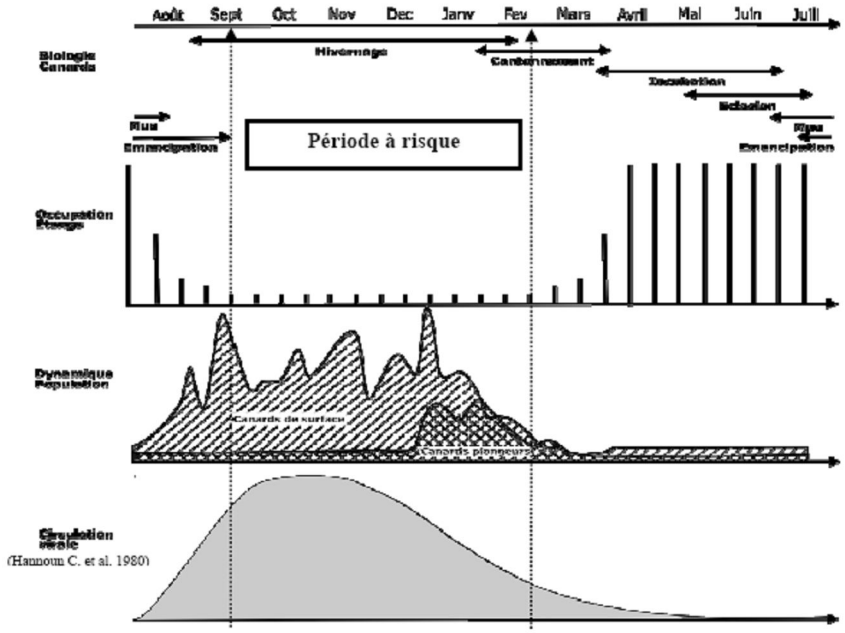
[2] Les étangs remises principaux de la Dombes sont : le Chapelier (Versailleux), les étangs du parc ornithologique et de la réserve de Villars-les-Dombes, le Grand Birieux et les étangs de la Fondation Vérot (Boufflers et Riquet).

Epidémiol. et santé anim., 2006, **50**, 27-39

Figure 2

Période à risque de contact en fonction des caractéristiques des réservoirs.

Ce schéma récapitule sur différentes strates les principales caractéristiques biologiques des canards sauvages, le pourcentage d'occupation des étangs, les effectifs et l'intensité de la circulation virale au cours d'une année. L'analyse de ces données nous a permis de définir une période à risque de contact entre canards sauvages et volaille dans la transmission des virus Influenza.



Pendant l'hivernage, les canards sont en plus grand nombre, concentrés sur quelques étangs, cette densité importante favorise la circulation virale ; les déplacements quotidiens pourraient permettre les contacts entre oiseaux sauvages et domestiques. De plus, la rareté des ressources alimentaires pourrait favoriser les déplacements locaux des canards et augmenter ainsi la probabilité de rencontre avec les élevages. A la lumière de ces arguments, la période d'hivernage, de septembre à février, nous a semblé la plus pertinente pour l'analyse du contact dans le contexte de la transmission d'influenza aviaire.

2.3. CALCUL DU RISQUE DE CONTACT

Nous avons utilisé le logiciel SIG Arcview® version 8.1 (ESRI) pour cartographier les élevages avicoles en Dombes. Nous avons créé des unités élevages en ceinturant chaque élevage d'une zone tampon de 1 km de rayon.

Pour calculer les indices de contact, nous avons utilisé la routine « RISK » (basée sur les formules précédemment citées) développée par Bicout [Bicout, 2006] et implémentée sur MATLAB® 7.0. Pour ce faire, nous avons construit deux fichiers sous format texte (.txt) :

- un fichier appelé « farm.txt » contenant les N = 1066 unités d'élevage dont nous disposions en Dombes (données de la Direction des services vétérinaires de l'Ain), leurs coordonnées et les caractéristiques de leur attractivité (pour des raisons de taille, ce fichier n'a pas été reproduit dans ce texte) ;
- un fichier « sources.txt » contenant les étangs où se trouvent les oiseaux sauvages, leurs coordonnées et la probabilité de présence ρ_s des oiseaux sauvages calculée d'après la surface de cinq étangs remises (tableau 2).

Epidémiol. et santé anim., 2006, **50**, 27-39

Tableau 1

Détermination des paramètres nécessaires au calcul des indices de contact.

Les valeurs des paramètres ont été calculées en fonction des caractéristiques du milieu et des élevages, et de la biologie des colverts et des fuligules milouins en Dombes [Simon, 2006].

Paramètres	Définition	Valeur		Unité
		Colvert	Fuligule milouin	
σ_x [(a)]	Dispersion selon la direction x	5 ; 10	5 ; 10	km
σ_y	Dispersion selon la direction y	5	5	km
b_{elv}	Poids de l'élevage	0.5	0.5	–
b_{env}	Poids de l'environnement	0.5	0.5	–

(a) : Pour l'effet anisotropie de la dispersion des oiseaux sauvages, nous avons utilisé: σ_x = 10 km et σ_y = 5km.

Tableau 2

Détermination de la probabilité de présence d'oiseaux sauvages ρ_s sur les 5 étangs de remises principaux de la Dombes de décembre à février.

Distribution (diurne) des canards sur les cinq étangs remises. La probabilité de présence, proportionnelle à la superficie de la remise, est pondérée par la proportion de chacune des deux espèces sur la période d'hivernage (voir 2-1).

Nom de l'étang source	Coordonnée X	Coordonnée Y	$\rho_{s\ colvert}$	$\rho_{s\ fuligule}$
Le Chapelier	814,235	2111,982	0,08909247	0,05939498
Grand Birieux	808,330	2109,542	0,29654374	0,19769583
Fondation Vérot	800,217	2108,321	0,0400526	0,02670173
Parc ornithologique	808,665	2113,763	0,01270943	0,00847295
Réserve ornithologique	807,551	2114,103	0,16160176	0,10773451

Les différents paramètres utilisés sont récapitulés dans le tableau 1. Le programme « RISK » utilise en entrée les fichiers et paramètres comme suit :

RISK(« farm »,«sources », b_{elv}, b_{env}, σ_x, σ_y, « resultat ») (2)

et donne en sortie un fichier « resultat.txt » contenant les R_n^{elv}, R_n^{env}, $Q_n^{elv-env}$ et R_n pour chaque élevage « n » par rapport à un ensemble de sources de danger.

Afin de tenir compte de la taille relative des communes de la Dombes en nombre d'élevages, nous avons calculé le risque relatif de contact pour chaque commune RR_c de la manière suivante. Soit une région de C communes comptant chacune N_c élevages (c = 1, 2, …, C). Le risque de contact pour chaque commune R_c est la somme des risques associés à chaque élevage :

$$R_c = \sum_{n=1}^{N_c} R_n \quad \text{et} \quad RR_c = \frac{R_c}{N_c \langle R \rangle} \qquad (3)$$

où $\langle R \rangle = \sum_{n=1}^{N} R_n \Big/ N$, est le risque de contact moyen « moyenné » sur tous les élevages de la zone considérée.

Les détails des calculs sont explicités dans Simon, 2006.

Epidémiol. et santé anim., 2006, 50, 27-39

III - RESULTATS ET DISCUSSION

Les valeurs de risque de contact pour chaque unité d'élevage de la Dombes sont représentées spatialement sur des cartes à l'aide d'Arcview® (figures 3, 4, 5, 6 et 7). L'analyse de ces résultats, à l'échelle de l'élevage (risque de contact) et à l'échelle de la commune (risque relatif de contact), nous a permis d'identifier trois facteurs de risque de contact, présentés ici dans un ordre décroissant d'importance.

1. FACTEURS DE RISQUE

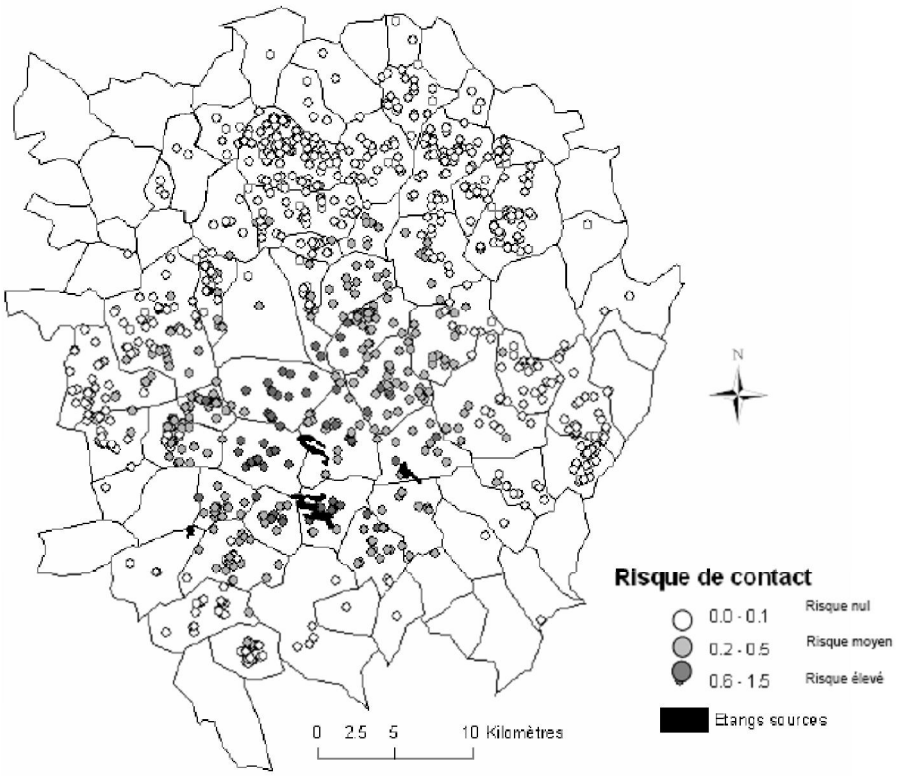
1.1. EFFET PRESENCE ET DISPERSION

De manière générale, on observe une distribution concentrique des valeurs de l'indice de contact, centrée sur les cinq étangs remises, sources de danger (figure 3). Les élevages à risque élevé sont concentrés autour des étangs où la probabilité de présence des canards est la plus importante, et les élevages périphériques ont un risque de contact jugé nul. On voit ici l'importance de la présence des canards sauvages sur la valeur du risque de contact. Pour une meilleure lisibilité, nous avons aggloméré les élevages par commune pour nous intéresser au risque relatif de contact.

Figure 3

Risques relatifs de contact des élevages avicoles en Dombes.

On obtient une carte avec des points figurant les élevages de différents niveaux de gris en fonction de la valeur que prend le risque de contact. La distribution du risque de contact assez hétérogène, est concentrique. Les élevages à risque élevé se trouvent au niveau des étangs sources de danger où les canards sauvages sont présents.



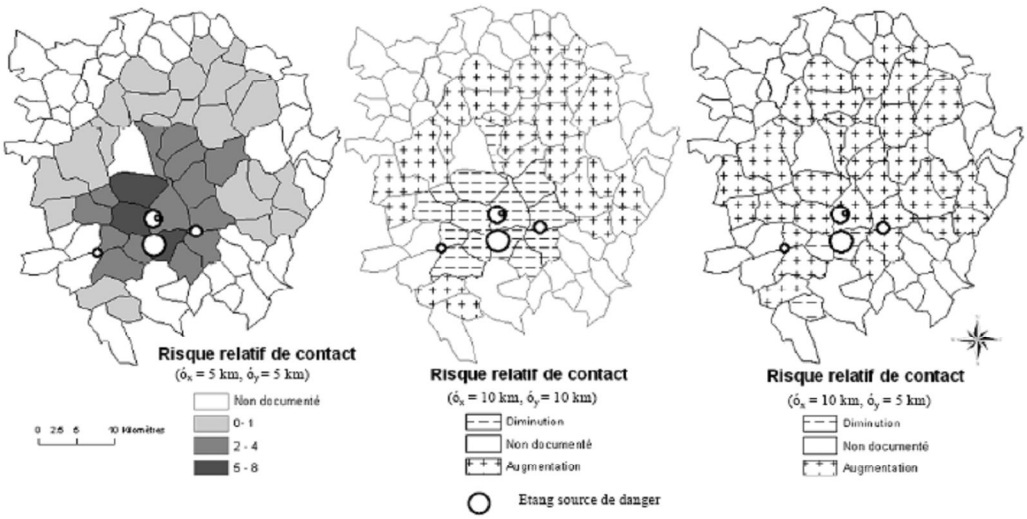
Epidémiol. et santé anim., 2006, 50, 27-39

La figure 4 montre l'effet de la dispersion des canards sauvages sur le risque de contact. Lorsque l'on prend une longueur de dispersion des canards sauvages de 10 km, on voit une dilution du risque : celui-ci s'étend et devient moins important à proximité des sources. Cependant, la dispersion des oiseaux n'est pas homogène dans l'espace, nous avons donc calculé l'indice de contact pour une dispersion anisotrope de 10 km suivant l'axe des x et de 5 km suivant l'axe des y. On obtient une carte où l'on voit non seulement le risque s'étendre, mais, en plus, rester très important dans la région des sources. La dispersion des canards sauvages (ou distance aux sources) influence donc nettement la valeur du risque de contact : plus les oiseaux se dispersent loin, plus le risque de contact de chaque unité augmente. Le caractère hétérogène ou anisotrope de la dispersion semble intéressant à prendre en compte. En effet, un élevage proche des sources de danger peut avoir un indice de contact plus élevé que celui calculé pour une dispersion homogène. Nous avons vérifié la concordance de ces résultats de calcul de risque avec une dispersion des canards sauvages de 5 km de rayon (figure 6). Les élevages à risque élevé sont presque tous contenus à l'intérieur de notre zone dispersive figurée en noire, zone correspondant à la fusion de cercles de rayon égal au rayon de dispersion et centré sur les sources. En revanche, quelques élevages à risque élevé ne sont pas compris dans la zone dispersive, ce qui suggère d'autres facteurs de risque.

Figure 4

Effet de la dispersion des oiseaux sauvages sur le risque relatif de contact.

Plus le rayon de dispersion des canards sauvages est important, plus le risque relatif de contact s'étend avec une diminution de sa valeur dans les zones à proximité des sources de danger. Lorsque l'on prend une dispersion hétérogène ou anisotrope, le risque relatif de contact reste élevé près des remises.



Epidémiol. et santé anim., 2006, 50, 27-39

La figure 5 nous permet d'évaluer l'importance de chacun des trois termes du risque de contact de la formule (2) précédente.

1.2. EFFET ENVIRONNEMENT

La carte du risque relatif environnement ressemble à celle du risque relatif total de contact, avec une dilution centrifuge du risque à partir de la zone centrale des étangs sources (figure 5). Ces résultats montrent la prépondérance de l'environnement par rapport à l'élevage dans le risque de contact. Malgré l'augmentation de la distance aux sources, le risque de contact peut rester élevé du fait d'un fort pouvoir attracteur de l'environnement autour de certains élevages (figure 3). Pourtant, certains élevages qui sont à la même distance des sources et *a priori* dans le même environnement que des élevages à risque moyen voire élevé, ont un risque de contact jugé nul. Ceci suggère l'intervention d'un troisième facteur de risque.

1.3. EFFET ELEVAGE

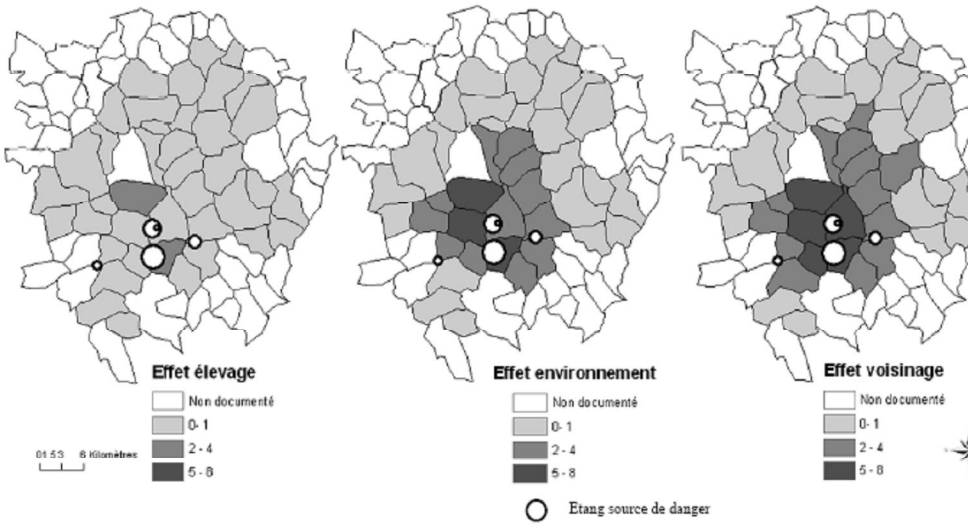
Ce facteur peut jouer un rôle important. A un élevage de type enfermé, interdisant principe tous contacts, peut avoir un risque contact jugé nul, alors qu'il se trouve près sources de danger et dans un environnen à fort pouvoir attracteur vis-à-vis des can sauvages (figure 3). Néanmoins, quand s'intéresse au risque relatif (figure 5), s'aperçoit que l'effet de l'élevage semble dans toute la Dombes. Il est plus faible qu risque environnement et ne donne auc information. L'effet de l'élevage est négligea dans le risque de contact.

On peut remarquer également que les val d'indice de contact lié au voisin croisé $Q_n^{elv-env}$ sont élevées autour des éta sources (figure 5). Les élevages ne sont indépendants, leur risque de contact dép étroitement de leur proximité avec d'au élevages.

Figure 5

Effet des différents composants du risque relatif de contact à l'échelle communale.

L'effet de l'environnement est nettement supérieur à celui de l'élevage, qui *a priori* joue un rôle négligeable dans le risque relatif de contact. La carte de l'effet environnement est très semblable à la carte du risque d contact global, ce qui nous montre l'importance de l'environnement autour de l'élevage. L'effet voisinage cro majore beaucoup le risque, il semble capital de ne pas considérer les élevages comme indépendants mais faisant partie d'un réseau.

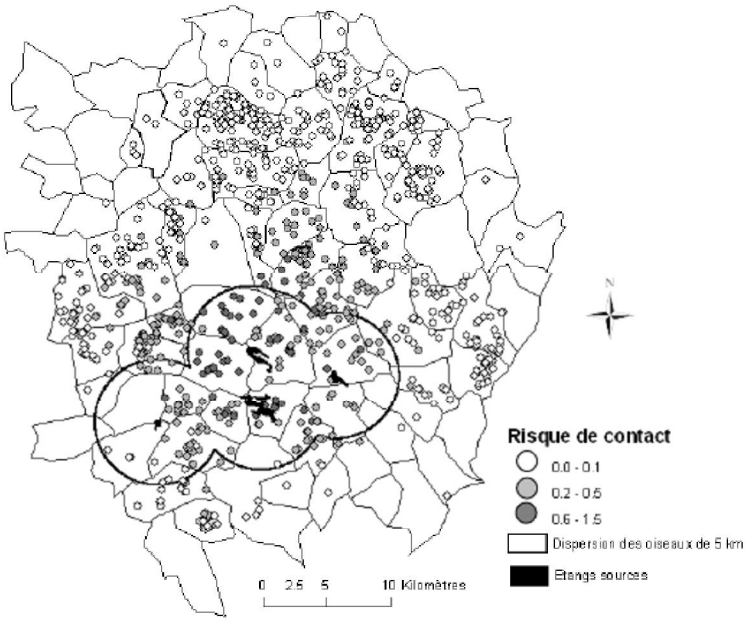


Epidémiol. et santé anim., 2006, **50**, 27-39

Figure 6

Comparaison du risque de contact avec un rayon de dispersion des oiseaux sauvages de 5 km

La zone dispersive de 5 km figurée en noir prend en compte tous les élevages à risque élevé. Le facteur dispersion des canards sauvages semble donc bien adapté au calcul de l'indice de contact.



2. ZONES À RISQUE

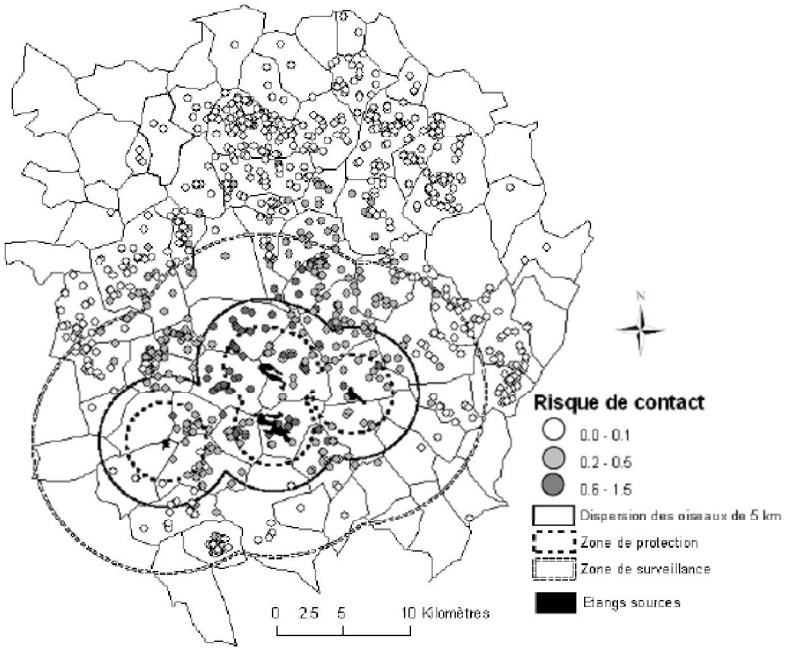
Comparons maintenant ces résultats avec les mesures réglementaires telles qu'elles ont été prises en février 2006 lors de la découverte du foyer d'influenza aviaire dans l'avifaune sauvage (figure 7). Pour mémoire ces mesures consistent en la mise en place de zones de protection et de surveillance respectivement de 3 km et de 10 km minimum autour du foyer. La zone de protection de 3 km de rayon ne prendrait en compte que le tiers des élevages à risque moyen, et surtout, que la moitié des élevages jugés à risque élevé par notre méthode de calcul. En revanche, la zone d surveillance semblerait bien adaptée à l région définie à risque, même si elle surestim le risque à certains endroits. Par contre, elle l sous-estime au nord de la Dombes. Le élevages qui ont un risque de contact non nu peuvent alors transporter les volailles et l lisier, et surtout déroger à l'obligation d confinement des volailles, mesure important pour empêcher le contact. Il paraît don important de prendre en compt l'environnement et les canards sauvages dan la mise en place de mesures réglementaires.

Epidémiol. et santé anim., 2006, **50**, 27-39

Figure 7

Comparaison avec les mesures réglementaires mises en place lors d'influenza aviaire

La zone définie à risque par notre méthode de calcul semble de manière générale bien correspondr rayons de protection et de surveillance mis en place lors de foyer épizootique d'influenza aviair



IV – CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Nous avons mis au point une méthode préliminaire de calcul de risque de contact entre oiseaux sauvages et oiseaux domestiques. Trois facteurs principaux de risque de contact ont été identifiés : la présence et la dispersion des canards sauvages, l'environnement autour de l'élevage et les caractéristiques de l'élevage lui même.

Plus la qualité des données fournies au modèle est bonne, plus l'analyse du risque de contact sera fine. Dans notre étude, les données élevages n'étaient pas exhaustives et les données environnementales peu précises. Une résolution plus importante des données environnementales (données satellitaires) nous permettrait d'affiner l'analyse des milieux et ainsi par exemple, de différencier nettement les exigences écologique différentes espèces pour avoir une ca risque de contact fonction de l'e considérée. Une connaissance approfondie de la localisation et du n d'oiseaux au niveau des sources perm d'avoir une meilleure connaissance probabilité de présence ρ_s. Le développ d'un modèle de prédiction de la taille et répartition des oiseaux en Dombes, c celui développé par le Centre Ornitholo Danois Sovon [Sierdsema *et al.*, pourrait alors être intéressant.

Cette méthodologie, permettant le calcul d'un rayon efficace de protection, pourrait être utilisée par exemple :

- pour l'aménagement d'élevages avicoles dans des zones qui hébergent des oiseaux sauvages ;
- pour adapter et cibler les mesures de bio sécurité et de police sanitaire en cas d'épizootie.

Couplée au modèle de circulation virale développé par Doctrinal [Doctrinal *et al.*, 2006], cette modélisation du contact pourrait permettre de caractériser la force d'infection. Le modèle final décrirait alors la propagation spatio-temporelle d'une épizootie de peste aviaire dans la Dombes. Ce modèle ainsi développé est générique, les paramètres utilisés peuvent être modifiés en fonction de nouvelles données ou bien s'adapter à un autre contexte régional que la Dombes. On peut également l'adapter à des virus et à des réservoirs multiples.

BIBLIOGRAPHIE

Alexander D.J. - A review of avian influenza in different bird species. *Vet. Microbiol.*, 2000, **74**(1-2), 3-13.

Bernard A. - Recensements d'Anatidés nicheurs en Dombes. Année 2005, CORA, 2006.

Bicout D.J. - Indice ou risque de contact oiseaux sauvages - oiseaux domestiques. 2006, en préparation.

Campitelli L., Mogavero E., De Marco M.A., Delogu M., Puzelli S., Frezza F., Fachini M., Chiapponi C., Foni E., Cordioli P., Webby R., Barigazzi G., Webster R.G. DONATELLI I. - Interspecies transmission of an H7N3 influenza virus from wild birds to intensively reared domestic poultry in Italy. *Virology*, 2004, **323**(1): 24-36.

Chen H., Smith G.J.D., Li K.S., Wang J., Fan X.H., Rayner J.M., Vijaykrishna D. - Establishment of multiple sublineages of H5N1 influenza virus in Asia: Implications for pandemic control. *PNAS*, 2005, **103**(8), 2845-2850.

Deibel R., Emord D.E., Dukelow W., Hinshaw V.S., Wood J.M. - Influenza viruses and paramy-xoviruses in ducks in the Atlantic flyway, 1977-1983, including an H5N2 isolate related to the virulent chicken virus. *Avian Dis.*, 1985, **29**(4), 970-85.

Doctrinal D., Artois M., Sabatier P., Bicout D. - Modélisation du risque d'exposition de la volaille domestique aux virus Influenza aviaire d'origine sauvage. *Epidémiol. et Santé Anim.*, 2006, **50**, 71-81.

Fouque C., Couvillers J.L. - Enquête sur les dénombrements hivernaux des anatidés et de la foulque macroule: 12 hivers en région Rhône-Alpes. Birieux (01), Réseau nationale: Oiseaux d'Eau et Zones Humides. O. N. d. l. C. e. d. l. F. Sauvage, 2001, 131.

Halvorson D.A., Kelleher C.J., Senne D.A. - Epizootiology of avian influenza: effect of season on incidence in sentinel ducks and domestic turkeys in Minnesota. *Appl. Environ Microbiol.*, 1985, **49**(4): 914-9.

Hannoun C., Devaux J.M. - Circulation enzootique permanente de virus grippaux dans la Baie de Somme. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, 1980, **3**, 177-183.

Lu H., Castro A.E., Pennick K., Liu J., Yang Q., Dunn P., Weinstock D., Henzler D. - Survival of avian influenza virus H7N2 in SPF chickens and their environments. *Avian Dis.*, 2003, **47**(3 Suppl), 1015-21.

Perchet J. - Appréciation du risque d'introduction de l'influenza aviaire par voie commerciale dans le département de l'Ain. Ecole Nationale des Services vétérinaires, Lyon, 2005, 49.

Sharp G.B., Kawaoka Y., Wright S.M., Turner B., Hinshaw V., Webster R.G. - Wild ducks are the reservoir for only a limited number of influenza A subtypes. *Epidemiol. Infect.*, 1993, **110**(1): 161-76.

Sierdsema H., Meuleman A., Reijnen R. - Breeding birds in models in landscape planning and nature management in Proceedings Bird Numbers 1998. *Die Vogelwelt*, 1999, **120** suppl., 125-129.

Simon A. - Modélisation du risque de contact entre oiseaux sauvages et oiseaux

domestiques. Unité EPSP. Unité EPSP-ENVL, Université Joseph Fourier-Grenoble, 2006, 32.

Tamisier A., Dehorter O. - Camargue, canards et foulques. Fonction-nement et devenir d'un prestigieux quartier d'hiver. Nîmes, Centre Ornithologique du Gard, 1999.

Thomas M.E., Bouma A., Ekker H.M., Fonken A.J., Stegeman J.A., Nielen M. - Risk factors for the introduction of high pathogenicity Avian Influenza virus into poultry farms during the epidemic in the Netherlands in 2003. *Prev. Vet. Med.*, 2005, **69**(1-2), 1-11.

Tracey J.P., Woods R., Roshier D., West P., Saunders G.R. - The role of wild birds in the transmission of avian influenza for Australia: an ecological perspective. *Emu*, 2004, **104**, 109-124.

Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. - Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev*. 1992, **56**(1), 152-79.

5 Application du modèle d'exposition à partir des données de l'épizootie de 2006

5.1 Matériel et méthodes

Nous nous proposons maintenant de tester le modèle d'exposition spatio-temporelle de l'avifaune domestique à partir des données caractérisant l'épizootie de 2006 en Dombes.

Nous reprenons le même calcul de risque de contact entre avifaune sauvage et domestique. Par contre, au lieu de prendre 5 étangs « source » comme étant à l'origine de l'exposition des élevages de la zone d'étude, nous prenons les étangs sur lesquels des cas d'HPAI ont réellement été décrits. Nous générons des cartes de risque à chaque « pas » de l'épizootie, c'est à dire quand un nouvel étang est contaminé. Dans un premier temps, nous paramétrons le modèle de telle façon que nous ne testons pas plus l'effet de proximité de l'élevage que celui d'un environnement favorable au contact avifaune sauvage-avifaune domestique. Il nous semble surtout important d'avoir une échelle de valeur dans ce risque en fonction du nombre et de la localisation des étangs infectés.

Pour des questions pratiques, nous ne représentons que trois cartes : lorsqu'un seul, puis 10, puis 19 étangs sont déclarés infectés.

Puis nous récapitulons sous forme d'un tableau, selon le paramétrage du modèle, les résultats obtenus en terme de risque de contact maximal. Ce tableau prend en considération des variations qui peuvent être observées selon le poids que nous désirons accordé au mode d'élevage ou à la typologie de l'environnement au voisinage de l'étang infecté.

Calcul du risque de contact entre avifaune sauvage et domestique à l'échelle « étangs »

Le risque de contact pour chaque unité « n » exposée à une source « s » d'oiseaux sauvages d'espèce « e » peut s'écrire de manière compacte comme suit:

$$R_{n,s,e} = b_{elv,e} R^{elv}_{n,s,e} + b_{env,e} R^{env}_{n,s,e} + b_{elv,e} b_{env,e} Q^{elv-env}_{n,s,e}$$

Les $R^{elv}_{n,s,e}$ et $R^{env}_{n,s,e}$ sont les risques de contact associés respectivement à l'élevage et à l'environnement; chacun de ces termes résultant de la diffusion directe des oiseaux d'espèce « e » de la source « s » à l'unité « n » et de la contribution de toutes les diffusions indirectes allant de la source « s » à l'unité « n » en passant par une unité « n' » intermédiaire. Le terme $Q^{elv-env}_{n,s,e}$ représente le risque de contact croisé dû à l'effet élevage couplé avec l'effet environnement du voisin et vice versa.

Connaissant la densité d'oiseaux sauvages dans les sources on peut alors exprimer le risque total de contact pour une unité « n » donnée par la relation :

$$R_n = \sum_{s=1}^{M} \sum_{e=1}^{E_s} R_{n,s,e} \rho_{s,e} = R^{elv}_n + R^{env}_n + Q^{elv-env}_n$$

*5.2 **Résultats, discussion***

La zone de dispersion des canards autour de chaque étang infecté figurée en cercles coalescents noirs sur la carte semble prendre en considération la majorité des élevages considérés comme à risque de contact élevé par le modèle. Ceci est valable tout au long de l'épizootie, quelque soit le nombre d'étangs infectés.

Le facteur « dispersion » tel que nous l'avons fixé dans notre modélisation semble donc bien adapté dans le cadre de l'épizootie de 2006 en Dombes tout comme il l'était dans un contexte non épizootique.

Pour rappel, la zone de protection mise en place au cours de l'épizootie n'était que de 3 km ce qui tend à confirmer le fait qu'elle sous estimait le risque pour certains élevages du foyer épizootique. La zone de protection pourrait donc être ramené à un rayon de 5 km qui semblerait mieux adapté même si elle maximise le risque pour certaines régions, notamment le nord ouest de la zone épizootique.

Quand aux effets de l'environnement et de l'élevage, il semblerait qu'au début de l'épizootie, l'effet « élevage » soit plus important à considérer que l'effet « environnement » ; le nombre

d'élevages à risque élevé est de 40 quand l'effet « élevage » est supérieur à l'effet « environnement » . Puis au cours de l'épizootie, la relation s'inverse et l'effet « environnement » devient prépondérant dans le calcul du nombre d'élevage à risque élevé ; le nombre de ces élevages est ainsi de 64 puis de 155 selon que nous nous situons au milieu de l'épizootie ou à la fin, et que l'effet environnement est fixé à 0.75 dans les simulations.

Il s'agit donc, bien au cours de cette épizootie, de considérer la Dombes dans toute sa complexité et surtout de prendre en considération autant les modes d'élevages pratiqués dans cette région que l'environnement naturel des étangs qui constitue clairement un facteur de risque en terme de contact entre avifaune sauvage et domestique.

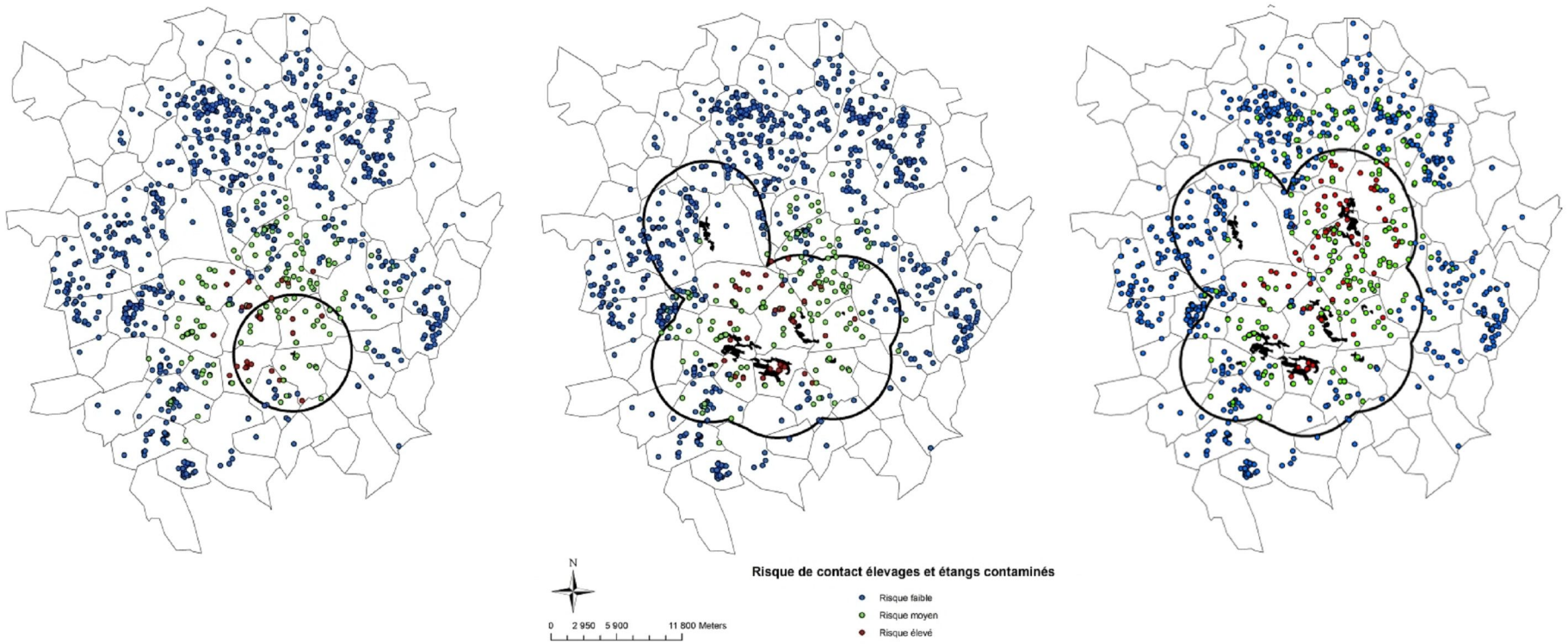


Figure 10: Comparaison du risque de contact avec une zone de dispersion de 5 km de rayon autour des étangs infectés.

Tableau 3: Nombre d'élevages à risque de contact élevé en fonction des paramètres suivants : poids attribué à l'élevage (belv), poids attribué à l'environnement (benv=1-belv) , nombres d'étangs infectés.

Nombre d'étangs	b_{elv}/b_{env}		
infectés	0.25/0.75	0.5/0.5	0.75/0.25
1	30	36	40
10	64	50	50
19	155	84	98

5.3 Conclusion

L'épizootie de 2006 nous a permis de tester le modèle mis en place dans des conditions « réelles ».

Les résultats obtenus sont cohérents avec ceux obtenus par la réflexion théorique exposée dans l'article présenté dans le chapitre précédent.

Il semble que l'environnement autour des étangs joue un rôle clef dans l'estimation du risque de contact tant dans le cadre naturel que dans le cadre d'une épizootie. Celui-ci doit donc être plus profondément étudié afin de caractériser plus finement encore le risque de contact entre avifaune sauvage et domestique.

Enfin, les résultats présentés sont obtenus à partir de données de comptage de populations d'anatidés. Ils ne s'intéressent donc qu'au contact entre une population « source » et une population « cible ».

La même réflexion peut être menée après identification des espèces « ponts » présentes à la fois sur les sites « étangs » et « élevages » à la condition de disposer de données démographiques pour ces espèces suffisamment exhaustives pour recalculer de nouveau le risque de contact.

Discussion, conclusion générale

1 Résultats acquis

Cette étude avait pour objectif d'étudier les facteurs de risque d'exposition de la volaille élevée en plein air en Dombes, à des virus influenza aviaire provenant de l'avifaune aquatique des étangs voisins des élevages.

Dans une première étape, nous nous sommes efforcés de caractériser les dangers liés à la propagation de ces virus influenza dans l'avifaune sauvage. Nous avons pour cela conduit en 2005 et 2006 une enquête épidémiologique qui a révélé la présence d'au moins 5 sous-types différents de virus IA. Les niveaux de sensibilité et de spécificité de notre étude ne nous ont pas permis de mettre en évidence la présence d'une ou plusieurs souches HP ni de souches FP de sous-types H5 ou H7 pouvant être source de dangerosité pour la volaille.

Les sous-types identifiés par cette étude appartiennent à des sous-types fréquemment rencontrés dans la volaille, ce qui nous a permis d'émettre l'hypothèse que l'écosystème de la Dombes permet aux virus influenza de s'échanger périodiquement entre un compartiment domestique et un compartiment sauvage, et *vis versa,* notamment à la faveur des lâchers de gibier de tir. De la sorte, nous avons émis l'hypothèse que l'exposition commune à des souches non pathogènes créait une résilience globale de l'écosystème dombiste aux infections virales FP.

L'intrusion au début de 2006 de virus IA HP H5N1 a toutefois montré que cette résilience pouvait être mise en défaut par l'introduction de ce virus, bien que la mortalité soit restée limitée dans l'avifaune sauvage (Hars, Ruette et al. 2008) et qu'un seul foyer ait été déploré dans un élevage de dindes dans la commune de Versailleux.

Cet événement nous a fourni l'opportunité de caractériser plus en détail le risque que nous avions choisi d'étudier : celui de l'apparition d'une épizootie dans le peuplement d'oiseaux d'eau de la Dombes qui menacerait de contaminer les élevages plein air.

Dans un premier temps nous avons analysé l'épidémiologie du foyer d'AI HP H5N1 en Dombes en utilisant comme unité l'étang, celui-ci étant considéré comme infecté si au moins un oiseau d'eau y a été reconnu atteint par le virus. Cette étude a révélé la dispersion de l'infection en deux agrégats significativement distincts dans l'espace et dans le temps, qui peuvent correspondre à l'introduction simultanée d'un ou deux variants (*clade*). L'analyse de l'apparition de nouveaux étangs atteints, à la suite de l'infection initiale, conduit à estimer que le taux moyen d'infectivité (Ro) était inférieur à 1 (0,876), ce qui suggère que l'IA ne s'est

pas propagé en épizootie et permet d'avancer que ce type de virus a peu de chance de se propager sur de grandes surfaces après son introduction.

A partir de ces constatations, nous avons construit un modèle épidémiologique à compartiment, de type SIR qui nous a servi à finaliser notre analyse de risque dans la seconde étape de ce travail.

Nous avons étudié les caractéristiques de l'exposition de l'avifaune à une source virale supposée exogène, faisant son apparition au sein du peuplement composé principalement de trois types d'espèces : les oiseaux « sources » qui apportent le virus et assurent la liaison infectieuse, les populations « cibles » qui sont sensibles au virus et subissent une importante mortalité si la souche est virulente. Enfin, nous émettons l'hypothèse d'une troisième population, dite « ponts » qui serait capable d'entretenir transitoirement le virus. L'analyse des résultats des simulations révèle un effet important de la date et de la période d'introduction des virus dans le peuplement. Les caractéristiques intrinsèques de la souche considérée, notamment sa pathogénicité et sa durée d'excrétion virale interviennent surtout dans la persistance de l'infection.

En effet, la modélisation suggère que ce ne sont pas les souches les plus virulentes qui provoquent le plus fort taux de mortalité. Car plus la maladie est grave, plus les animaux meurent rapidement et deviennent de ce fait incapables de la transmettre. La propagation du virus est ainsi stoppée. Au final, ce sont les souches moyennement pathogènes qui font le plus de ravages. En effet, elles persistent longtemps et tuent plus d'individus que les souches les moins virulentes. D'autres virus répondent à ce type de modèle, comme par exemple celui de la myxomatose du lapin (Anderson and May 1991).

Dans une approche complémentaire, nous avons modélisé la probabilité de contact entre élevages en parcours plein air et avifaune sauvage. Ce travail suggère que trois facteurs sont à prendre en considération : la présence et la dispersion spatiale et temporelle des canards sauvages, l'effet de l'environnement naturel autour des parcours et enfin les caractéristiques du type de production avicole. Une première délimitation de zones à risque a été réalisée à partir des données disponibles au moment où ce travail a été conduit.

Nous concluons que la période de confinement comme elle a été décidée en 2006 permet de minimiser le risque d'exposition de l'avifaune domestique à une souche d'origine sauvage. En revanche, si le virus arrive dans cette population en été, ou au cours des migrations d'automne, l'exposition serait maximale avant le début de la période de confinement.

Le même travail de modélisation du risque de contact a finalement été conduit sur les données observées au cours cette fois de l'épizootie de 2006. Une nouvelle délimitation des zones à

risque a été proposée cette fois en y intégrant la chronologie des évènements. Ce type de modélisation a pour intérêt de suivre tout au long de l'épizootie l'évolution du statut « à risque » des élevages en terme de contact entre avifaune sauvage et domestique.

Dans les paragraphes suivants, nous discutons les conditions d'étude qui nous ont permis d'aboutir aux conclusions ci-dessus.

2 Discussion sur les méthodes utilisées

2.1 Méthodes d'enquête

Nous avons pris le parti de n'enquêter que sur des anatidés issus soit de la faune sauvage soit de la faune semi sauvage captive. Cette deuxième catégorie est majoritairement représentée dans notre échantillon, ce qui peut biaiser les résultats si l'objectif est d'estimer le réel portage virologique de l'avifaune sauvage. Par contre, si l'objectif est d'estimer l'intensité de la circulation des virus Influenza Aviaire chez les Anatidés alors notre échantillon montre que les espèces de cette famille sont effectivement régulièrement en contact avec les virus Influenza et qu'ils hébergent ces virus de façon régulière et intensive. Ceci concourt à démontrer que cette famille présente les caractéristiques de ce que nous avons considéré comme une population « source ».

L'accessibilité de ces populations ne permettait pas un échantillonnage aléatoire de la famille ce qui aurait été statistiquement plus robuste. Une campagne de prélèvements à plus large échelle avec des moyens de capture plus complets doit être envisagée afin de pouvoir estimer une prévalence de circulation des virus Influenza plus solide. Cependant les proportions retrouvées se situent dans les normes de grandeur annoncées par les autres études européennes.

Les prélèvements ont été réalisés en hiver, la température extérieure étant souvent négative, les échantillons étaient ensuite stockés sous couvert du froid. Les écouvillons cloacaux étaient ensuite placés dès le jour même à –70°C afin de garantir une conservation optimale des souches.

L'acheminement des écouvillons cloacaux s'est fait sous carboglace jusqu'à l'Institut Pasteur de Paris en moins de 24 heures.

Ainsi, nous avons essayé de maintenir une chaîne du froid suffisante pour garantir une conservation optimale des virus.

Malgré tout, nous sommes conscients qu'une partie du matériel biologique récolté a subi des dégradations suite à des erreurs de ramassage (certains échantillons prélevés par des techniciens ou chasseurs nous ont été restitués tardivement ou ont été placés dans des

réfrigérateurs à 4°C) ce qui a probablement constitué une source d'erreur pour la suite des analyses. Vient s'ajouter à ces problèmes de conservation des problèmes de manque de matériel biologique pour la suite des analyses. Cependant, ces problèmes n'ont pu être anticipés car découverts tardivement au moment des analyses de laboratoire.

2.2 Méthodes d'analyse virologique

Les écouvillons cloacaux ont été entièrement traités par le laboratoire des virus respiratoires de l'Institut Pasteur de Paris.

Nous avons rencontré essentiellement deux problèmes : celui de la quantité insuffisante de matériel génétique et celui de la mise au point des RT-PCR.

Le manque de matériel génétique découle premièrement de l'insuffisance de matériel génétique sur le prélèvement initial. Soit l'écouvillon n'avait pas été suffisamment imprégné de matière fécale, soit celle-ci n'a pas été conservée dans des conditions optimales ce qui a entraîné un appauvrissement progressif de l'échantillon. Ensuite, le protocole d'analyse consistait d'abord à rechercher le gène M puis à identifier par des RT-PCR quantitatives les gènes H et N. Au final, chaque échantillon a subi plus de 10 RT-PCR. Pour certains prélèvements positifs pour le gène M, la mise en culture sur œufs embryonnés a donné de bons résultats et donc a permis de générer de nouveau le matériel génétique nécessaire. Pour d'autres, la culture n'ayant rien donné, toutes les analyses ont été réalisées à partir du prélèvement initial ce qui a conduit à l'épuisement de celui-ci.

Enfin, la validation d'analyses RT-PCR nécessite une étape de standardisation de la procédure. Notamment, la mise au point d'amorces amplificatrices pour les virus Influenza A est différente de celle déjà effectuée dans le laboratoire pour d'autres virus Influenza de type B ou C. Choisir, recevoir, tester et valider une amorce pour un gène H ou un gène N prend du temps et nécessite une certaine technicité dont nous ne disposions pas.

Avec le manque de matériel, la validation de la méthode pour chaque RT-PCR réalisée sur les prélèvements ont été les difficultés majeures rencontrées au cours des analyses virologiques.

Notre article s'arrête sur le sous-typages des souches qui ont pu être isolées. Il serait bien évidemment très intéressant d'aller jusqu'au génotypage de ces souches afin de proposer une phylogénie les reliant aux autres souches européennes identifiées comme circulant dans l'avifaune sauvage et plus particulièrement chez les Anatidés durant l'hiver 2005-2006.

2.3 Discussion sur la démarche d'analyse de risque

La démarche classique d'analyse du risque comprend théoriquement une étude de gestion du risque ainsi que de la communication relative au risque. Ces étapes n'ont pas été abordées

dans le travail. Nous estimons que notre travail est une contribution à l'analyse de risque de survenue de l'Influenza Aviaire mais qu'évaluation du risque et gestion du risque sont deux approches distinctes qui ne doivent pas être confondues. Il sera toujours envisageable à partir du modèle ici exposé d'envisager des stratégies de lutte tel que la vaccination ou l'abattage et de tester leurs effets sur la dynamique de population de canards sauvages et sur la circulation des virus Influenza.

Dans notre approche d'estimation du risque, nous n'abordons pas non plus les facteurs anthropiques (mouvements commerciaux, activités humaines et répercussion sur l'écologie des hôtes…) qui peuvent modifier artificiellement essentiellement la dynamique de population des hôtes « source » que sont les Anatidés sauvages en Dombes ou des hôtes « cibles » qu'est la volaille domestique.

3 Perspectives et conclusion

3.1 Perspectives de recherche sur le rôle de l'avifaune sauvage

Nous nous proposons ici d'utiliser la définition d'un « réservoir » de Haydon *et al*. (Haydon, Cleaveland et al. 2002) pour explorer le rôle épidémiologique que l'avifaune sauvage peut jouer dans l'exposition de la volaille élevée en parcours plein air en Dombes. Selon ces auteurs, un réservoir est défini comme: 'one or more epidemiologically connected populations or environments in which the pathogen can be permanently maintained and from which infection is transmitted to the defined target population'. Autrement dit, si la volaille est la cible visée par le danger d'Influenza, le réservoir est constitué par la ou les espèces qui entretiennent et véhiculent le virus ainsi que par le milieu naturel, en particulier le sol des parcours et l'eau des étangs qui permettent la contamination d'oiseaux réceptifs lorsque le virus s'y trouve en suspension.

3.1.1 La source

Il est désormais reconnu que l'avifaune aquatique constitue dans son ensemble, la biomasse qui assure la propagation et le renouvellement des innombrables variants de virus influenza qui circulent sur la planète. Mais l'infection d'un individu est brève. De façon générale la perpétuation de ces virus dépend de leur capacité à se propager de façon directe ou indirecte.

3.1.2 Environnement

Les virus influenza peuvent rester infectieux dans les eaux de surface pendant des durées longues, modulées par les paramètres physico-chimiques (Stallknecht, Kearney et al. 1990;

Brown, Stallknecht et al. 2007; Garamszegi and Møller 2007). Ainsi des essais en conditions expérimentales ou des observations de terrain ont montré que des virus influenza peuvent rester infectieux quatre jours dans l'eau à 22°C, et plus de 30 jours à 0°C même à la suite de la succession de périodes de gel et de dégel ; Certaines souches sont restées infectantes jusqu'à 207 jours à 17°C. Enfin, les sédiments chargés de matières organiques peuvent entretenir une grande diversité de sous-types (Zhang 2007; Lang, Kelly et al. 2008). En conséquence, les étangs de la Dombes, peu profonds, contaminés pour certains par de grandes concentrations d'oiseaux, et dont la température du fond reste fraîche en été offrent des conditions idéales pour une transmission indirecte et une amplification rapide du taux d'infection (Widjaja, Krauss et al. 2004; Fouchier, Munster et al. 2007; René and Bicout 2007).

3.1.3 Oiseaux sauvages

Tous les sous-types d'AIV peuvent être rencontrés chez les oiseaux d'eau (Webster, Krauss et al. 2007) mais les souches prévalentes peuvent changer considérablement d'un endroit et d'une saison à l'autre. La prévalence apparente de ces virus chez les canards et les mouettes ou goélands peut tomber à des niveaux très faibles au printemps dans notre hémisphère. En Dombes toutefois le cycle de perpétuation de ces virus n'a pas été éclairci et le rôle respectif de l'ensemencement par l'arrivée des migrateurs d'automne ou de la persistance locale, notamment à la faveur des lâchers d'oiseau de tir et d'autres contaminations à partir de la volaille reste à éclaircir (Krauss, Walker et al. 2004).

3.1.4 Oiseaux terrestres

Les passereaux, voire d'autres Ordres peuvent à la fois véhiculer des souches FP et HP (Kelly, Hawkins et al. 2008). Des études expérimentales (Boon, Sandbulte et al. 2007) montrent que des espèces telles que le moineau domestique *Passer domesticus*, peuvent jouer le rôle d'hôte de liaison et peuvent éventuellement transmettre des AIV aux oiseaux et mammifères domestiques, bien qu'elles ne peuvent constituer une source importante et régulière de virus HP, tels que le H5N1. Toutefois des infections expérimentales d'étourneaux (*Sturnus vulgaris*) ont entraîné de faibles signes cliniques accompagnés d'une importante excrétion virale, ce qui suggère que cette espèce pourrait jouer un rôle non négligeable. Le pigeon aurait quand à lui un rôle mineur dans le maintien et la propagation du virus (Liu, Zhou et al. 2007).
Les oiseaux d'eau doivent donc être considérés comme les hôtes principaux de persistance des AIV, avec des différences notables selon la taxinomie et l'écologie des espèces (Stallknecht

and Brown 2007). En Dombes en particulier le rôle des espèces observées à proximité des parcours doit faire l'objet d'investigations plus poussées.

3.1.5 Préservation et persistance

La prévalence moyenne de l'influenza aviaire en Dombes reste mal définie puisque notre travail, seul publié à ce jour pour ce site, n'a pas été complété d'études longitudinales permettant une analyse de la variabilité inter-annuelle et saisonnière, ni de le comparer aux données disponibles sur le reste du Continent Européen ou sur d'autres (Olsen, Munster et al. 2006; Garamszegi and Møller 2007; Munster, Baas et al. 2007).

La persistance d'une souche donnée de virus influenza dépend de l'effectif critique de la population exposée et de son taux de renouvellement (Guberti, Scremin et al. 2007). La diversité des souches coexistant dans une grande population dépend également de la réponse immunitaire globale de celle-ci (Sharkey, Bowers et al. 2008). En hiver, le peuplement d'anatidés en Dombes atteint plusieurs dizaines de milliers d'individus. A l'hiver 2006 par exemple, il y avait plus de 10 000 colverts hivernants et près de 10 000 milouins s'y sont ajoutés brutalement. Une telle masse d'oiseau peut assurer la persistance d'une grande diversité de souches (Kaleta, Hergarten et al. 2005) et le brassage très rapide résultant de l'intrusion massive de nouveaux individus va entraîner un renouvellement rapide de la composition génétique du « pool » de virus influenza, en raison de l'étroite promiscuité des oiseaux qui se regroupent sur les étangs dont la surface reste en eau malgré le gel. La nature même de ce phénomène épidémiologique reste complètement hypothétique puisque aucune donnée virologique n'est en mesure de permettre l'analyse de la situation créée par ces conditions particulières et « quasi expérimentales ».

Dans la majorité des situations décrites à la suite de l'infection d'un anatidé par un virus influenza aucune évolution clinique ne semble mesurable et par conséquent aucun de ces oiseaux ne va modifier son comportement, permettant une propagation des souches par le relais des comportements sociaux et de survie (Weber and Stilianakis 2007).

Au total, ce sont donc bien les conditions environnementales : distribution spatiale des étangs, surface de ceux-ci, zones de gagnage et de repos, conditions météorologiques qui vont constituer les facteurs de risque d'évolution des souches d'influenza et conditionner l'apparition éventuelle de souches virulentes, selon des modalités qui restent à bien des égards incomprises.

Bien que des souches HP aient été isolées d'oiseaux sauvages (Ellis, Bousfield et al. 2004), il est désormais admis que ces souches émergent dans les élevages là où le commerce et la

densité facilitent l'éclosion et la dispersion de souches virulentes (Munster, Wallensten et al. 2005; Sims, Domenech et al. 2005; Capua and Alexander 2007; Boyce, Sandrock et al. 2008; Boyce, Sandrock et al. 2009). En particulier il n'existe pour le moment aucune indication que les souches H7 soient perpétuées dans l'avifaune sauvage aquatique (Boon, Sandbulte et al. 2007), cette avifaune constitue donc un cul de sac épidémiologique pour des souches HP, y compris pour les divers variants du H5N1 d'origine asiatique (Chen, Smith et al. 2005).

3.1.6 La dispersion des virus influenza par les oiseaux

Le brassage des oiseaux au cours des déplacements migratoires joue probablement un rôle important dans la circulation virale (Garamszegi and Møller 2007). Il reste néanmoins toujours très controversé de savoir si les oiseaux migrateurs sauvages peuvent significativement transporter le virus à grande distance (Weber and Stilianakis 2007). Un des principaux arguments à l'encontre de cette hypothèse réside dans l'idée qu'un oiseau malade aurait moins de capacité à se mouvoir et donc à transporter le virus, mais les résultats expérimentaux se multiplient qui montrent que, selon les souches inoculées, de nombreuses espèces aviennes résistent à la maladie y compris avec un virus HP H5N1 (Sturm-Ramirez, Hulse-Post et al. 2005; Brown, Stallknecht et al. 2006; Chen, Shen et al. 2006; Keawcharoen, van Riel et al. 2008).

En Dombes, le rôle d'importateur du virus par le milouin est fortement suggéré par l'étude de Hars et al. (Hars, Ruette et al. 2008), ce qui montre que cette espèce a probablement pu déplacer une ou plusieurs souches sur près de 2500km en quelques jours mais cet oiseau n'est pas directement responsable de la transmission du virus à l'élevage de Versailleux. Le relais d'une contamination environnementale et le véhiculage indirect par des objets inanimés en est l'explication la plus probable (Anonym 2007).

3.1.7 La transmission à la volaille par les oiseaux sauvages

En Dombes les conditions historiques et zootechniques ont créé une entité épidémiologique au sein de laquelle la circulation virale semble pouvoir s'effectuer avec une relative facilité : parcours plein air, proximité des étangs et des élevages permettent des contacts indirects, voire directs entre les deux types d'oiseaux.

Des études encore en cours dans l'Unité de recherche TIMC/IMAG EPSP doivent éclaircir le risque épidémiologique (Artois 2008; Marquetoux 2008) mais permettent déjà de limiter la liste des oiseaux ayant un rôle potentiel de portage viral entre une source constituée par les oiseaux d'eau dans les étangs et la cible des élevages plein-air.

Les oiseaux à risque peuvent en l'état être listés de la façon suivante :

- corvidés (*Corvus* spp.)
- canard colvert (*Anas* platyrhynchos)
- milan (*Milvus* spp.)
- pigeons (*Columba* spp.)
- moineaux (*Passer* spp.)
- étourneau (*Sturnus* spp.).

Bien que les mesures prises lors du confinement, ou celles qui sont préconisées si le risque d'épizootie est qualifié par l'AFSSA d'important, limitent la probabilité de contact, les chances pour un virus de souiller le sol des parcours ou d'entrer en contact avec la volaille « plein air » ne sont pas complètement négligeables. Des études complémentaires sont à faire pour préciser ces risques et surtout les maîtriser par des pratiques adaptées et ajustées aux exigences de typicité de la production dombiste.

3.2 Conclusion générale

Selon Cerf et. al. (1996), la démarche d'analyse de risque « a pour but d'identifier les dangers connus ou potentiels d'en apprécier les risques de les gérer et de communiquer à leur propos ». Appliquée à un risque infectieux comme la probabilité de survenue d'une épizootie d'Influenza Aviaire en Dombes, cette définition a servi de guide à nos investigations. La contribution de notre travail à une telle démarche peut se résumer ainsi :

- Contribution à l'estimation du risque d'émission (enquête prospective pour obtenir des niveaux de prévalence de circulation virale, étude de l'épizootie de 2006 et scénario d'émission, meilleure compréhension des mécanismes de circulation des souches IA dans l'avifaune sauvage par la modélisation)
- Contribution à l'estimation du risque d'exposition (modélisation temporelle des paramètres d'exposition de la volaille domestique à une souche circulant dans l'avifaune sauvage + modélisation spatiale du risque de contact entre avifaune sauvage et domestique en Dombes)
- Mise en évidence des points clés qu'il faut approfondir pour affiner la démarche :
    - Sur les espèces aviaires en jeu, affiner le profil « source », « ponts » en estimant notamment la durée moyenne de portage des virus IA, de l'expression clinique de la maladie avec ses variations ce qui permettre de caractériser au mieux la sensibilité des espèces aux virus IA)

- Sur le virus, affiner les mécanismes de pathogénicité et leurs variations, les caractéristiques intrinsèques de conservation, de transmission…

En terme de risque environnemental, il faut affiner le rôle du mode d'élevage et de l'influence de l'environnement autour des élevages ainsi que les facteurs anthropiques le modifiant.

Références

Références

Anderson, R. M. and R. M. May (1979). "Population biology of infectious diseases : Part I." Nature **280**(5721): 361-367.

Anderson, R. M. and R. M. May, Eds. (1991). Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control, Oxford University Press.

Anonym (2007). Influenza Aviaire: l'essentiel des connaissances sur le sujet. Ploufragran, Institut Technique d'Aviculture. **TeMA:** 25-31.

Artois, J. (2008). Oiseaux sauvages observés par les éleveurs avicoles de la Dombe (France, Ain). Rapport M1. Lyon, UCB Lyon 1.

Artois, M., D. J. Bicout, D. Doctrinal, R. Fouchier, D. Gavier-Widen, A. Globig, W. Hagemeijer, T. Mundkur, V. Munster and B. Olsen (2009). "Role of wild birds in Avian Influenza." Rev. Sci. Tech.OIE. **28**(1).

Artois, M., R. J. Manvell, E. Fromont and J. B. Schweyer (2002). "Serosurvey of Newcastle Disease and avian Influenza A virus antibodies in great cormorants from France." Journal of Wildlife Diseases **38**: 169-171.

Blancou, J. (2000). Histoire de la surveillance et du contrôle des maladies animales transmissibles. Paris, Office international de épizootie.

Boon, A. C. M., M. R. Sandbulte, P. Seiler, R. J. Webby, T. Songserm, Y. Guan and R. G. Webster (2007). "Role of Terrestrial Wild Birds in Ecology of Influenza A Virus (H5N1)." Emerg Infect Dis **13**(11): 1720-1724.

Boyce, W. M., C. Sandrock, C. Kreuder-Johnson, T. Kelly and C. Cardona (2009). "Avian influenza viruses in wild birds: A moving target." Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases **32**(4): 275-286.

Brown, J. D., D. E. Stallknecht, J. R. Beck, D. L. Suarez and D. E. Swayne (2006). "Susceptibility of North American ducks and gulls to H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses." Emerg Infect Dis **12**(11): 1663-70.

Brown, J. D., D. E. Stallknecht, S. Valeika and D. E. Swayne (2007). "Susceptibility of wood ducks to H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza virus." J Wildl Dis **43**(4): 660-667.

Capua, I. and D. J. Alexander (2007). "Avian influenza infections in birds; a moving target." Influenza and Other Respiratory Viruses **1**(1): 11-18.

Capua, I. and F. Mutinelli (2001). A color atlas and text on Avian Influenza. Bologna, Papi Editore - Edizioni Tecnico Scientifiche.

Chan, P. K. (2002). "Outbreak of avian influenza A(H5N1) virus infection in Hong Kong in 1997." Clin Infect Dis **34 Suppl 2**(34): S58-64.

Chen, H., G. Deng, Z. Li, G. Tian, Y. Li, P. Jiao, L. Zhang, Z. Liu, R. G. Webster and K. Yu (2004). "The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China." PNAS **101**(28): 10452-10457.

Chen, H., G. J. D. Smith, S. Y. Zhang, K. Qin, J. Wang, K. S. Li, R. G. Webster, J. S. M. Peiris and Y. Guan (2005). "H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl " Nature **436**(7048): 191-192.

Chen, H., G. J. D. Smith, S. Y. Zhang, K. Qin, J. Wang, K. S. Li, R. G. Webster, J. S. M. Peiris and Y. Guan (2005). "H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl." Nature **436**(7048): 191-92.

Chen, H. X., H. G. Shen, X. L. Li, J. Y. Zhou, Y. Q. Hou, J. Q. Guo and J. Q. Hu (2006). "Seroprevalance and identification of influenza A virus infection from migratory wild

waterfowl in China (2004-2005)." J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health **53**(4): 166-70.

Del Hoyo, J., A. Elliot and J. Sargatal (1996). Handbook of the birds of the world. Barcelona, Lynx Edicions.

Doctrinal, D., M. Artois, P. Sabatier and D. Bicout (2006). "Modélisation du risque d'exposition de la volaille aux virus Influenza Aviaire d'origine sauvage " Epdémiologie et Santé Animale(50): 71-81.

Donis, R. O., W. J. Bean, Y. Kawaoka and R. G. Webster (1989). "Distinct lineages of influenza virus H4 hemagglutinin genes in different regions of the world." Virology **169**(2): 408-417.

Earn, D. J. D., J. Dushoff and S. A. Levin (2002). "Ecology and evolution of the flu." Trends in Ecology and Evolution **17**(7): 334-340.

Ellis, T. M., R. B. Bousfield, L. A. Bissett, K. C. Dyrting, G. S. M. Luk, S. T. Tsim, K. M. Sturm-Ramirez, R. G. Webster, Y. Guan and J. S. M. Peiris (2004). "Investigation of outbreaks of highly pathogenic H5N1 avian influenza in waterfowl and wild birds in Hong Kong in late 2002." Avian Pathology **33** (5): 492 - 505.

Ferguson, N. M., D. A. T. Cummings, S. Cauchemez, C. Fraser, S. Riley, A. Meeyai, S. Iamsirithaworn and D. S. Burke (2005). "Strategies for containing an emerging influenza pandemic in Southeast Asia." Nature **437**(7056): 209-214.

Ferguson, N. M., D. A. T. Cummings, C. Fraser, J. C. Cajka, P. C. Cooley and D. S. Burke (2006). "Strategies for mitigating an influenza pandemic." Nature **442**(7101): 448-452.

Ferguson, N. M., A. P. Galvani and R. M. Bush (2003). "Ecological and immunological determinants of influenza evolution." Nature **422**(6930): 428-433.

Fleming, G. (1871). Animal plagues : their history, nature and prevention. London, Chapman and Hall.

Fouchier, R. A. M., V. J. Munster, J. Keawcharoen, A. D. M. E. Osterhaus and T. Kuiken (2007). "Virology of avian influenza in relation to wild birds." J Wildl Dis **43**(3_Supplement): S7-14.

Garamszegi, L. Z. and A. P. Møller (2007). "Prevalence of avian influenza and host ecology." Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences **274**(1621): 2003-2012.

Globig, A., E. Starick and O. Werner (2006). "[Influenza virus infections in migrating waterfowl: results of a two year study in Germany]." Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift **119**(3-4): 132-139.

Gog, J. R. and B. T. Grenfell (2002). "Dynamics and selection of many-strain pathogens." PNAS **99**(26): 17209-17214.

Guan, Y., J. S. M. Peiris, A. S. Lipatov, T. M. Ellis, K. C. Dyrting, S. Krauss, L. J. Zhang, R. G. Webster and K. F. Shortridge (2002). "Emergence of multiple genotypes of H5N1 avian influenza viruses in Hong Kong SAR." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **99**(13): 8950-8955.

Guberti, V. and S. H. Newman (2007). "Guidelines on Wild Bird Surveillance for Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 Virus " J. Wildl. Dis. **43**(3): S29-S34.

Guberti, V., M. Scremin, L. Busani, L. Bonfanti and C. Terregino (2007). "A simulation model for low-pathogenicity avian influenza viruses in dabbling ducks in Europe." Avian diseases **51**(1 Suppl): 275-278.

Hannoun, C. (1977). Isolation from birds of influenza viruses with human neuraminidases. International symposium on influenza immunization (II), Genève, Devl. Biol. Standard.

Hannoun, C. and J. M. Devaux (1981). "Circulation enzootique permanente de virus grippaux dans la Baie de Somme." Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.(3): 177-183.

Hars, J., K. Louboutin, V. Le Potier, J. Rousset, J. Y. Fournier, G. Leray, E. Bureau, M. Baune and V. Jestin (2004). Evaluation de l'état sanitaire de l'avifaune sauvage de deux réserves de chasse et faune sauvage vis à vis de deux maladies partagées par les oiseaux sauvages et domestiques : l'Influenza Aviaire (peste aviaire) et la maladie de Newcastle (pseudo-peste aviaire).

Hars, J., S. Ruette, M. Benmergui, C. Fouque, J.-Y. Fournier, A. Legouge, M. Cherbonnel, B. Daniel, C. Dupuy and V. Jestin (2008). "The epidemiology of the highly pathogenic H5N1 avian influenza in mute swan (*Cygnus olor*) and other anatidae in the Dombes region (FRANCE), 2006." J Wildl Dis **44**(4): 811-823.

Haydon, D. T., S. Cleaveland, L. H. Taylor and M. K. Laurenson (2002). "Identifying Reservoirs of Infection: A Conceptual and Practical Challenge." Emerging Infectious Diseases **8**(12): 1468-1473.

Heusinger, C. F. (1853). Recherches de pathologie comparée Cassel chez H. Hotop.

Kaleta, E. F., G. Hergarten and A. Yilmaz (2005). "Avian influenza A viruses in birds --an ecological, ornithological and virological view." Deutsche Tierarztliche Wochenschrift **112** (12): 448-456.

Keawcharoen, J., D. van Riel, G. van Amerongen, T. Bestebroer, W. E. Beyer, R. van Lavieren, A. Osterhaus, R. A. M. Fouchier and T. Kuiken (2008). "Wild Ducks as Long-Distance Vectors of Highly Pathogenic Avian Influenza Virus (H5N1)." Emerg Infect Dis **14**: 600–607.

Kelly, T. R., M. G. Hawkins, C. E. Sandrock and W. M. Boyce (2008). "A Review of Highly Pathogenic Avian Influenza in Birds, With an Emphasis on Asian H5N1 and Recommendations for Prevention and Control." Journal of Avian Medicine and Surgery **22**(1): 1-16.

Krauss, S., D. Walker, S. P. Pryor, L. Niles, L. Chengchong, V. S. Hinshaw and R. G. Webster (2004). "Influenza A viruses of migrating wild aquatic birds in North America." Vector-borne and zoonotic diseases **4**(3): 177-189.

Kuiken, T., G. Rimmelzwaan, D. van Riel, G. van Amerongen, M. Baars, R. Fouchier and A. Osterhaus (2004). "Avian H5N1 influenza in cats." Science (New York, N.Y.) **306**(5694): 241.

Lang, A. S., A. Kelly and J. A. Runstadler (2008). "Prevalence and diversity of avian influenza viruses in environmental reservoirs." J Gen Virol **89**(2): 509-519.

Le Gall-Recule, G., F. X. Briand, A. Schmitz, O. Guionie, P. Massin and V. Jestin (2008). "Double introduction of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus into France in early 2006." Avian Pathology **37**(1): 15-23.

Lebreton, P., A. Bernard and M. Dupuet, Eds. (1991). Guide du Naturaliste en Dombes. Neuchâtel, Paris.

Li, K. S., Y. Guan, J. Wang, G. J. D. Smith, K. M. Xu, L. Duan, A. P. Rahardjo, P. Puthavathana, C. Buranathai, T. D. Nguyen, A. T. S. Estoepangestie, A. Chaisingh, P. Auewarakul, H. T. Long, N. T. H. Hanh, R. J. Webby, L. L. M. Poon, H. Chen, K. F. Shortridge, K. Y. Yuen, R. G. Webster and J. S. M. Peiris (2004). "Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia." Nature **430**(6996): 209-213.

Liu, Y., J. Zhou, H. Yang, W. Yao, W. Bu, B. Yang, W. Song, Y. Meng, J. Lin, C. Han, J. Zhu, Z. Ma, J. Zhao and X. Wang (2007). "Susceptibility and transmissibility of pigeons to Asian lineage highly pathogenic avian influenza virus subtype H5N1." Avian Pathology **36**: 461-465.

Longini, I. M., A. Nizam, S. Xu, K. Ungchusak, W. Hanshaoworakul, D. A. T. Cummings and M. E. Halloran (2005). "Containing pandemic influenza at the source." Science (New York, N.Y.) **309**(5737): 1083-1087.

Lowen, A. C., S. Mubareka, J. Steel and P. Palese (2007). "Influenza Virus Transmission Is Dependent on Relative Humidity and Temperature." PLoS Pathogens **3**(10): e151.

Marquetoux, N. (2008). Analyse de risque quantitative de transmission de virus Influenza de l'avifaune sauvage à la volaille domestique élevée en parcours plein air en Dombes. Rapport M1. Lyon, UCB Lyon 1**:** 7.

Martin, V., S. von Dobschuetz, A. Lemenach, N. Rass, W. Schoustra and L. DeSimone (2007). "Early warning, database, and information systems for Avian Influenza surveillance." J Wildl Dis **43**(3_Supplement): S71-76.

Mase, M., K. Tsukamoto, T. Imada, K. Imai, N. Tanimura, K. Nakamura, Y. Yamamoto, T. Hitomi, T. Kira, T. Nakai, M. Kiso, T. Horimoto, Y. Kawaoka and S. Yamaguchi (2005). "Characterization of H5N1 influenza A viruses isolated during the 2003-2004 influenza outbreaks in Japan." Virology **332**(1): 167-176.

Munster, V. J., C. Baas, P. Lexmond, J. Waldenstrom, A. Wallensten, T. Fransson, G. F. Rimmelzwaan, W. E. P. Beyer, M. Schutten, B. Olsen, A. D. M. E. Osterhaus and R. A. M. Fouchier (2007). "Spatial, Temporal, and Species Variation in Prevalence of Influenza A Viruses in Wild Migratory Birds." PLoS Pathogens **3**(5): e61.

Munster, V. J., A. Wallensten, C. Baas, G. F. Rimmelzwaan, M. Schutten, B. Olsen, A. Osterhaus and R. Fouchier (2005). "Mallards and Highly Pathogenic Avian Influenza Ancestral Viruses, Northern Europe." Emerging Infectious Diseases **11**(10): 1545-1551.

Olsen, B., V. J. Munster, A. Wallensten, J. Waldenström, A. Osterhaus and R. Fouchier (2006). "Global Patterns of Influenza A virus in wild birds." Science **312**: 384-388.

Osterhaus, A. and J. Munster (2008). Epidemiology of Avian Influenza Avian Influenza. H.D. Karger. **27:** 1-10.

René, M. and D. J. Bicout (2007). "Influenza Aviaire: modélisation du risque d'infection des oiseaux à partir d'étangs contaminés." Epidémiol. et santé anim. **51**: 95-109.

Schäfer, J. R., Y. Kawaoka, W. J. Bean, J. Süss, D. Senne and R. G. Webster (1993). "Origin of the pandemic 1957 H2 influenza A virus and the persistence of its possible progenitors in the avian reservoir." Virology **194**(2): 781-788.

Sharkey, K. J., R. G. Bowers, K. L. Morgan, S. E. Robinson and R. M. Christley (2008). "Epidemiological consequences of an incursion of highly pathogenic H5N1 avian influenza into the British poultry flock." Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences **275**(1630): 19-28.

Simon, A., D. Doctrinal and D. Bicout (2006). "Risque de contact entre oiseaux sauvavges et domestiques dans la région de la Dombes,France." Epidémiologie et Santé Animale(50): 27-39.

Sims, L. D., J. Domenech, C. Benigno, S. Kahn, A. Kamata, J. Lubroth, V. Martin and P. Roeder (2005). "Origin and evolution of highly pathogenic H5N1 avian influenza in Asia." The Veterinary Record **157**(6): 159-159.

Situngkir, H. (2004). Epidemiology Through Cellular Automata: Case of Study Avian Influenza in Indonesia.

Stallknecht, D. E. and J. D. Brown (2007). "Wild birds and the epidemiology of Avian Influenza." J Wildl Dis **43**(3_Supplement): S15-20.

Stallknecht, D. E., M. T. Kearney, S. M. Shane and P. J. Zwank (1990). "Effects of pH, temperature, and salinity on persistence of avian influenza viruses in water." Avian Dis **34**(2): 412-8.

Stallknecht, D. E. and S. M. Shane (1988). "Host range of avian influenza virus in free-living birds." Veterinary research communications **12**(2-3): 125-141.

Sturm-Ramirez, K. M., T. Ellis, B. Bousfield, L. Bissett, K. Dyrting, J. E. Rehg, L. Poon, Y. Guan, M. Peiris and R. G. Webster (2004). "Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks." J Virol **78**(9): 4892-901.

Sturm-Ramirez, K. M., D. J. Hulse-Post, E. A. Govorkova, J. Humberd, P. Seiler, P. Puthavathana, C. Buranathai, T. D. Nguyen, A. Chaisingh, H. T. Long, P. Naipospos, H. Chen, T. M. Ellis, Y. Guan, J. S. M. Peiris and R. G. Webster (2005). "Are Ducks contributing to the endemicity of highly pathogenic H5N1 influenza virus in Asia." Journal of Virology **79**(17): 11269-11279.

Suarez, D. L., D. A. Senne, J. Banks, I. H. Brown, S. C. Essen, C.-W. Lee, R. J. Manvell, C. Mathieu-Benson, V. Moreno, J. C. Pedersen, B. Panigraphy, H. Rojas, E. Spackman and D. J. Alexander (2004). "Recombination resulting invirulence shift in avian influenza outbreak, Chile." Emerging Infectious diseases **10**(4): 693-699.

Swayne, D. E. and D. L. Suarez (2000). "Highly pathogenic avian influenza." Rev.sci.tech.Off.int.Epi. **19**(2): 463-482.

Wallensten, A., V. J. Munster, J. Elmberg, A. D. M. E. Osterhaus, R. A. M. Fouchier and B. Olsen (2005). "Multiple gene segment reassortment between Eurasian and American lineages of influenza A virus (H6N2) in Guillemot (Uria aalge)." Archives of virology **150**(8): 1685-1692.

Wallensten, A., V. J. Munster, N. Latorre-Margalef, M. Brytting, J. Elmberg, R. A. M. Fouchier, T. Fransson, P. D. Haemig, M. Karlsson, A. Lundkvist, A. D. M. E. Osterhaus, M. Stervander, J. Waldenström and O. Björn (2007). "Surveillance of influenza A virus in migratory waterfowl in northern Europe." Emerging infectious diseases **13**(3): 404-411.

Weber, T. P. and N. I. Stilianakis (2007). "Ecologic immunology of avian influenza (H5N1) in migratory birds." Emerg Infect Dis **13**(8): 1139-43.

Webster, R. G., W. J. Bean, O. T. Gorman, C. T.M. and Y. Kawaoka (1992). "Evolution and ecology of Influenza A virus." Microbiol Revue **56**: 152-179.

Webster, R. G. and E. A. Govorkova (2006). "H5N1 influenza--continuing evolution and spread." The New England journal of medicine **355**(21): 2174-2177.

Webster, R. G., Y. Guan, L. Poon, S. Krauss, R. Webby, E. Govorkovai and M. Peiris (2005). "The spread of the H5N1 bird flu epidemic in Asia in 2004." Archives of virology. Supplementum(19): 117-129.

Webster, R. G., S. Krauss, D. Hulse-Post and K. Sturm-Ramirez (2007). "Evolution of Influenza A viruses in wild birds." J Wildl Dis **43**(3_Supplement): S1-6.

Webster, R. G., M. Yakhno, V. S. Hinshaw, W. J. Bean and K. Copal Murti (1978). "Intestinal influenza: Replication and characterization of influenza viruses in ducks." Virology **84**(2): 268-278.

Widjaja, L., S. L. Krauss, R. J. Webby, T. Xie and R. G. Webster (2004). "Matrix Gene of Influenza A Viruses Isolated from Wild Aquatic Birds: Ecology and Emergence of Influenza A Viruses." Journal of Virology **78**(16): 8771-8779.

Zhang, G. (2007). Surveillance of influenza A virus in environmental ice and water samples, Bowling Green State University**:** 128.

Anderson, R. M. and R. M. May (1979). "Population biology of infectious diseases : Part I." Nature **280**(5721): 361-367.

Anderson, R. M. and R. M. May, Eds. (1991). Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control, Oxford University Press.

Anonym (2007). Influenza Aviaire: l'essentiel des connaissances sur le sujet. Ploufragran, Institut Technique d'Aviculture. **TeMA:** 25-31.

Artois, J. (2008). Oiseaux sauvages observés par les éleveurs avicoles de la Dombe (France, Ain). Rapport M1. Lyon, UCB Lyon 1.
Artois, M., D. J. Bicout, D. Doctrinal, R. Fouchier, D. Gavier-Widen, A. Globig, W. Hagemeijer, T. Mundkur, V. Munster and B. Olsen (2009). "Role of wild birds in Avian Influenza." Rev. Sci. Tech.OIE. **28**(1).
Artois, M., R. J. Manvell, E. Fromont and J. B. Schweyer (2002). "Serosurvey of Newcastle Disease and avian Influenza A virus antibodies in great cormorants from France." Journal of Wildlife Diseases **38**: 169-171.
Blancou, J. (2000). Histoire de la surveillance et du contrôle des maladies animales transmissibles. Paris, Office international de épizootie.
Boon, A. C. M., M. R. Sandbulte, P. Seiler, R. J. Webby, T. Songserm, Y. Guan and R. G. Webster (2007). "Role of Terrestrial Wild Birds in Ecology of Influenza A Virus (H5N1)." Emerg Infect Dis **13**(11): 1720-1724.
Boyce, W. M., C. Sandrock, C. Kreuder-Johnson, T. Kelly and C. Cardona (2009). "Avian influenza viruses in wild birds: A moving target." Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases **32**(4): 275-286.
Brown, J. D., D. E. Stallknecht, J. R. Beck, D. L. Suarez and D. E. Swayne (2006). "Susceptibility of North American ducks and gulls to H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses." Emerg Infect Dis **12**(11): 1663-70.
Brown, J. D., D. E. Stallknecht, S. Valeika and D. E. Swayne (2007). "Susceptibility of wood ducks to H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza virus." J Wildl Dis **43**(4): 660-667.
Capua, I. and D. J. Alexander (2007). "Avian influenza infections in birds; a moving target." Influenza and Other Respiratory Viruses **1**(1): 11-18.
Capua, I. and F. Mutinelli (2001). A color atlas and text on Avian Influenza. Bologna, Papi Editore - Edizioni Tecnico Scientifiche.
Chan, P. K. (2002). "Outbreak of avian influenza A(H5N1) virus infection in Hong Kong in 1997." Clin Infect Dis **34 Suppl 2**(34): S58-64.
Chen, H., G. Deng, Z. Li, G. Tian, Y. Li, P. Jiao, L. Zhang, Z. Liu, R. G. Webster and K. Yu (2004). "The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China." PNAS **101**(28): 10452-10457.
Chen, H., G. J. D. Smith, S. Y. Zhang, K. Qin, J. Wang, K. S. Li, R. G. Webster, J. S. M. Peiris and Y. Guan (2005). "H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl " Nature **436**(7048): 191-192.
Chen, H., G. J. D. Smith, S. Y. Zhang, K. Qin, J. Wang, K. S. Li, R. G. Webster, J. S. M. Peiris and Y. Guan (2005). "H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl." Nature **436**(7048): 191-92.
Chen, H. X., H. G. Shen, X. L. Li, J. Y. Zhou, Y. Q. Hou, J. Q. Guo and J. Q. Hu (2006). "Seroprevalance and identification of influenza A virus infection from migratory wild waterfowl in China (2004-2005)." J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health **53**(4): 166-70.
Del Hoyo, J., A. Elliot and J. Sargatal (1996). Handbook of the birds of the world. Barcelona, Lynx Edicions.
Doctrinal, D., M. Artois, P. Sabatier and D. Bicout (2006). "Modélisation du risque d'exposition de la volaille aux virus Influenza Aviaire d'origine sauvage " Epdémiologie et Santé Animale(50): 71-81.
Donis, R. O., W. J. Bean, Y. Kawaoka and R. G. Webster (1989). "Distinct lineages of influenza virus H4 hemagglutinin genes in different regions of the world." Virology **169**(2): 408-417.
Earn, D. J. D., J. Dushoff and S. A. Levin (2002). "Ecology and evolution of the flu." Trends in Ecology and Evolution **17**(7): 334-340.

Ellis, T. M., R. B. Bousfield, L. A. Bissett, K. C. Dyrting, G. S. M. Luk, S. T. Tsim, K. M. Sturm-Ramirez, R. G. Webster, Y. Guan and J. S. M. Peiris (2004). "Investigation of outbreaks of highly pathogenic H5N1 avian influenza in waterfowl and wild birds in Hong Kong in late 2002." Avian Pathology **33** (5): 492 - 505.
Ferguson, N. M., D. A. T. Cummings, S. Cauchemez, C. Fraser, S. Riley, A. Meeyai, S. Iamsirithaworn and D. S. Burke (2005). "Strategies for containing an emerging influenza pandemic in Southeast Asia." Nature **437**(7056): 209-214.
Ferguson, N. M., D. A. T. Cummings, C. Fraser, J. C. Cajka, P. C. Cooley and D. S. Burke (2006). "Strategies for mitigating an influenza pandemic." Nature **442**(7101): 448-452.
Ferguson, N. M., A. P. Galvani and R. M. Bush (2003). "Ecological and immunological determinants of influenza evolution." Nature **422**(6930): 428-433.
Fleming, G. (1871). Animal plagues : their history, nature and prevention. London, Chapman and Hall.
Fouchier, R. A. M., V. J. Munster, J. Keawcharoen, A. D. M. E. Osterhaus and T. Kuiken (2007). "Virology of avian influenza in relation to wild birds." J Wildl Dis **43**(3_Supplement): S7-14.
Garamszegi, L. Z. and A. P. Møller (2007). "Prevalence of avian influenza and host ecology." Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences **274**(1621): 2003-2012.
Globig, A., E. Starick and O. Werner (2006). "[Influenza virus infections in migrating waterfowl: results of a two year study in Germany]." Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift **119**(3-4): 132-139.
Gog, J. R. and B. T. Grenfell (2002). "Dynamics and selection of many-strain pathogens." PNAS **99**(26): 17209-17214.
Guan, Y., J. S. M. Peiris, A. S. Lipatov, T. M. Ellis, K. C. Dyrting, S. Krauss, L. J. Zhang, R. G. Webster and K. F. Shortridge (2002). "Emergence of multiple genotypes of H5N1 avian influenza viruses in Hong Kong SAR." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **99**(13): 8950-8955.
Guberti, V. and S. H. Newman (2007). "Guidelines on Wild Bird Surveillance for Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 Virus " J. Wildl. Dis. **43**(3): S29-S34.
Guberti, V., M. Scremin, L. Busani, L. Bonfanti and C. Terregino (2007). "A simulation model for low-pathogenicity avian influenza viruses in dabbling ducks in Europe." Avian diseases **51**(1 Suppl): 275-278.
Hannoun, C. (1977). Isolation from birds of influenza viruses with human neuraminidases. International symposium on influenza immunization (II), Genève, Devl. Biol. Standard.
Hannoun, C. and J. M. Devaux (1981). "Circulation enzootique permanente de virus grippaux dans la Baie de Somme." Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.(3): 177-183.
Hars, J., K. Louboutin, V. Le Potier, J. Rousset, J. Y. Fournier, G. Leray, E. Bureau, M. Baune and V. Jestin (2004). Evaluation de l'état sanitaire de l'avifaune sauvage de deux réserves de chasse et faune sauvage vis à vis de deux maladies partagées par les oiseaux sauvages et domestiques : l'Influenza Aviaire (peste aviaire) et la maladie de Newcastle (pseudo-peste aviaire).
Hars, J., S. Ruette, M. Benmergui, C. Fouque, J.-Y. Fournier, A. Legouge, M. Cherbonnel, B. Daniel, C. Dupuy and V. Jestin (2008). "The epidemiology of the highly pathogenic H5N1 avian influenza in mute swan (*Cygnus olor*) and other anatidae in the Dombes region (FRANCE), 2006." J Wildl Dis **44**(4): 811-823.
Haydon, D. T., S. Cleaveland, L. H. Taylor and M. K. Laurenson (2002). "Identifying Reservoirs of Infection: A Conceptual and Practical Challenge." Emerging Infectious Diseases **8**(12): 1468-1473.
Heusinger, C. F. (1853). Recherches de pathologie comparée Cassel chez H. Hotop.

Kaleta, E. F., G. Hergarten and A. Yilmaz (2005). "Avian influenza A viruses in birds --an ecological, ornithological and virological view." Deutsche Tierarztliche Wochenschrift **112** (12): 448-456.
Keawcharoen, J., D. van Riel, G. van Amerongen, T. Bestebroer, W. E. Beyer, R. van Lavieren, A. Osterhaus, R. A. M. Fouchier and T. Kuiken (2008). "Wild Ducks as Long-Distance Vectors of Highly Pathogenic Avian Influenza Virus (H5N1)." Emerg Infect Dis **14**: 600–607.
Kelly, T. R., M. G. Hawkins, C. E. Sandrock and W. M. Boyce (2008). "A Review of Highly Pathogenic Avian Influenza in Birds, With an Emphasis on Asian H5N1 and Recommendations for Prevention and Control." Journal of Avian Medicine and Surgery **22**(1): 1-16.
Krauss, S., D. Walker, S. P. Pryor, L. Niles, L. Chengchong, V. S. Hinshaw and R. G. Webster (2004). "Influenza A viruses of migrating wild aquatic birds in North America." Vector-borne and zoonotic diseases **4**(3): 177-189.
Kuiken, T., G. Rimmelzwaan, D. van Riel, G. van Amerongen, M. Baars, R. Fouchier and A. Osterhaus (2004). "Avian H5N1 influenza in cats." Science (New York, N.Y.) **306**(5694): 241.
Lang, A. S., A. Kelly and J. A. Runstadler (2008). "Prevalence and diversity of avian influenza viruses in environmental reservoirs." J Gen Virol **89**(2): 509-519.
Le Gall-Recule, G., F. X. Briand, A. Schmitz, O. Guionie, P. Massin and V. Jestin (2008). "Double introduction of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus into France in early 2006." Avian Pathology **37**(1): 15-23.
Lebreton, P., A. Bernard and M. Dupuet, Eds. (1991). Guide du Naturaliste en Dombes. Neuchâtel, Paris.
Li, K. S., Y. Guan, J. Wang, G. J. D. Smith, K. M. Xu, L. Duan, A. P. Rahardjo, P. Puthavathana, C. Buranathai, T. D. Nguyen, A. T. S. Estoepangestie, A. Chaisingh, P. Auewarakul, H. T. Long, N. T. H. Hanh, R. J. Webby, L. L. M. Poon, H. Chen, K. F. Shortridge, K. Y. Yuen, R. G. Webster and J. S. M. Peiris (2004). "Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia." Nature **430**(6996): 209-213.
Liu, Y., J. Zhou, H. Yang, W. Yao, W. Bu, B. Yang, W. Song, Y. Meng, J. Lin, C. Han, J. Zhu, Z. Ma, J. Zhao and X. Wang (2007). "Susceptibility and transmissibility of pigeons to Asian lineage highly pathogenic avian influenza virus subtype H5N1." Avian Pathology **36**: 461-465.
Longini, I. M., A. Nizam, S. Xu, K. Ungchusak, W. Hanshaoworakul, D. A. T. Cummings and M. E. Halloran (2005). "Containing pandemic influenza at the source." Science (New York, N.Y.) **309**(5737): 1083-1087.
Lowen, A. C., S. Mubareka, J. Steel and P. Palese (2007). "Influenza Virus Transmission Is Dependent on Relative Humidity and Temperature." PLoS Pathogens **3**(10): e151.
Marquetoux, N. (2008). Analyse de risque quantitative de transmission de virus Influenza de l'avifaune sauvage à la volaille domestique élevée en parcours plein air en Dombes. Rapport M1. Lyon, UCB Lyon 1**:** 7.
Martin, V., S. von Dobschuetz, A. Lemenach, N. Rass, W. Schoustra and L. DeSimone (2007). "Early warning, database, and information systems for Avian Influenza surveillance." J Wildl Dis **43**(3_Supplement): S71-76.
Mase, M., K. Tsukamoto, T. Imada, K. Imai, N. Tanimura, K. Nakamura, Y. Yamamoto, T. Hitomi, T. Kira, T. Nakai, M. Kiso, T. Horimoto, Y. Kawaoka and S. Yamaguchi (2005). "Characterization of H5N1 influenza A viruses isolated during the 2003-2004 influenza outbreaks in Japan." Virology **332**(1): 167-176.

Munster, V. J., C. Baas, P. Lexmond, J. Waldenstrom, A. Wallensten, T. Fransson, G. F. Rimmelzwaan, W. E. P. Beyer, M. Schutten, B. Olsen, A. D. M. E. Osterhaus and R. A. M. Fouchier (2007). "Spatial, Temporal, and Species Variation in Prevalence of Influenza A Viruses in Wild Migratory Birds." PLoS Pathogens **3**(5): e61.
Munster, V. J., A. Wallensten, C. Baas, G. F. Rimmelzwaan, M. Schutten, B. Olsen, A. Osterhaus and R. Fouchier (2005). "Mallards and Highly Pathogenic Avian Influenza Ancestral Viruses, Northern Europe." Emerging Infectious Diseases **11**(10): 1545-1551.
Olsen, B., V. J. Munster, A. Wallensten, J. Waldenström, A. Osterhaus and R. Fouchier (2006). "Global Patterns of Influenza A virus in wild birds." Science **312**: 384-388.
Osterhaus, A. and J. Munster (2008). Epidemiology of Avian Influenza Avian Influenza. H.D. Karger. **27:** 1-10.
René, M. and D. J. Bicout (2007). "Influenza Aviaire: modélisation du risque d'infection des oiseaux à partir d'étangs contaminés." Epidémiol. et santé anim. **51**: 95-109.
Schäfer, J. R., Y. Kawaoka, W. J. Bean, J. Süss, D. Senne and R. G. Webster (1993). "Origin of the pandemic 1957 H2 influenza A virus and the persistence of its possible progenitors in the avian reservoir." Virology **194**(2): 781-788.
Sharkey, K. J., R. G. Bowers, K. L. Morgan, S. E. Robinson and R. M. Christley (2008). "Epidemiological consequences of an incursion of highly pathogenic H5N1 avian influenza into the British poultry flock." Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences **275**(1630): 19-28.
Simon, A., D. Doctrinal and D. Bicout (2006). "Risque de contact entre oiseaux sauvavges et domestiques dans la région de la Dombes,France." Epidémiologie et Santé Animale(50): 27-39.
Sims, L. D., J. Domenech, C. Benigno, S. Kahn, A. Kamata, J. Lubroth, V. Martin and P. Roeder (2005). "Origin and evolution of highly pathogenic H5N1 avian influenza in Asia." The Veterinary Record **157**(6): 159-159.
Situngkir, H. (2004). Epidemiology Through Cellular Automata: Case of Study Avian Influenza in Indonesia.
Stallknecht, D. E. and J. D. Brown (2007). "Wild birds and the epidemiology of Avian Influenza." J Wildl Dis **43**(3_Supplement): S15-20.
Stallknecht, D. E., M. T. Kearney, S. M. Shane and P. J. Zwank (1990). "Effects of pH, temperature, and salinity on persistence of avian influenza viruses in water." Avian Dis **34**(2): 412-8.
Stallknecht, D. E. and S. M. Shane (1988). "Host range of avian influenza virus in free-living birds." Veterinary research communications **12**(2-3): 125-141.
Sturm-Ramirez, K. M., T. Ellis, B. Bousfield, L. Bissett, K. Dyrting, J. E. Rehg, L. Poon, Y. Guan, M. Peiris and R. G. Webster (2004). "Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks." J Virol **78**(9): 4892-901.
Sturm-Ramirez, K. M., D. J. Hulse-Post, E. A. Govorkova, J. Humberd, P. Seiler, P. Puthavathana, C. Buranathai, T. D. Nguyen, A. Chaisingh, H. T. Long, P. Naipospos, H. Chen, T. M. Ellis, Y. Guan, J. S. M. Peiris and R. G. Webster (2005). "Are Ducks contributing to the endemicity of highly pathogenic H5N1 influenza virus in Asia." Journal of Virology **79**(17): 11269-11279.
Suarez, D. L., D. A. Senne, J. Banks, I. H. Brown, S. C. Essen, C.-W. Lee, R. J. Manvell, C. Mathieu-Benson, V. Moreno, J. C. Pedersen, B. Panigraphy, H. Rojas, E. Spackman and D. J. Alexander (2004). "Recombination resulting invirulence shift in avian influenza outbreak, Chile." Emerging Infectious diseases **10**(4): 693-699.
Swayne, D. E. and D. L. Suarez (2000). "Highly pathogenic avian influenza." Rev.sci.tech.Off.int.Epi. **19**(2): 463-482.

Wallensten, A., V. J. Munster, J. Elmberg, A. D. M. E. Osterhaus, R. A. M. Fouchier and B. Olsen (2005). "Multiple gene segment reassortment between Eurasian and American lineages of influenza A virus (H6N2) in Guillemot (Uria aalge)." Archives of virology **150**(8): 1685-1692.
Wallensten, A., V. J. Munster, N. Latorre-Margalef, M. Brytting, J. Elmberg, R. A. M. Fouchier, T. Fransson, P. D. Haemig, M. Karlsson, A. Lundkvist, A. D. M. E. Osterhaus, M. Stervander, J. Waldenström and O. Björn (2007). "Surveillance of influenza A virus in migratory waterfowl in northern Europe." Emerging infectious diseases **13**(3): 404-411.
Weber, T. P. and N. I. Stilianakis (2007). "Ecologic immunology of avian influenza (H5N1) in migratory birds." Emerg Infect Dis **13**(8): 1139-43.
Webster, R. G., W. J. Bean, O. T. Gorman, C. T.M. and Y. Kawaoka (1992). "Evolution and ecology of Influenza A virus." Microbiol Revue **56**: 152-179.
Webster, R. G. and E. A. Govorkova (2006). "H5N1 influenza--continuing evolution and spread." The New England journal of medicine **355**(21): 2174-2177.
Webster, R. G., Y. Guan, L. Poon, S. Krauss, R. Webby, E. Govorkovai and M. Peiris (2005). "The spread of the H5N1 bird flu epidemic in Asia in 2004." Archives of virology. Supplementum(19): 117-129.
Webster, R. G., S. Krauss, D. Hulse-Post and K. Sturm-Ramirez (2007). "Evolution of Influenza A viruses in wild birds." J Wildl Dis **43**(3_Supplement): S1-6.
Webster, R. G., M. Yakhno, V. S. Hinshaw, W. J. Bean and K. Copal Murti (1978). "Intestinal influenza: Replication and characterization of influenza viruses in ducks." Virology **84**(2): 268-278.
Widjaja, L., S. L. Krauss, R. J. Webby, T. Xie and R. G. Webster (2004). "Matrix Gene of Influenza A Viruses Isolated from Wild Aquatic Birds: Ecology and Emergence of Influenza A Viruses." Journal of Virology **78**(16): 8771-8779.
Zhang, G. (2007). Surveillance of influenza A virus in environmental ice and water samples, Bowling Green State University**:** 128.

Résumé de la thèse:

L'épizootie asiatique d'Influenza Aviaire a mis en évidence le danger majeur que constitue la proximité entre différentes populations sensibles. Des études ont montré que le risque de transmission de la grippe aviaire était accru dans des situations comme celle des marchés de volailles vivantes où se côtoient poulets, dindes et canards d'élevage.
L'hypothèse principale est que ces individus se contaminent dans l'élevage par contact (direct ou indirect) avec un individu sauvage (le mode d'élevage dans ces pays étant le plus souvent en semi-liberté, les contacts sont plus fréquents.
La région Rhône Alpes, et plus particulièrement l'Ain, possède un fort potentiel en matière de production avicole. La filière « Label Rouge » et la filière « AOC Poulet de Bresse » ont su développer une production de qualité en employant des techniques d'élevage dites « semi-libre » voire « libre » ou « plein air ».
Ces techniques d'élevage peuvent favoriser le contact entre l'avifaune domestique et l'avifaune sauvage d'autant plus que la région possède un patrimoine ornithologique avec la présence de la zone humide des Dombes. Cette aire géographique se trouve être le lieu d'hivernage de nombreux oiseaux notamment plusieurs espèces d'Anatidés (Canards).
L'analyse de risque proposée doit permettre d'estimer de façon quantitative et qualitative le risque de survenue d'épizooties dans l'avifaune domestique résultant de la proximité des populations aviaires sauvages, sédentaires et migratrices, en Dombes.
Ce projet répond à la nécessité d'établir des méthodes et outils permettant la prévision des risques sanitaires encourus par les populations aviaires voire humaines, face à des agents pathogènes émergents comme celui de la grippe aviaire. Il vise aussi à étudier l'influence des facteurs de risques liés aux habitats (zone humide de la basse vallée de l'Ain, Dombes notamment) à la gestion de ceux-ci (évolution des techniques d'agriculture, d'élevage et implications sur le milieu naturel) ainsi que l'influence des changements globaux, en particulier des changements climatiques.
S'inscrivant dans une démarche prévisionnelle, le projet met en œuvre des techniques de modélisation afin de déterminer des probabilités de transmission de virus en étudiant le comportement des différentes populations intervenant dans le cycle épidémiologique d'Influenza Aviaire:

- Les populations sauvages réservoirs
- Les populations domestiques
- Les populations humaines

Cette étude se fait à la fois dans :

- L'espace (établissement de cartes de risque et intégration des données et résultats de l'analyse spatiale dans un Système d'Informations Géographiques)
- Le temps (construction d'un modèle théorique de propagation des virus au sein des populations concernées)

A cause de la structure spatiale en plusieurs sites, nous considérerons la diffusion des virus à des échelles allant d'une population type (au sein d'un élevage ou au sein d'un étang) à l'ensemble de la zone d'étude.
Il s'agit donc de répondre à la question suivante : Suite à un contact infectieux quel est le risque de propagation d'Influenza Aviaire dans la région ?
Il nous faut donc :
- caractériser le risque de propagation d'Influenza Aviaire au sein d'une population ainsi que les déterminants environnementaux associés à celle-ci
- quantifier le risque de propagation au sein des populations
- quantifier le risque de propagation au sein de la zone d'étude quand toutes les populations sont en contact et susceptibles d'être infectées ou infectieuses
- évaluer les possibilités d'évolution de la maladie au sein du système épidémiologique décrit précédemment

Mots clés:

Influenza aviaire, modélisation, analyse de risque, épidémiologie