

Epidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse en Afrique Subsaharienne : cas du Tchad

Arada Izzedine Abdel Aziz

▶ **To cite this version:**

Arada Izzedine Abdel Aziz. Epidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse en Afrique Subsaharienne : cas du Tchad. Médecine vétérinaire et santé animale. Institut agronomique, vétérinaire et forestier de France, 2018. Français. NNT : 2018IAVF0029 . tel-02640969

HAL Id: tel-02640969

https://pastel.hal.science/tel-02640969

Submitted on 28 May 2020

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.

NNT° : 2018IAVF0029

THESE DE DOCTORAT

préparée à l'Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (AgroParisTech)

pour obtenir le grade de

Docteur de l'Institut agronomique vétérinaire et forestier de France

Spécialité : Sciences animales

École doctorale n°581
Agriculture, alimentation, biologie, environnement et santé (ABIES)

par

Arada Izzedine ABDEL-AZIZ

Titre

Epidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse en Afrique Subsaharienne : cas du Tchad

Directeur de thèse : **Labib BAKKALI-KASSIMI**
Co-encadrement de la thèse : **Renaud LANCELOT**

Thèse présentée et soutenue à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, le 17 décembre 2018

Composition du jury :

M. Henri-Jean BOULOUIS, Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France	Président
M. Claude SAEGERMAN, Professeur, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Belgique	Rapporteur
M. Stéphane BERTAGNOLI, Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, France	Rapporteur
M. Labib BAKKALI-KASSIMI, Ingénieur de Recherche, ANSES, France	Directeur de thèse
Mme. Nadia HADDAD, Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France	Examinatrice
Mme. Cécile BECK, Docteur, ANSES, France	Examinatrice
M. Renaud LANCELOT, Inspecteur général de la santé publique vétérinaire, CIRAD, France	Co-encadrant
M. Stéphan ZIENTARA, Inspecteur général de la santé publique vétérinaire, ANSES, France	Examinateur

UMR1161 Virologie
Laboratoire de Santé Animale, ANSES,
94700, Maisons-Alfort, France

TABLE DES MATIERES

Dedicaces iv

Remerciements v

Liste des figures vi

Liste des tableaux vii

Liste des abréviations viii

Travaux issus de la thèse xi

Introduction générale 1

PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES 4

Chapitre 1. Généralités sur la fièvre aphteuse (FA) 5

1.1. Historique 5

1.2. Répartition géographique et importance économique 7

1.2.1. Répartition géographique 7

1.2.2. Importance économique 9

1.3. Etiologie de la maladie 9

1.3.1. Taxonomie 9

1.3.2. Structure de la capside et organisation du génome viral 10

1.3.3. Propriétés biologiques du virus 14

1.3.4. Propriétés physicochimiques 17

1.4. Signes cliniques 19

1.5. Pathogénie 21

1.6. Épidémiologie de la fièvre aphteuse 23

1.6.1. Espèces sensibles 23

1.6.2. Mode de transmission 24

1.6.3. Rôle des animaux porteurs 26

1.6.4. Rôle de la faune sauvage dans la transmission de la fièvre aphteuse 27

1.7. Diagnostic 28

1.7.1. Diagnostic clinique 28
1.7.2. Diagnostic de laboratoire 29
1.8. Épidémiologie moléculaire 35
1.9. Lutte contre la fièvre aphteuse 36
1.9.1. Prophylaxie sanitaire 39
1.9.2. Vaccination 40
Chapitre 2. Situation de la fièvre aphteuse au Tchad 42
2.1. Caractéristiques générales du Tchad 42
2.1.1. Situation géographique 42
2.1.2. Zones bioclimatiques 44
2.1.3. Elevage 47
2.2. Fièvre aphteuse (FA) au Tchad 51
2.2.1. Caractéristiques cliniques de la FA 51
2.2.2. Types de virus et évolution de la maladie 51
2.2.3. Facteurs de diffusion 53
2.2.4. Importance économique 54
2.2.5. Surveillance et lutte contre la fièvre aphteuse 55
DEUXIEME PARTIE : CONTRIBUTION PERSONNELLE 58
Chapitre 3 : Objectifs du travail de la thèse 59
3.1. Objectif général 59
3.2. Objectifs spécifiques 59
Chapitre 4 : Séroprévalence et caractérisation moléculaire du FMDV au Tchad 61
Abstract: 62
Introduction 63
Matreial and Methods 63
Results and Discussion 66
Conclusion 69

Bibliography 69
Chapitre 5 : Cartographie des risques basée sur l'occurrence de la fièvre aphteuse au Tchad 78
Abstract 79
Introduction 80
Material and methods 81
Results 85
Discussion 86
Conclusion 87
References 88
Chapitre 6 : Discussion générale, conclusion et perspectives 98
6.1. Discussion générale 98
6.1.1 Cartographie des risques basée sur l'occurrence de la fièvre aphteuse au Tchad 99
6.1.2 Séroprévalence et caractérisation moléculaire du virus la fièvre aphteuse 101
6.2. Conclusion et perspectives 104
Références bibliographiques 107

Dedicaces

Je dédie ce travail à :

DIEU le Tout Puissant, sans lui, rien ne serait possible !

La mémoire de ma mère, que Dieu puisse lui accorder son paradis éternel,

Mon père, qui n'a jamais cessé de croire en moi,

Ma tendre épouse, mes chers enfants, mes frères, sœurs, cousines, cousins, nièces et neveux qui ont toujours fait ma joie,

Mes amis, qui sont toujours là quand j'ai besoin d'eux, plus particulièrement : Dr Mahamat Ali Mahamat Amine, Dr Mahamat Abdérahim Toko, Mahamat Ahmat Mahamat Amine, Dr Mihimit Abdoulaye, Abdelrahim Abakabir Mahamat, Dr Adoum Abdraman Abgassi, Aziz Fawzi Sabit et Dr Ahamat Aboulmali. Que Dieu vous comble de sa bénédiction !

Et à tous ceux qui ont contribué pour que ce travail soit achevé.

Remerciements

Ce travail n'aurait pas pu voir le jour sans l'appui financier des institutions (CIRAD et ANSES), l'engagement et l'encouragement des personnes qui ont mis leur confiance en moi pour réaliser ces travaux de thèse. Qu'ils trouvent ici mes sincères remerciements et profonde gratitude.

Je tiens à remercier de façon particulière :

Mon Directeur de thèse Dr Labib BAKKALI-KASSIMI, Responsable de l'équipe « Biologie des Picornavirus (BioPic) » à l'ANSES et mon co-Directeur de thèse Dr Renaud LANCELOT, Directeur adjoint de l'UMR ASTRE-CIRAD, pour la confiance que vous m'avez accordée, pour votre disponibilité, pour vos conseils et surtout pour avoir dirigé ce travail de thèse avec une rigueur scientifique malgré vos multiples occupations. Je vous exprime toute ma reconnaissance et sincères remerciements. Que Dieu vous prête une longue vie et une bonne santé.

Dr Thierry LEFRANCOIS et Dr Stephan ZIENTARA respectivement Directeur de l'UMR ASTRE-CIRAD et l'UMR 1161 Virologie-ANSES pour avoir accepté de m'accueillir dans vos unités respectives, ainsi que pour votre disponibilité et votre constante préoccupation du bien-être des étudiants. Trouvez ici toute ma sincère gratitude et profonde reconnaissance.

Dr Sandra BLAISE-BOISSEAU, Dr Raphaëlle METRAS, Dr Facundo MUNOZ et Dr Elena ARSEVSKA pour votre disponibilité et votre aide très précieuse pendant toutes les différentes étapes de la réalisation de ce travail de thèse. J'ai beaucoup appris auprès de vous. Merci infiniment pour tout.

Dr Cécile SQUARZONI-DIAW et Caroline COSTE, pour la formation pratique sur les méthodes de l'analyse qualitative de risque et de la cartographie des risques, ainsi que pour vos encouragements. Merci beaucoup

Aurore ROMEY, Anthony RELMY et Kamila GORNA, techniciens de l'équipe « Biologie des Picornavirus », pour m'avoir aidé à traiter mes échantillons et surtout pour m'avoir aidé à comprendre les techniques de diagnostic virologique et moléculaire de la fièvre aphteuse. Vous étiez toujours disponible pour répondre à mes préoccupations en matière de diagnostic de laboratoire. Je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance.

Sylvie LAURENS coordinatrice des projets à l'UMR ASTRE-CIRAD pour m'avoir toujours aidé dans les démarches administratives auprès de l'école doctorale ABIES. Un grand merci pour tout.

Le personnel de l'IRED (chercheurs et techniciens) pour m'avoir aidé à collecter les échantillons sur le terrain au Tchad. Trouvez ici mes sincères remerciements.

La Famille SILVIE, Pierre et Suzanne pour votre affection et votre aide durant notre séjour à Montpellier. Merci beaucoup pour tout.

Ma chère épouse Sonia pour la patience, la confiance et l'amour que tu nous donnes chaque jour moi et nos enfants. Tu es une femme au grand cœur, formidable et unique, donc si préciseuse pour moi. Merci infiniment.

A tous ceux qui n'ont pas été cités ici mais que je les porte toujours dans mon cœur.

Liste des figures

Figure 1 : Répartition mondiale des sérotypes du virus de la fièvre aphteuse 7

Figure 2 : Structure de la capside icosaédrique du virus 10

Figure 3 : Structure du génome du virus de la fièvre aphteuse 11

Figure 4 : Organisation génétique et expression des protéines virales 14

Figure 5 : Méthodes de diagnostic virologique et moléculaire 32

Figure 6 : Programme de contrôle progressif pour la fièvre aphteuse 38

Figure 7 : Carte administrative du Tchad 43

Figure 8 : Carte bioclimatique du Tchad 46

Figure 9 : Schéma de fonctionnement du REPIMAT 56

Figure 10 : Chad Departments within the region of PREPAS project (black rectangle) 75

Figure 11 : Predicted (grey) and observed (black) seroprevalence rates by group with 95%CI ... 76

Figure 12 : Phylogenetic tree of the FMD SAT 2 virus sampled in Chad 77

Figure 13 : Mapping the risk of introduction of FMD virus from neighbouring countries into Chad 95

Figure 14 : Mapping the risk of introduction of FMD virus into Chad 96

Figure 15 : Mapping the risk of exposure in Chad 97

Liste des tableaux

Tableau I : Seroprevalence of FMD virus serotypes (ELISA PrioCHECK® types O and A and ELISA SPCE) in young animals by geographical area 74

Tableau II : Data collected and identified factors of risk in Chad 93

Tableau III : Estimated risk of virus introduction from neighbouring countries of Chad 94

Liste des abréviations

% : pourcent

°C : Degré Celsius

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ARN : Acide rubonucléique

BHK : Baby hamster kidney

BRAV : virus de la rhinite bovine A

BRBV : virus de la rhinite bovine B

CEMAC : Communauté Economique et Monétaire de l'Afrique Centrale

CFA : Communauté Financière Africaine

CIRAD : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement

Da : Dalton

DSV : Direction des services vétérinaires

ECP : effet cytopathique

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

ERAV : virus de la rhinite équine A

EDTA : Éthylènediaminetétraacétique

FAO : Food and Agriculture Organization

FMD : Foot-and-Mouth Disease

FMDV : Foot-and-Mouth Disease virus

g : gramme

ICTV : International Committee on Taxonomy of Viruses

IEMVT : Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux

Ig : Immunoglobuline

IM : intramusculaire

INSEED : Institut national de la statistique, des études économiques et démographiques

IRED : Institut de Recherche en Elevage pour le Développement

IRES : Internal Ribosome Entry Site

Kb : kilobases

Km² : kilomètre carré

LPBE : Liquid-phase blocking ELISA

M.E : Ministère de l'Elevage

ml : millitre

mm : millimètre

nm : nanomètre

NSP : protéines non structurales

NSP-ELISA : Non-Structural Protein-Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

nt : nucléotides

NTR : Non Translated Region

OIE : Organisation mondiale de la santé animale

PCP-FMD : Progressive Control Pathway- Foot and mouth disease

PCR : polymerase chain reaction

PIB : produit intérieur brut

Poly C : polyribocytidylate C

RCA : République centrafricaine

REPIMAT : Réseau d'Epidémiosurveillance des Maladies Animales au Tchad

RT-PCR : Reverse transcription-polymerase chain reaction

SAT : Southern African Territories

SPCE : Solid-phase competition ELISA

US : United States

VNT : Viral Neutralisation Test

VP : Viral Protein

VPg : viral genome linked protein

WRLFMD : World Reference Laboratory for FMD

Travaux issus de la thèse

Articles entrant dans le cadre de la thèse avec comité de lecture :

- A.I. Abdel-Aziz, A. Romey, A. Relmy, K. Gorna, E. Laloy, R. Métras, F. Munoz, S. Blaise-Boisseau, S. Zientara, R. Lancelot and L. Bakkali Kassimi, 2018. Seroprevalence and molecular characterization of Foot-and-Mouth-Disease virus in Chad. *Veterinary Medicine and Science*. En cours de révision.

- A.I. Abdel-aziz, C. Coste, C. Squarzoni-Diaw, E. Arsevska, R. Métras, F. Munoz , L. Bakkali-Kassimi and R. Lancelot, 2018. Risk mapping based on the occurrence of Foot-and-Mouth-Disease in Chad. *Revue scientifique et technique de l'OIE*. En cours de révision.

- A.I. Abdel-Aziz, A. Romey, A. Relmy, K. Gorna, E. Laloy, R. Métras, F. Munoz, S. Blaise-Boisseau, S. Zientara, R. Lancelot et L. Bakkali Kassimi, 2018. Epidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse au Tchad. *Revue Epidémiologie et santé animale de l'AEEMA*. En cours de révision.

Communication orale et poster présentés lors des conférences internationales :

- A.I. Abdel-Aziz, A. Romey, A. Relmy, K. Gorna, E. Laloy, R. Métras, F. Munoz, S. Blaise-Boisseau, S. Zientara, R. Lancelot and L. Bakkali Kassimi. Molecular epidemiology of foot and mouth disease virus in Chad. EPIZONE – 11th Annual Meeting, 19-21 September 2017 - ANSES, Paris, France.

- A.I. Abdel-Aziz, A. Romey, A. Relmy, K. Gorna, E. Laloy, R. Métras, F. Munoz, S. Blaise-Boisseau, S. Zientara, R. Lancelot and L. Bakkali Kassimi. Epidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse au Tchad. JSDA-Journées Scientifiques et Doctorales à l'Anses. 25-26 octobre 2017 - ANSES, Paris, France.

Introduction générale

La fièvre aphteuse (FA) est une maladie virale très contagieuse du bétail qui cause d'énormes pertes économiques (James et Rushton 2002; Thompson et al. 2002). Elle est due à un *Aphtovirus* appartenant à la famille *Picornaviridae*. Sept sérotypes ont été identifiés dans le monde. La FA affecte les mammifères artiodactyles domestiques et sauvages. C'est une maladie animale à fort impact en santé vétérinaire et en bien-être animal, en raison d'une morbidité proche de 100 %, d'une diminution importante de la production animale et d'une mortalité des jeunes animaux (Grubman et Baxt 2004). Cette maladie est listée dans le Code sanitaire des animaux terrestres de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) et doit être obligatoirement déclarée à l'OIE. En outre, elle est la première infection animale pour laquelle l'OIE a établi une liste officielle de pays et de zones indemnes avec ou sans vaccination (Souley Kouato 2017; Bachir et al. 2018).

La FA a une répartition mondiale. Elle est enzootique en Asie, au Moyen-Orient et en Afrique (OIE 2015). En effet, elle est enzootique dans la majorité des pays d'Afrique Subsaharienne, sauf dans quelques pays d'Afrique australe, où la maladie est contrôlée par la séparation des animaux sauvages infectés des animaux domestiques sensibles ainsi que par une vaccination (OIE 2015). La fièvre aphteuse est une maladie ancienne, elle a été signalée depuis très longtemps en Afrique, c'est le cas du Soudan (1903) qui est un pays voisin du Tchad (Eisa et Rweyemamu 1977). En raison de la porosité des frontières et des mouvements incontrôlés d'animaux entre le Tchad et le Soudan, l'existence de la fièvre aphteuse au Tchad ne peut être exclue pendant cette période. Les sérotypes du virus de la FA qui circulent actuellement dans les pays de l'Afrique Subsaharienne en général et le Tchad en particulier sont : O, A, SAT1 et SAT2 (Ouagal et al. 2017).

La fièvre aphteuse ne causant pas un taux élevé de mortalité chez les animaux adultes, les foyers de la maladie n'ont pas été considérés comme importants. Par conséquent, ils ont été moins étudiés pour déterminer les sérotypes responsables. Toutefois, un certain nombre de pays du continent africain dont le Tchad se rendent compte aujourd'hui que la FA est l'une des maladies transfrontalières qu'il convient de contrôler pour assurer la stabilité économique et l'accès à des marchés internationaux lucratifs d'exportation pour les animaux et les produits d'origine animale (Kouato et al. 2018). En effet, le Tchad est l'un des plus grands exportateurs du bétail dans la sous-région de l'Afrique centrale et de l'Ouest. Il exporte vers le Nigeria, la République centrafricaine, le Soudan, et la Libye (Mian Oudanang et Duteurtre 2002). De

plus, l'évolution vers la lutte mondiale contre la fièvre aphteuse a été considérée comme une priorité par les donateurs internationaux (Souley Kouato 2017). Par conséquent, les interventions doivent s'inscrire dans le cadre de programmes développés par des organisations intercontinentales, telles que l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'OIE, à travers le plan mondial FAO/OIE pour le contrôle progressif de la fièvre aphteuse et d'autres maladies animales transfrontalières (Forman et al. 2009; Bachir et al. 2018). Ces interventions devraient se concentrer spécifiquement sur un travail approfondi, y compris la surveillance épidémiologique, la communication, le suivi et évaluation, le renforcement continu des services vétérinaires et les activités de recherche.

Il est donc essentiel de comprendre l'épidémiologie moléculaire de la maladie pour mettre en œuvre des programmes de lutte efficaces pour éradiquer la maladie. En effet, l'un des aspects les plus importants dans la lutte contre la fièvre aphteuse est la caractérisation moléculaire du virus, où l'étude phylogénétique des isolats de terrain peut être effectuée en utilisant des virus de référence et des virus historiques pour étudier les origines possibles de la maladie et pour choisir le vaccin approprié (Knowles et Samuel 2003; Sahle et al. 2007).

Contrairement à l'Afrique australe, peu de choses sur la situation de la fièvre aphteuse en Afrique centrale et de l'Ouest sont connues. Bien qu'il y ait quelques études sur la fièvre aphteuse menées dans cette partie du continent (Bertram et al. 2018; Ehizibolo et al. 2014; Fasina et al. 2013; Sangare et al. 2004; Kouato, Thys, et al. 2018; Ularamu et al. 2016; Bachir et al. 2018). Au Tchad, malgré l'endémicité de la fièvre aphteuse, peu des études ont été réalisées pour déterminer la séroprévalence de la maladie et les sérotypes en circulation dans l'ensemble du territoire (Ouagal et al. 2010; Ouagal et al. 2017; Ouagal et al. 2018). De plus, jusqu'au moment de la présente thèse, il n'existe aucune publication sur la caractérisation moléculaire du virus de la fièvre aphteuse au Tchad. Par conséquent, il n'existe actuellement aucune possibilité de prévenir et de contrôler efficacement la maladie par la vaccination. D'où l'intérêt de notre projet de thèse qui va permettre au Tchad d'avoir des données fiables sur l'épidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse pour bien lutter contre cette maladie.

Cette thèse comprend deux parties : une première partie dans laquelle les données bibliographiques relatives aux caractéristiques épidémiologiques et l'impact économique de la fièvre aphteuse sont tout d'abord rappelés. Ensuite, les caractéristiques générales du Tchad ainsi que les systèmes de productions animales et les mouvements des animaux sont aussi

présentés. Le système de surveillance et la lutte contre la fièvre aphteuse au Tchad concluent cette partie. Une deuxième partie qui concerne notre contribution personnelle sur la compréhension de l'épidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse au Tchad. Dans cette 2ème partie, les objectifs de la thèse sont présentés, puis les résultats des études réalisées dans le cadre de cette thèse telles que la cartographie des risques en lien avec la mobilité animale, la séroprévalence et la caractérisation moléculaire du virus de la fièvre aphteuse sont exposés. Une discussion générale, conclusion et perspectives terminent cette 2ème partie.

PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

Chapitre 1. Généralités sur la fièvre aphteuse (FA)

1.1. Historique

Les écrits les plus anciens, décrivant fort probablement la fièvre aphteuse (FA) ont été proposés par Hieronymus Fracastorius en 1546 à Venise (Italie). En effet, cet auteur a décrit cette maladie comme étant hautement contagieuse et ne touchant que le bétail. Les animaux atteints avaient des aphtes dans la cavité buccale et sur les pieds (Fracastorius 1546 cité par Tekleghiorghis 2014). En 1897, Loeffler et Frosch ont mis en évidence le virus responsable de la fièvre aphteuse (Loeflller et Frosch 1898). Pendant de nombreuses années après sa découverte, la recherche sur le virus de la fièvre aphteuse (FMDV) a été limitée par l'absence d'un modèle animal expérimental approprié pour étudier la maladie. Par la suite, en 1920 un modèle animal expérimental pour l'étude de la fièvre aphteuse a été établi par Waldmann et Pape en utilisant le cobaye (Waldmann et Pape 1920). En 1922, un nouveau progrès a été réalisé lorsque Vallée et Carré ont démontré qu'il existait différents types antigéniques du virus de la fièvre aphteuse (sérotypes) suggérant la possibilité que le même animal soit infecté successivement (Vallée et Carré 1922). Ils ont ainsi découvert 2 sérotypes nommés en fonction de leur origine, O (pour Oise, un département du Nord de la France) et A (pour Allemagne). Quatre ans plus tard, en 1926, Waldmann et Trautwein ont découvert en Allemagne un troisième type antigénique qu'ils ont appelé C (Waldmann et Trautwein 1926). Ainsi, les trois premiers sérotypes sont devenus connus, nommés par accord international, Vallée O, Vallée A et Waldmann C et plus tard simplement O, A et C.

Deux nouveaux sérotypes ont été identifiés en 1948 dans des échantillons prélevés au Bechuanaland (Botswana) et en Rhodésie du Nord (Zambie). Des tests rétrospectifs sur des échantillons de Rhodésie du Sud (Zimbabwe) des années 1930 ont permis de détecter ces deux nouveaux sérotypes ainsi qu'un troisième nouveau sérotype. Ces nouveaux sérotypes ont été nommés SAT (Southern African Territories) 1 à 3 (abrégés en SAT 1, SAT 2 et SAT 3)) (Brooksby 1958).

Le septième sérotype, désigné Asia1, a été identifié pour la première fois au début des années 1950, lorsque des virus ont été isolés en Inde en 1951 et 1952 (Dhanda, Gopalakrishnan, et Dhillon 1957) et au Pakistan en 1954 (Brooksby et Rogers 1957).

Par conséquent, actuellement 7 sérotypes ont été décrits, immunologiquement distincts du virus de la fièvre aphteuse, puisqu'il n'y a pas de protection croisée entre ces sérotypes (Brooksby 1982). De plus, pour chaque sérotype, il existe plusieurs sous-types génétiques et antigéniques avec différents degrés de virulence (Fontaine, Mackowiak, et Roumiantzeff 1968; Kitching et al. 1989; Pereira 1976; Rweyemamu 1984; Toma 2003; Vallée et Carré 1922).

Le développement de techniques permettant la croissance du virus in vitro a été crucial pour la production à grande échelle de vaccins et pour le dosage précis de l'infectiosité du virus (titre viral). De 1926 à 1936, ce sont les travaux de Vallée, Carré et Rinjard (action du formol sur le virus provenant de l'épithélium lingual de bovin infecté) (Vallée, Carré, et Rinjard 1926), puis ceux de Schmidt (adsorbabilité du virus de la fièvre aphteuse sur hydroxyde d'aluminium) (Schmidt 1936) et ceux de Waldmann et Köbe, qui ont permis d'obtenir le premier vaccin contre la fièvre aphteuse : un virus formolé, adsorbé sur hydroxyde d'aluminium et chauffé (Waldman et Köbe 1938). Depuis que Maitland et Maitland (1931) et Hecke (1930, 1931) ont signalé le succès de la culture du virus de la fièvre aphteuse dans des tissus embryonnaires de cobayes, un certain nombre de méthodes *in vitro* de propagation du virus ont été étudiées en vue de remplacer l'animal vivant comme source du virus dans la production de vaccins, c'est le cas notamment de la méthode décrite par Frenkel en 1947, dans laquelle le tissu épithélial de la langue du bovin est utilisé (Frenkel 1947). C'est sur cette base que se sont développés les programmes de vaccination initiés en Europe dans les années 1950 (Barteling et Vreeswijk 1991; Henderson et Galloway 1953).

Avec certaines améliorations, le virus est produit par culture sur cellules de reins de hamster (BHK-21) pendant 24 heures. Après filtration, il subit une double inactivation par l'éthylène-imine binaire. Une concentration et une purification par chromatographie permettent l'obtention d'une suspension antigénique concentrée, purifiée et stockée à –100°C en vapeurs d'azote (Barteling 2002; Toma, Dufour, et Rivière 2018).

De plus, il est utilisé les lignées cellulaires telles que les cellules BHK-21 et cellules de reins du porc (IBRS-2), en flacons stationnaires, en flacons roulants ou, mieux, sur des microsupports (billes microscopiques, supports sephadex de 100 microns), ce qui constitue une nouvelle modalité de culture. Les cellules adaptées à la culture en masse dite en suspension (BHK-21 principalement) permettent l'utilisation de bioréacteurs de 3000 à 5000

litres. Ces techniques de production du virus aphteux sur lignées cellulaires dispensent des opérations de récolte et de transport des épithéliums linguaux. Elles sont actuellement aussi largement employées pour la production de vaccins que la méthode Frenkel (Toma, Dufour, et Rivière 2018).

1.2. Répartition géographique et importance économique

1.2.1. Répartition géographique

La fièvre aphteuse a une large distribution dans le monde. La distribution des 7 sérotypes du virus de la fièvre aphteuse varie dans l'espace et dans le temps. En conséquence, l'OIE/FAO, ainsi que le laboratoire mondial de référence pour la fièvre aphteuse (WRLFMD) à Pirbright en Angleterre, fournissent régulièrement des rapports sur la présence de la maladie dans le monde entier et les souches circulantes associées. Selon le sérotype et les sous-types circulant, les régions enzootiques ont été subdivisées en 7 pools de virus (Figure 1) (WRL-FMD 2016).

Les pools de virus ont été définis par l'OIE/FAO et ces pools sont souvent le résultat de similitudes écologiques, d'échanges de bétail communs et de traditions culturelles (Brito et al. 2017). Chacun de ces pools contient au moins deux sérotypes de virus, et comme la circulation des virus se fait principalement à l'intérieur de ces réservoirs régionaux, des souches ont évolué, qui sont spécifiques à la région et qui souvent (dans le cas des virus de type A et SAT) nécessitent des vaccins adaptés (Paton, Sumption, et Charleston 2009).

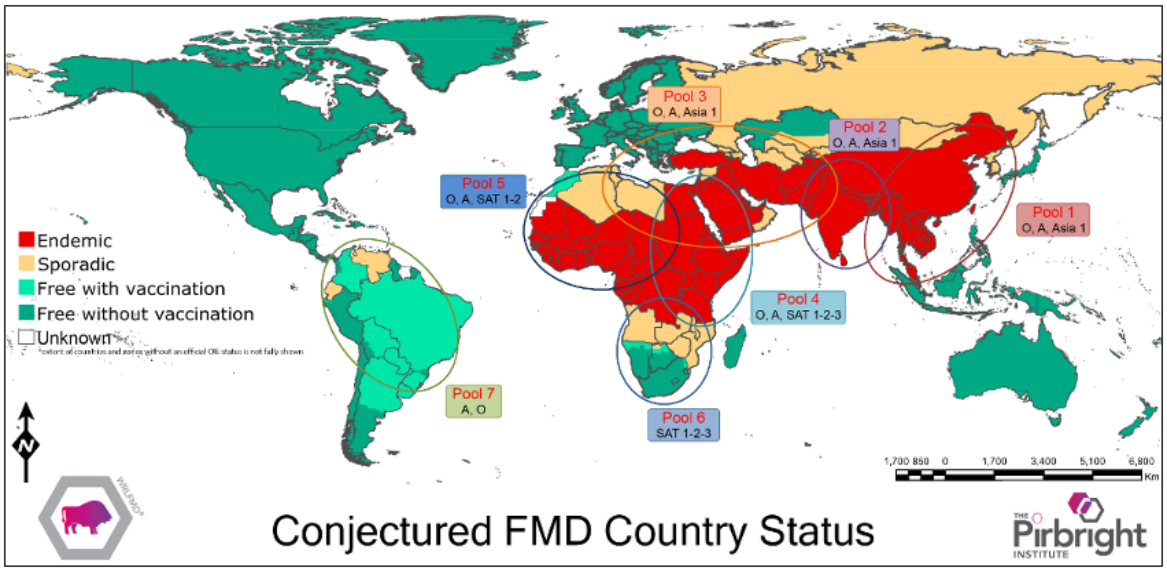


Figure 1 : Répartition mondiale des sérotypes du virus de la fièvre aphteuse
Source : (WRL-FMD 2016)

L’incidence cumulative des sérotypes de fièvre aphteuse montrait que cinq des sept sérotypes de la fièvre aphteuse (O, A, SAT 1, SAT 2, SAT 3) se trouvaient en Afrique, tandis que l'Asie avait quatre sérotypes (O, A, Asia1) et l'Amérique du Sud avait seulement trois sérotypes (O, A) (WRL-FMD 2016).

Par conséquent, les sérotypes A et O du virus de la fièvre aphteuse ont la répartition la plus large en Afrique, en Asie et en Amérique du Sud. Le sérotype O est le virus de la fièvre aphteuse le plus répandu dans le monde et, à l'intérieur de ce sérotype, il existe certaines souches à dissémination transcontinentale. C'est le cas de la souche PanAsia (au sein du topotype O/ME-SA) qui s'est répandue de 1990 à 2003 en Asie, en Europe et en Afrique du Sud (Knowles et al. 2005; Mason et al. 2003; Sangare et al. 2001). En outre, le sérotype O du virus de la fièvre aphteuse comprend un lignage particulier (Ind-2001d dans le topotype ME-SA : Middle East-South Asia) qui est normalement dans le sous-continent indien mais a récemment provoqué des foyers au Moyen-Orient et en Afrique du Nord (Bachanek-Bankowska et al. 2016; Knowles et al. 2016; Valdazo-González, Knowles, et King 2014).

Les derniers foyers de fièvre aphteuse dus au sérotype C ont été signalés en 2004 sur une île d’Amazonie au Brésil (Sumption et al. 2007) et au Kenya (Sangula et al. 2011). Le sérotype Asia1 est aujourd'hui généralement confiné à l'Asie. Cependant, deux incursions de ce sérotype ont eu lieu en Grèce, l'une en 1984 et l'autre en 2000 (Jamal et Belsham 2013). De plus, des disséminations périodiques du sérotype Asia1 ont été signalées à l'Ouest dans le Moyen-Orient, et au Nord et à l'Est dans les anciennes républiques soviétiques (comme le Kirghizistan, le Tadjikistan, l'Ouzbékistan) et la Chine (Valarcher et al. 2009). Les trois sérotypes du SAT sont normalement limités à l'Afrique Subsaharienne. Cependant, il y a eu quelques foyers dus aux virus SAT1 en Grèce en 1962 (WRL-FMD 2016). En outre, des foyers dus au sérotype SAT2 ont été signalés au Moyen-Orient et récemment dans des pays d'Afrique du Nord, à savoir l'Égypte et la Libye (Ahmed et al. 2012; Elhaig et Elsheery 2014; El-Shehawy et al. 2014; Valdazo-González et al. 2012; WRL-FMD 2016).

Bien que la FA puisse se manifester sporadiquement dans des zones généralement indemnes, la maladie reste enzootique dans plusieurs régions d'Asie, dans la plupart des pays d'Afrique et du Moyen-Orient. En Amérique latine, de nombreux pays ont appliqué le zonage et sont reconnus indemnes de fièvre aphteuse avec ou sans vaccination c’est les cas par exemple de l’Argentine, du Pérou, du Brésil et de la Colombie (OIE 2016). Cependant, en juillet 2017,

une épizootie de la FA a été signalée en Colombie. Les foyers détectés étaient dû au sérotype O (Fao 2017).

1.2.2. Importance économique

La fièvre aphteuse a des conséquences économiques considérables. Son impact économique peut être divisé en deux composantes : (i) les pertes directes dues à la réduction de la production (viande, lait et avortements) et (ii) les pertes indirectes dues aux coûts de la lutte contre la fièvre aphteuse (c'est-à-dire dépeuplement et mesures d'embargo commercial notamment). Il a été estimé en 2013 que l'impact économique annuel de la fièvre aphteuse en terme de pertes de production visibles et de coûts de vaccination dans toutes les régions enzootiques se situe entre 6,5 et 21 milliards de dollars US (Knight-Jones et Rushton 2013).

L'épidémie dévastatrice survenue en 2001 au Royaume-Uni s'est propagée en France et aux Pays-Bas. Le Royaume-Uni à lui seul a été contraint d'abattre environ 4 millions d'animaux infectés ou en contact. Le coût de cette épidémie a été estimé à plus de 29 milliards de dollars US (Knight-Jones et Rushton 2013; Knowles et al. 2001; Samuel et Knowles 2001). Cependant, en Afrique Subsaharienne, il est difficile d'évaluer les pertes causées par la fièvre aphteuse, en particulier les pertes indirectes, en raison de la complexité des systèmes de production (Domenech 2011).

1.3. Etiologie de la maladie

1.3.1. Taxonomie

Le virus de la FA appartient à la famille *Picornaviridae*. C'est un virus à ARN simple brin, non enveloppé de polarité positive qui possède une capside de forme icosaédrique d'environ 30nm de diamètre et un génome de l'ordre de 8500 nt (nucléotides) (Rueckert 1996). Cette famille des *Picornaviridae* se compose actuellement de 94 espèces regroupées en 40 genres (King et al. 2018). Sept nouveaux genres de *Picornavirus* ont été proposés au Comité International sur la taxonomie des virus en anglais « International Committee on Taxonomy of Viruses » (ICTV), portant le total à 47 genres. En outre, 16 nouvelles espèces ont également été proposées, ce qui porte le total à 110 (Adams et al. 2017; King et al. 2018; Zell et al. 2017).

Les virus de cette famille causent des maladies pour l'homme et les animaux. Le genre *Aphthovirus*, auquel appartient le virus de la fièvre aphteuse, contient quatre espèces : le virus

de la rhinite bovine A (BRAV), le virus de la rhinite bovine B (BRBV), le virus de la rhinite équine A (ERAV) et le virus de la fièvre aphteuse. Le nom du genre est dérivé du mot grec aphtha qui signifie « vésicules dans la bouche » et fait référence aux lésions vésiculaires que le virus provoque chez les animaux artiodactyles (Brooksby 1982; Melnick 1983).

1.3.2. Structure de la capside et organisation du génome viral

1.3.2.1. Structure de la capside

La capside du virus de la fièvre aphteuse a été cristallisée et sa structure a été analysée aux rayons X. Elle est composée de 60 protomères formés chacun de 4 polypeptides appelés chacun « Viral Protein » VP1 à VP4 arrangés en quantité équimoléculaire. L'unité de base de la capside est le protomère constitué d'un exemplaire de chacune des protéines VP1, VP2, VP3 et VP4, organisées selon une symétrie icosaédrique (Acharya et al. 1989).

Les VP1, VP2 et VP3 ont un poids moléculaire sensiblement identique de 24000 Daltons (Da) et se trouvent exposées à la surface de la capside, avec les extrémités N-terminales de VP1 et VP3 plus ou moins hydrophobes, imbriquées et enfouies vers l'intérieur. VP1 et VP2 sont également associées par des liaisons disulfures, au moins pour le sérotype O, et on retrouve également des dimères de VP3 maintenus aussi par des liaisons disulfures. Une face de l'icosaèdre est donc constituée par 3 molécules de chacun des peptides majeurs (Figure 2). La protéine VP4, de poids moléculaire 8000, possédant un groupement myristilé à son extrémité N-terminale est la seule protéine virale à être modifiée après la traduction. VP4 est complètement à l'intérieur de la capside, au contact de l'ARN. Elle peut être considérée comme l'extension N-terminale de VP2 (Goodwin et al. 2009; Grigera, Vasquez, et Palmenberg 1985).

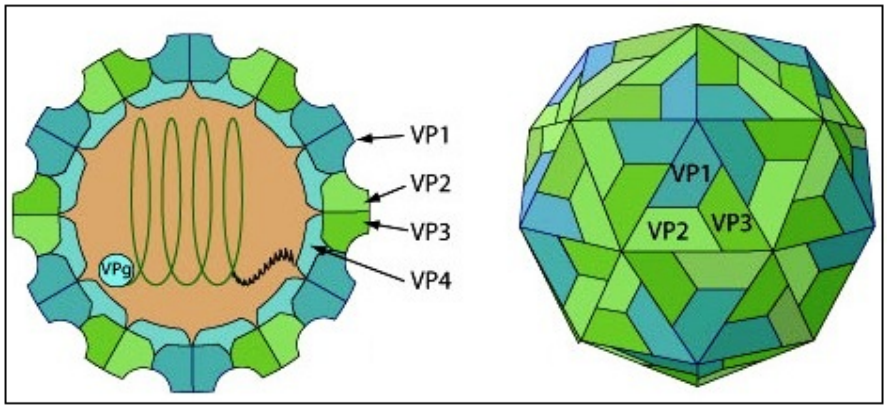


Figure 2 : Structure de la capside icosaédrique du virus
Source : (ViralZone 2008)

La VP1 est la protéine la plus antigénique. Au niveau de cette protéine, il existe une région extrêmement exposée et mobile, la boucle G-H qui joue un rôle central dans l'antigénicité et dans la fixation aux récepteurs cellulaires. Cette boucle G-H facilite la fixation aux récepteurs cellulaires du virus de la FA via le motif conservé RGD (Logan et al. 1993).

1.3.2.2. Organisation du génome viral

Le génome du virus de la fièvre aphteuse se compose d'une molécule d'ARN simple brin positif d'environ 8,5 kb (kilobases) de longueur. Cette molécule d'ARN est liée en 5' de façon covalente à une petite protéine de 24 acides aminés, la VPg *(*viral genome linked protein). Le génome viral code pour une seule grande protéine précurseur ou polyprotéine de l'ordre de 2 332 acides aminés. Cette polyprotéine subira plusieurs clivages pour donner naissance aux protéines fonctionnelles. Elle n'est presque jamais observée car les clivages se font parallèlement à sa synthèse. Le génome du virus de la fièvre aphteuse peut être représenté schématiquement par une ligne continue, divisé en trois parties : (i) la région non codante 5'NTR *(*Non Translated Region*)* (1200 nucléotides), (ii) la région codant pour la polyprotéine (6996 nucléotides) et (iii) la région 3' non codante (3'NTR) (90 nucléotides) suivie d'une séquence de polyAdénilique de longueur variable (Figure 3).

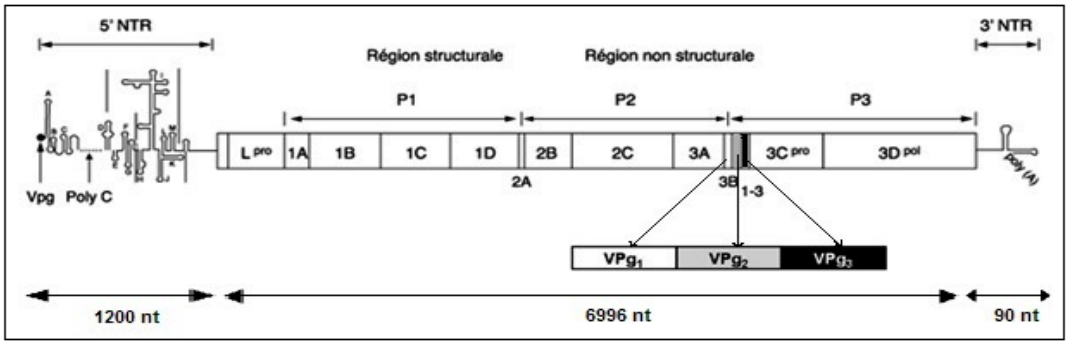


Figure 3 : Structure du génome du virus de la fièvre aphteuse
Source : (adaptée de Kim et Remond 2000).

Légende : ***VPg*** : protéine virale liée au génome ; **L^{pro}** et **$3C^{pro}$** : protéases L et 3C ; **$3D^{pol}$** : polymérase 3D. Les régions traduites sont représentées par des rectangles et les barres verticales correspondent aux sites de clivage des protéases.

Les polyprotéines (P1-2A, P2 et P3) sont respectivement les précurseurs des protéines structurales de la capside, des protéines non structurales 2BC et 3ABCD. La protéine 3B correspond à la protéine VPg, elle est codée en trois exemplaires (3 régions 3B, similaires mais non identiques ; cas unique et particulier du FMDV au sein des *Picornaviridae*) bien que le virus soit viable avec un seul « gène » de cette protéine. Cette protéine VPg se lie de façon

covalente à chaque molécule d'ARN par une liaison phosphodiester entre l'acide uridylique terminal et une tyrosine toujours présente en position 3 dans la protéine (Falk, Sobrino, et Beck 1992). La protéine VPg est essentielle à la réplication virale. Tous les ARN viraux nouvellement synthétisés y sont liés tandis que les ARNm cellulaires (ARN messager) en sont dépourvus ; elle est probablement excisée par une enzyme cellulaire (Ambros et Baltimore 1980; Kim et Remond 2000).

i) La région non codante 5'NTR représentant plus de 10 % du génome, possède une structure secondaire en forme de boucles ayant un rôle indispensable dans la traduction, la réplication et l'encapsidation de l'ARN viral. La première partie de l'extrémité 5' est appelée le fragment S et mesure environ 400 nucléotides de long. Ensuite, vient un fragment polyribocytidylate (poly C) de longueur variable généralement de 100 à 170 nucléotides (Kim et Remond 2000). Le rôle de cette séquence polyC, non indispensable à la réplication, activatrice des protéines kinases cellulaires et hautement toxique pour les cellules procaryotes, est inconnu mais on peut supposer avec Edgington (1995) que ses interactions avec les protéines kinases, première ligne de défense des cellules eucaryotes, soit en définitive favorables au virus (Edgington 1995). La longueur du polyC n'a aucun effet sur la virulence du FMDV comme cela a été longtemps supposé (Rieder et al. 1993). Juste après le fragment polyC, se trouvent des pseudo-nœuds (pseudoknots) dont la fonction est inconnue (Clarke et al. 1987). Enfin, la dernière structure secondaire avant la région codante est le site de fixation des ribosomes ou IRES *(Internal Ribosome Entry Site)* initiant la traduction composé d'environ 435 nucléotides (Belsham et Brangwyn 1990; Ohlmann et Jackson 1999). L'IRES sert à la fixation du ribosome et à l'initiation de la synthèse des protéines d'une manière coiffe-indépendant. Il contient une région riche en pyrimidines juste avant le premier codon AUG (Grubman et Baxt 2004).

ii) La région codante est la partie principale du génome du virus. Elle est un seul grand gène représentant l'essentiel du génome et codant pour une polyprotéine de 2332 acides aminés (pour le sérotype O) (Forss et al. 1984). Cette polyprotéine est très instable car elle est clivée au cours de sa synthèse en polypeptides précurseurs (L^{pro}, P1, P2 et P3) qui sont traduits et transformés en différentes protéines structurales et non structurales par les protéases virales (L^{pro}, 2A, et $3C^{pro}$) (Rueckert 1996). La protéine L^{pro} est une cystéine papaïne-like (uniquement chez les aphtovirus), elle représente la protéine leader, où deux sites d'initiation de la traduction (codons AUG) ont été identifiés : espacés de 84 nucléotides. En

raison de cette initiation de la traduction alternative, il existe deux formes de protéase leader : Lab d'environ 200 acides aminés et Lb d'environ 170 acides aminés (Belsham 2013; Burroughs et al. 1984; Sangar et al. 1988).

La polyprotéine (Pl) située près de l'extrémité 5' du génome viral, correspond aux protéines structurales alors que les polyprotéines P2 et P3 correspondent aux protéases et aux protéines impliquées dans la réplication virale et l'inhibition de la synthèse cellulaire (Figure 4). Cette polyprotéine P1 est le précurseur des protéines de capside 1ABCD connues sous les noms de VP4, VP2, VP3 et VP1. Le précurseur intermédiaire P1 est traité à l'aide de la protéinase virale $3C^{pro}$ pour produire VP0, VP1 et VP3 qui s'assemblent pour former des particules de capside vides. Le virion mature est produit après encapsidation de l'ARN et clivage de VP0 en VP2 et VP4. Les régions P2 (2A, 2B, 2C) et P3 (3A, 3B, 3C, 3C, 3D) codent pour les protéines non structurales impliquées dans la réplication de l'ARN viral (Belsham 2013; Porter 1993; Rueckert 1996; Spall, Shanks, et Lomonossoff 1997). La protéine 2A est réduite à un oligopeptide de 19 acides aminés qui présente la propriété de s'autocliver à son extrémité C terminale, comme la protéase L (Donnelly et al. 1997).

La maturation de la polyprotéine est séquentielle ; les événements primaires de clivage font intervenir la protéase L et la protéase 2A, ces 2 oligopeptides participant ponctuellement à la maturation. Ils présentent en effet la propriété de s'autocliver à leur extrémité C-terminale. La protéase L clive à la jonction L/1A et la protéase 2A dissocie les précurseurs LP12A et 2B2CP3. Tous les autres clivages pour générer les protéines de capside VP0, VPl et VP3, sont réalisés par la protéase 3C ou son précurseur 3CD. Toutefois, la maturation de VP0 en VP2 et VP4 relève d'un autre mécanisme mal déterminé (Kim et Remond 2000).

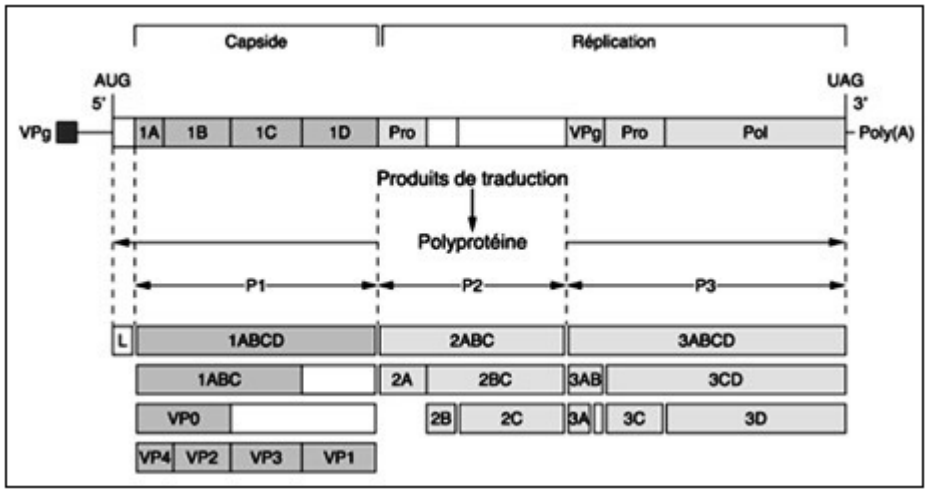


Figure 4 : Organisation génétique et expression des protéines virales
Source : (Kim et Remond 2000).

iii) La région 3'NTR non codante a une longueur d'environ 90 nucléotides. Elle contient une petite séquence qui forme une structure en tige-boucle et se termine par une séquence poly A de longueur variable. Cette région est susceptible d'être un site d'interaction avec des protéines virales et des protéines de l'hôte pour la réplication du génome viral (Grubman et Baxt 2004).

1.3.3. Propriétés biologiques du virus

1.3.3.1. Variation génétique

Le virus de la fièvre aphteuse existe en sept sérotypes distincts qui peuvent être subdivisés en un grand nombre de sous-types. Cette diversité s'exprime principalement dans la région génomique codant pour les protéines structurales conduisant à plus de 30% d'échanges d'acides aminés dans les protéines de la capside entre les sérotypes, alors que les protéines non structurales diffèrent seulement de 2 à 7% (Domingo et al. 2003). Les virus sont soumis à une forte dérive génétique avec un taux de mutation allant jusqu'à 3% d'échanges de base par an dans la région génomique codant pour les protéines structurales (Beck 1988; Beck et Strohmaier 1987). En raison de l'absence d'activité de relecture-réparation par la réplicase virale (absence de mécanismes de contrôle des erreurs de réplication), la réplication du génome virale est très sujette aux erreurs (Holland et al. 1982). Les taux de mutation élevés donnent lieu à des populations composées de virus génétiquement apparentés mais non identiques, appelés quasi-espèces.

Bien que le taux d'erreur de l'ARN-polymérase des virus aphteux soit peu influencé par la région génétique copiée, la fixation de mutations dans le génome du virus de la fièvre aphteuse n'est pas homogène. Il existe par exemple une différence significative dans le taux de fixation de mutations entre les régions 1D (codant pour la VP1) et 3D (codant pour l'ARN-polymérase). Cette différence répond à l'accumulation de mutations dans un spectre déterminé par les conditions du milieu de multiplication du virus. La fixation des mutations répond à la fois à des événements aléatoires et à des mécanismes de sélection. L'événement aléatoire peut être l'infection d'un animal avec un ou plusieurs virus et la reconstitution d'une quasi-espèce chez cet animal. La sélection positive sera particulièrement évidente dans une population immunisée où les modifications antigéniques donnent un avantage sélectif à un virus. Enfin, la sélection négative éliminera les génomes mutants porteurs de mutations délétères (Thiry, Baranowski, et Domingo 2001).

Un taux important de mutations dans les régions codant pour les protéines structurales a été rapporté durant des épizooties de fièvre aphteuse (Martinez et al. 1988; Sobrino et al. 1986). Ce taux de mutations peut atteindre des valeurs aussi élevées que 7×10^{-2} substitutions par site et par an, lors d'infections persistantes chez les bovins (Gebauer et al. 1988).

Des études menées sur des virus de type SAT 1 et SAT 2 ont estimé les changements nucléotidiques à 1,64 % par an, pour la région codant pour la VP1 (Vosloo et al. 1996). Plusieurs expériences menées *in vivo* font état de la production des virus de la FA très variables isolés à partir d'animaux au cours d'études d'infection. Ces observations peuvent avoir été influencées par des facteurs moléculaires et/ou des pressions sélectives indirectement induites par les méthodologies de laboratoire (Carrillo et al. 1998; Martinez et al. 1988). Récemment, une étude menée pendant l'épidémie de 2001 au Royaume-Uni a démontré que les changements nucléotidiques se produisent dans l'ensemble du génome à un taux de $2,26 \times 10^{-5}$ substitutions nucléotidiques par site et par jour. Par conséquent, les données obtenues à partir de foyers comme l'épidémie de 2001 appuient les observations expérimentales, démontrant le rôle des pressions sélectives liées à l'hôte sur la variabilité et l'évolution du virus de la fièvre aphteuse (Cottam et al. 2006).

Des études génomiques comparatives utilisant des séquences intégrales représentatives des sept sérotypes ont permis d'identifier des régions génomiques hautement conservées, indiquant des contraintes fonctionnelles de variabilité ainsi que des motifs non définis ayant

une signification biologique probable (Carrillo et al. 2005). Au moins 64 % de tous les sites du génome du virus de la fièvre aphteuse sont susceptibles d'être substitués, y compris les substitutions compensatoires. Il est important de préciser que la plupart des résidus "variant" ou substituables dans le génome du virus de la fièvre aphteuse subissent une mutation en réponse aux effets nuisibles produits par des mutations ailleurs dans le génome. Par conséquent, de nouveaux variants du virus de la fièvre aphteuse apparaissent continuellement après chaque cycle de réplication. La génération de nouveaux variants est considérée comme l'un des problèmes majeurs dans la lutte contre la fièvre aphteuse par la vaccination (Carrillo 2012).

1.3.3.2. Variation antigénique

Le concept de variation antigénique découle de l'observation de Vallée et Carré 1922 selon laquelle un animal qui s'est remis d'une infection par le virus de la fièvre aphteuse peut être réinfecté et développer des signes cliniques. La variation génétique observée dans le génome viral de la fièvre aphteuse est le résultat d'un processus d'évolution virale incluant la réplication de l'ARN viral qui est sujette aux erreurs en raison de l'absence d'une activité de relecture dans l'ARN polymérase codée par la région 3D (Domingo et al. 1990). Ainsi, le virus de la fièvre aphteuse possède une grande capacité de variation et d'adaptation qui se manifeste par l'existence de sept sérotypes différents (O, A, C, SAT1, SAT2, SAT3 et Asia 1) et de multiples sous-types ou variants antigéniques (Domingo et al. 1990). L'utilisation d'anticorps monoclonaux neutralisants a permis de calculer le nombre de variants antigéniques présents dans une même population. En culture cellulaire, la fréquence d'isolement de ces mutants d'échappement varie entre $4x10^{-5}$ et $8x10^{-3}$ (Martinez et al. 1988; Martínez et al. 1997).

Des études génétiques, immunochimiques et structurales ont permis de caractériser la structure antigénique du virus de la fièvre aphteuse et de comprendre les mécanismes par lesquels le virus échappe à la neutralisation (Mateu 1995). Le virus possède trois sites antigéniques importants, notamment le site antigénique A (site majeur chez le sérotype C) qui est composé de plusieurs épitopes linéaires situés sur la boucle G-H de la protéine VP1 ; le site antigénique C situé en région carboxy-terminale de la protéine VP1 et le site antigénique D qui est discontinu et formé de plusieurs résidus des protéines VP1, VP2 et VP3. Fortement liés à la structure de la capside, les sites antigéniques du virus se retrouvent aussi très exposés en surface, ce qui est déjà plus conventionnel. La technique de choix qui a permis la

localisation des épitopes est le séquençage des variants résistants à la neutralisation par des anticorps monoclonaux et la comparaison des séquences avec celle de la souche parentale pour localiser les mutations (Kim et Remond 2000).

Outre l'absence de protection croisée entre les 7 sérotypes du virus de la fièvre aphteuse, l'une des implications inquiétantes de la variation antigénique est le fait que la vaccination avec un variant antigénique d'un sérotype donné ne protège pas nécessairement un animal de l'infection par un virus différent du même sérotype (Brooksby 1982; Cartwright, Chapman, et Sharpe 1982). La variation antigénique constitue de fait un obstacle majeur pour le contrôle de la fièvre aphteuse (Sobrino et al. 2001).

Les progrès réalisés dans la compréhension des différences génétiques qui sous-tendent les variations antigéniques observées ont joué un rôle majeur dans l'épidémiologie de la fièvre aphteuse. De nos jours, le séquençage des nucléotides est couramment utilisé pour identifier les relations génétiques entre les différents isolats et les souches historiques. Cependant, la co-circulation de différents types de virus de la fièvre aphteuse est une réalité dans la plupart des régions endémiques, ce qui représente une complication sérieuse dans l'épidémiologie du virus de la fièvre aphteuse (Ayelet et al. 2009; Balinda et al. 2010; Ludi et al. 2016). Par conséquent, compte tenu de la dérive antigénique continue en situation enzootique, la sélection des souches vaccinales doit toujours être mise en œuvre avec beaucoup d'attention.

1.3.4. Propriétés physicochimiques

1.3.4.1. Comportement vis-à-vis des agents physiques

Il est généralement admis qu'une température supérieure à 50°C inactive progressivement le virus de la fièvre aphteuse et que les températures atteintes par la pasteurisation (61 à 63°C) pendant 30 minutes ont le même effet. Il faut aussi noter que le virus est plus sensible à la chaleur humide (résiste 30 minutes à 65°C) qu'à la chaleur sèche (2h30 à 70°C). Après congélation allant de -30° à -70°C, le virus conserve son pouvoir pathogène pendant des années. Lorsqu'il est exposé aux rayons du soleil surtout en couche mince, le virus est facilement détruit, mais lorsqu'il est contenu dans des fragments de tissus ou dans divers matériaux contaminés (poils, aliments, matériel divers), il peut rester infectant pendant plusieurs semaines, dans les conditions moyennes de l'étable ou de la ferme (Holveck 2002).

L'humidité relative est un facteur essentiel de la survie du virus : elle doit être supérieure à 55%. Dans ce cas, le virus en aérosol reste infectieux à 20°C comme s'il était dans un milieu de culture (Holveck 2002). Le virus de la fièvre aphteuse est stable entre pH 7 et 9 à 4°C et -20°C. Ce virus est sensible aux pH acides et inactivé à pH 6. Cependant, dans le lait et les produits laitiers, le virion est protégé et peut survivre à 70° C pendant 15 secondes à un pH de 4,6. Dans la viande, il peut survivre pendant de longues périodes dans la moelle osseuse et les ganglions lymphatiques réfrigérés ou congelés (McKercher et Callis 1983). La taille des gouttelettes en aérosol joue également un rôle dans la survie ou le dessèchement du virus. En effet, une taille de gouttelettes d'aérosol de 0,5 à 0,7 µm est optimale pour une survie plus longue du virus dans l'air alors que les aérosols plus petits sèchent. En outre, dans des conditions sèches, le virus survit également plus longtemps dans les protéines, par exemple dans les fragments épithéliaux (Donaldson 1987; Donaldson et al. 1987; Sellers, Lacey, et Donaldson 1983).

1.3.4.2. Comportement vis-à-vis des agents chimiques

Le virus de la fièvre aphteuse en raison de l'absence de l'enveloppe, présente une résistance remarquable aux solvants tels que l'alcool à 70°, l'éther, le chloroforme et le crésol. Cependant il est détruit en moins d'une minute par des solutions telles que l'hydroxyde de sodium à 2% ou l'hydroxyde de potassium à 2%, l'acide citrique à 0,2% et le carbonate de sodium anhydre à 4%. Ces solutions sont utilisées comme des désinfectants efficaces pour les objets contaminés par la fièvre aphteuse (Harada et al. 2015; Hong et al. 2015).

Dans des conditions acides, les particules du virus de la fièvre aphteuse sont perturbées en sous-unités pentamériques composées de cinq copies de chacune des protéines de structure du virus (VP1-3) avec libération de la protéine de capside interne (VP4) et de l'ARN. En effet, le virus est sensible notamment à l'acide acétique à 2%, à l'acide citrique à 0,2% et le formol à 0,5‰ (agent d'inactivation utilisé dans la préparation des vaccins). Il est aussi sensible aux oxydants tels que les hypochlorites (eau de javel 1/10ème), mais ces derniers sont d'utilisation plus limitée en raison de leur inactivation rapide en présence de matières organiques (Hong et al. 2015; Newman, Rowlands, et Brown 1973). La différence la plus importante, en terme de propriétés physico-chimiques, entre les virus membres de la famille des *Picornaviridae* est leur stabilité en fonction du pH (Pereira 1981).

1.4. Signes cliniques

La période d'incubation de la fièvre aphteuse est variable et dépend de l'hôte (âge, espèce, race et statut immunitaire), de l'environnement, de la voie d'exposition, de la dose d'exposition, des conditions d'élevage et de la souche virale. Il a été estimé qu'après l'infection par le virus de la fièvre aphteuse, la période d'incubation moyenne chez les ovins et les caprins est de 3 à 8 jours ; de 2 à 9 jours chez les porcins et de 2 à 14 jours chez les bovins (Grubman et Baxt 2004). La période d'incubation peut être aussi courte que 18 heures pour les souches adaptées à l'hôte chez les porcins, surtout en contact direct intense (Kitching et Alexandersen 2002). Cette période d'incubation peut toutefois atteindre 21 jours chez les animaux possédant un certain degré d'immunité. Car il a été observé de longues périodes d'incubation semblables dans les situations endémiques ou dans les régions où est pratiquée la vaccination (Holveck 2002). La fièvre aphteuse peut être bénigne voire inapparente chez les petits ruminants ou d'expression plus sévère à grave chez les bovins ou les porcins (Kitching 2002).

- **Chez les bovins**, après une hyperthermie initiale d'environ 40°C, pendant un ou deux jours, un nombre variable de vésicules se développent sur la langue, le palais dur, le coussinet dentaire, les lèvres, les gencives, le mufle, la bande coronaire et l'espace interdigité. Ces signes cliniques s'accompagnent d'un état d'abattement, de tremblement, d'inappétence, de rumination irrégulière avec chute de la production lactée voire son tarissement (Brooksby 1982; Kitching 2002; Woodbury 1995).

  Des vésicules peuvent également être observées sur les trayons, en particulier chez les vaches en lactation. Les jeunes veaux peuvent mourir avant l'apparition des vésicules en raison de la prédilection du virus pour envahir et détruire les cellules du muscle cardiaque en développement (Kitching 2002). Une fois l'infection établie dans les troupeaux de bovins, la morbidité peut approcher les 100 % (Salt, Samuel, et Kitching 1996; Woodbury 1995).

  En effet, la localisation buccale (stomatite aphteuse) se traduit par des signes fonctionnels de ptyalisme abondant lié à l'inflammation de la muqueuse buccale, la salive s'écoule des commissures labiales en longs filets. L'animal a du mal à prendre les aliments et pour tenter de soulager la douleur envahissant sa cavité buccale, il présente des mouvements de mâchonnement à vide et fait entendre des bruits de succion. L'examen de la bouche

permet de constater la présence d'aphtes précédée d'une décoloration locale de l'épithélium, dont la partie superficielle se soulève sous la pression de l'accumulation sous-jacente de « lymphe aphteuse » très riche en virus (Holveck 2002).

L'atteinte podale se caractérise par des manifestations de douleur à l'appui : piétinement en stabulation, boiteries en déplacement. Cela devient évident sur simple palpation. Quelles que soient les muqueuses affectées, les aphtes et les vésicules évoluent toujours avec la rupture de l'épithélium qui se détache en lambeau. La phase terminale survient en 8 à 10 jours en l'absence de complications. Les lésions aphteuses cicatrisent sous un enduit de fibrine dans la bouche, sous une croûte sur les trayons ou les pieds. Il y a un retour progressif des fonctions digestives et l'hyperthermie s'estompe (Holveck 2002). De plus, il a été démontré que chez les bovins, les vaches gravides peuvent avorter (Radostits et al. 2006).

- **Chez les ovins et les caprins**, les signes cliniques sont similaires à ceux observés chez les bovins, mais les signes fonctionnels et locaux sont toujours plus discrets et peuvent se résumer, souvent chez les caprins, à une atteinte buccale pouvant passer inaperçue. Ces infections souvent subcliniques dans cette espèce rendent la détection des foyers beaucoup plus difficiles. Chez les ovins, les boiteries dominent (souvent un seul membre est atteint) mais une atteinte buccale est toujours présente (Coetzer, Thomson, et Tustin 1994). Chez les animaux boiteux, il peut y avoir des vésicules ou de l'érosion sur la bande coronaire ou dans l'espace interdigité. Les avortements sont plus fréquents que chez les bovins ; là encore, les agneaux et les chevreaux à la mamelle sont les victimes de l'atteinte de leur mère. L'agalaxie est typique chez les brebis et les chèvres en période de lactation (Arzt et al. 2011; Kitching et Hughes 2002).

- **Chez les porcins,** les manifestations cliniques répondent au même schéma que chez les autres espèces (bovine, caprine et ovine), mais la localisation buccale peut être ignorée en raison de sa discrétion et/ou des difficultés d'examen de la bouche. Les lésions buccales ne sont pas trop fréquentes et lorsqu'elles surviennent, elles sont plus petites et de plus courte durée que chez les bovins et ont tendance à être une lésion de type " sèche " ; il n'y a pas de bave (Holveck 2002).

  La fièvre aphteuse chez le porc est surtout caractérisée par les difficultés à la marche. En effet, la localisation podale peut être, en apparence exclusive : elle demeure toujours très

prononcée et douloureuse. L'atteinte inflammatoire des couronnes et des coussinets plantaires se poursuit par un large décollement et une rupture rapide de ces tissus. Une éruption vésiculeuse peut aussi apparaître sur les faces postérieures des métatarses et des métacarpes suite aux pressions et irritations provoquées par le décubitus. Le porc atteint de la fièvre aphteuse évite l'appui, reste volontier couché. S'il est forcé de se déplacer, il semble marcher sur des aiguilles. A un stade plus avancé, l'importance des délabrements, pouvant aller jusqu'à l'exongulation, le condamne au décubitus prolongé et à la faim (Kitching et Alexandersen 2002).

Les truies peuvent avorter et les porcelets peuvent mourir sans présenter aucun signe clinique (Coetzer, Thomson, et Tustin 1994; Kitching et Alexandersen 2002; Radostits et al. 2006).

1.5. Pathogénie

La pathogénie de la fièvre aphteuse est complexe. Il existe actuellement de nombreuses lacunes dans le niveau de compréhension de ce phénomène. En effet, le virus pénètre dans l'organisme le plus souvent par les voies respiratoires. Le principal site de multiplication virale est la muqueuse du pharynx, du palais mou et de la partie antérieure de l'œsophage. Le virus envahit la région et des vésicules se forment. Ensuite, leur éclatement est à l'origine de la propagation du virus (Arzt et al. 2011).

Après 24 à 48 heures, le virus passe dans sang *via* le système lymphatique pendant la phase fébrile de l'infection (le taux de virus peut à ce moment atteindre 10 000 unités par ml) et se dirige vers les organes et les tissus cibles où il y a production de vésicules secondaires. Il arrive également que le virus soit introduit en un lieu où les vésicules primaires ne peuvent se former ; l'injection du virus par intramusculaire (IM) par exemple, lui permet de gagner le sang et d'être transporté aux lieux d'élection où il induit l'apparition de vésicules (Holveck 2002).

Le virus aphteux est épithéliotrope, toute l'épaisseur de l'épiderme est concernée. La vésicule prend naissance dans la couche profonde, au niveau du corps muqueux de Malpighi. L'assise cellulaire germinative en renouvellement constant est le siège de la multiplication du virus (Arzt, Pacheco, et Rodriguez 2010).

La formation de vésicules, la lyse cellulaire et l'inflammation significative se produisent aux sites de réplication secondaires (muqueuse buccale, peau de l'espace interdigité, peau des trayons et le cœur) mais pas dans l'épithélium du site de réplication primaire (Arzt, Pacheco, et Rodriguez 2010; Zhang et Alexandersen 2004). Les cellules qui favorisent la réplication virale sont situées dans la couche basale de l'épithélium naso-pharyngé. Cependant, le mécanisme par lequel la réplication virale se produit dans l'épithélium naso-pharyngé sans causer de lyse cellulaire est inconnu ; on ne sait pas non plus pourquoi le virus peut être facilement cultivé à partir de prélèvements pharyngés (obtenus à l'aide de Probang cups) qui, chez les animaux récemment infectés, peuvent contenir pourtant des taux élevés d'anticorps (principalement IgA) dirigés contre le virus infectieux (Arzt et al. 2011; Stenfeldt et al. 2015).

La surface des vésicules ainsi formées est constituée par la couche cornée de l'épiderme, la base reposant sur le derme qui est épargné. Les lésions atteignent jusqu'à 2 à 3 cm de diamètre et leur coalescence donne les aphtes caractéristiques de la maladie. Le titre infectieux du virus peut atteindre 10 millions d'unités par gramme de tissu. Fragiles en raison de la minceur de leur calotte, les aphtes s'excorient pour laisser place à de larges zones érodées rosées, hémorragiques et entourées de lambeaux d'épithélium plus ou moins nécrosés. En l'absence d'infections surajoutées, la couche germinative régénère rapidement l'épiderme et amène la cicatrisation. Toutefois, une perte de la pigmentation au niveau des tissus colorés est observée (Holveck 2002; Röhrer 1969).

Le virus aphteux possède également à côté des propriétés électivement épithéliotropes, un myotropisme certain. Chez les jeunes animaux, la dégénérescence parenchymateuse avec nécrose du myocarde se manifeste par des taches gris-clair ou jaunâtres, qui ont donné au cœur touché le nom de « cœur tigré » (Röhrer 1969).

Les aphtes sont les points les plus riches en virus, leurs parois restent virulentes jusqu'au quatrième jour suivant leur rupture. La virulence de la salive est maximale lorsque les aphtes éclatent. Le virus est également retrouvé dans le mucus nasal et les larmes. Du fait de la déglutition, les virus sont présents en quantité variable mais généralement plus faible dans les excréments (Holveck 2002; Toma, Dufour, et Rivière 2018). Le virus trouvé dans les urines est d'origine sanguine : la virurie suit à peu près la même évolution que la virémie (Holveck 2002).

Par ailleurs, la virémie qui précède l'éruption générale favorise le passage du virus dans le lait. En effet, lors de la rupture des vésicules développées sur les trayons, la lymphe aphteuse se mélange à la tétée du jeune ou au produit de la traite. Le virus y garde son pouvoir infectieux d'autant que le lait des animaux infectés a un pH plus élevé (7-7,5) que celui provenant des vaches saines (6,6). Le virus disparaît tout de même en 5 à 7 jours. Le virus est également présent dans les eaux fœtales, l'avorton, le placenta et les sécrétions génitales lors d'avortement aphteux (Toma, Dufour, et Rivière 2018).

L'excrétion et la diffusion du virus dans l'organisme se produisent dès la phase d'incubation (dès 48 heures après la contamination). Ainsi, l'excrétion croît donc régulièrement pendant 2 à 3 jours pour atteindre un sommet avant de diminuer (une dizaine de jours après la contamination) (Murphy et al. 1999). Cette régression s'effectue avec la baisse de la concentration virale dans les tissus et liquides biologiques ainsi qu'avec la cicatrisation des vésicules et se poursuit parallèlement à l'installation de la réponse immune (Röhrer 1969).

1.6. Épidémiologie de la fièvre aphteuse

1.6.1. Espèces sensibles

Les espèces domestiques et sauvages les plus sensibles appartiennent à l'ordre des Artiodactyles. Parmi les espèces domestiques, les bovins dont les buffles d'eau (*Bubalus bubalis*), les porcins, les ovins et les caprins sont les principales espèces sensibles à la fièvre aphteuse. Au sein des camélidés, le chameau de Bactriane (*Camelus bactrianus*) (chameau à deux bosses) est sensible à la fièvre aphteuse et développe des lésions graves, tandis que le dromadaire (*Camelus dromedarius*) (chameau à une bosse) est résistant à l'infection (Thomson 1995).

De même, de nombreux animaux sauvages, tels que le buffle d'Afrique (*Syncerus caffer*), le chamois (*Rupicapra rupicapra*), la girafe (*Giraffa camelopardalis*), le gnou (*Connochaetes taurinus*), le phacochère (*Phacochoerus aethiopicus*), les koudous (*Tragelaphus strepsicornis*), l'Impala (*Aepyceros melampus*) et plusieurs espèces des cerfs, d'antilopes et des gazelles peuvent être infectées par le virus de la fièvre aphteuse. En dehors des artiodactyles, plusieurs cas cliniques ont été signalés chez des éléphants d'Asie en captivité (*Elephas maximus*), mais il y a peu de descriptions de virus de la fièvre aphteuse chez les éléphants d'Afrique (*Loxodonta africana*), et cette dernière espèce n'est pas considérée comme sensible dans des conditions naturelles en Afrique australe (Ayebazibwe et al. 2010;

Bronsvoort et al. 2008; Bruckner et al. 2002; Thomson 1995; Thomson et al. 2013; Vosloo et al. 2002; Ward, Laffan, et Highfield 2007; Weaver et al. 2013).

La fièvre aphteuse n'est pas une zoonose et seuls quelques rares cas d'infection potentielle de l'homme par le virus aphteux ont été décrits (Bauer 1997; Berríos 2007; Capella 2001; Simmons et Feldman 2001). Lorsque l'infection de l'homme par le virus de la fièvre aphteuse se produit, les résultats n'ont que des conséquences légères et transitoires (Bauer 1997). Par conséquent, l'infection humaine ne joue pas de rôle significatif dans l'épidémiologie naturelle de la fièvre aphteuse. Cependant, les personnes jouent souvent un rôle important dans le transfert passif du virus des animaux infectés ou des surfaces contaminées aux animaux sensibles (Sellers, Donaldson, et Herniman 1970). Il est par conséquent important d'en tenir compte dans les programmes de contrôle et les mesures de biosécurité (Alexandersen et Mowat 2005).

Sur le plan expérimental, d'autres espèces peuvent être infectées, notamment les souris, les rats, les cobayes, les lapins, les poulets et les œufs embryonnaires de poulets, mais cela nécessite souvent une transmission artificielle du virus, et l'infection de ces espèces n'a pas été impliquée dans la propagation significative de la fièvre aphteuse (Mahy 2004). Par ailleurs, il a été démontré que l'ours aussi peut être infecté de manière artificielle (Officer et al. 2014).

1.6.2. Mode de transmission

La FA est très contagieuse et plusieurs voies d'infection et d'excrétion du virus de la maladie ont été décrites. Le mode le plus courante de transmission du virus de la fièvre aphteuse est le contact direct entre un animal infecté et un animal sensible (Kitching, Hutber, et Thrusfield 2005). En effet, les animaux malades représentent naturellement la source d'infection la plus redoutée. Tous ne sont pas égaux face à la multiplication virale. Par exemple les porcs excrètent 1000 fois plus de virus que les bovins. Ainsi, les porcs constituent de véritables « usines à virus ». De plus les porcins sont concentrés en grand nombre dans des porcheries jouant alors le rôle de « soufflet à virus ». Les bovins sont d'ailleurs l'espèce la plus sensible, vraisemblablement parce que leur capacité respiratoire est supérieure à celle des porcins et des ovins. Cependant, le porc est considéré comme le multiplicateur du virus de la fièvre aphteuse, le bovin le révélateur de sa présence et les petits ruminants les introducteurs/disséminateurs du virus dans les territoires indemnes.

Le mouvement des animaux infectés est considéré comme le facteur le plus important dans la propagation du virus de la FA (Bronsvoort et al. 2004; Di Nardo, Knowles, et Paton 2011), en particulier chez les animaux présentant des signes discrets ou aucun signe clinique de maladie (Barnett et al. 1989; Charleston et al. 2011; Mansley et al. 2003).

Le virus de la fièvre aphteuse peut également être transmis indirectement par une variété d'objets inanimés, y compris le personnel de l'alimentation animale, le matériel agricole, les aires de détention du bétail, les véhicules de transport qui ont été contaminés par des excrétions animales et des sécrétions contaminées telles que la salive, le lait, les fèces et l'urine (Brooksby 1982; Grubman et Baxt 2004; Woodbury 1995).

Il a été prouvé que le lait cru infectieux peut jouer un rôle important dans la propagation de la fièvre aphteuse. En effet, les vaches, les chèvres et les brebis excrètent le virus dans leur lait pendant plusieurs jours avant que les signes cliniques de la maladie ne deviennent apparents (Kitching et al. 2007).

Les virus libérés peuvent également survivre dans le sang sec et l'épithélium défragmenté dans l'environnement pendant des périodes de temps variables selon les conditions météorologiques (Kitching et al. 2007). La congélation immédiate des carcasses améliore la conservation du virus infectieux vivant et les foyers transfrontières ont été attribués à cette manière de procéder, par le biais du commerce de la viande. Le personnel manipulant des animaux infectés peut être contaminé sur les mains, les vêtements ou dans les voies nasales par le virus vivant de la fièvre aphteuse et transmettre mécaniquement le virus aux animaux sensibles par contact direct. Une personne en contact avec des animaux infectés peut servir de source d'infection pendant 24 heures après l'infection (Kitching et al. 2007). Il a été démontré qu'à l'instar de l'homme, les animaux de compagnie comme les chiens, les chats et les oiseaux peuvent transmettre la maladie mécaniquement (Radostits et al. 2006; Woodbury 1995).

Par ailleurs, un autre mode de transmission du virus de la fièvre aphteuse est l'aérosol respiratoire. En effet, le virus peut se répliquer principalement dans les voies respiratoires des animaux et qu'une grande quantité de particules virales sont excrétées de cette zone, bien que le virus puisse se produire dans toutes les sécrétions et excrétions des animaux infectés pendant la phase aiguë de l'infection (Geering, Penrith, et Nyakahuma 2013; Kitching et al. 2007; Woodbury 1995). En effet, la transmission du virus de la fièvre aphteuse par diffusion en aérosol peut se produire sur des distances considérables, en particulier dans les régions

tempérées (Garner et Cannon 1995). Cependant, la transmission par aérosol est moins efficace dans des conditions environnementales chaudes et sèches, en particulier en Afrique Subsaharienne (Alexandersen, Zhang, et Donaldson 2002; Hutber et Kitching 2000).

De plus, la transmission par voie sexuelle pourrait être une voie de propagation importante pour les sérotypes SAT du virus de la FA dans les populations de buffles d'Afrique (Bastos et al. 2000).

1.6.3. Rôle des animaux porteurs

Si les malades constituent une source particulièrement abondante de virus facilement identifiable, il n'en est pas de même des porteurs dont la responsabilité dans l'entretien et la diffusion de la maladie est d'autant plus sournoise qu'ils échappent à la surveillance clinique.

En effet, les animaux porteurs du virus de la fièvre aphteuse sont d'une part les porteurs précoces (futurs malades), éliminant le virus dans les 48 heures de la fin de l'incubation, qui seront identifiés à posteriori, mais auront déjà participé à la contagion (Holveck 2002). D'autre part se sont les porteurs chroniques (anciens malades), chez qui du virus infectieux peut être isolé dans des échantillons de liquide oropharyngé plus de 28 jours après l'infection (Moonen et Schrijver 2000; Salt, Samuel, et Kitching 1996; Sutmoller, McVicar, et Cottral 1968; Sutmoller et McVicar 1972; Sutmoller et Olascoaga 2002). En effet, l'infection persistante peut survenir soit après une infection clinique ou subclinique de fièvre aphteuse, chez 15 à 50% des ruminants et indépendamment de leur statut immunitaire (vaccinés ou non) (Doel 1996; Moonen et Schrijver 2000). La durée de la persistance virale varie selon les espèces. Chez les bovins, la durée de portage est de 6 mois et plus, avec certains animaux pouvant rester porteurs asymptomatiques pendant 3,5 ans (Alexandersen, Zhang, et Donaldson 2002). Le virus infectieux ou son génome peut être détecté jusqu'à 12 mois chez les ovins (bien que la plupart semblent n'être porteurs que pendant 1 à 5 mois), jusqu'à 4 mois chez les caprins, pendant 1 an chez le buffle d'Asie (Salt 1993). Cependant, le buffle d'Afrique peut être porteur du virus de la fièvre aphteuse du sérotype SAT pendant au moins 5 ans (Condy et al. 1985; Vosloo et al. 1996).

La méconnaissance de ces porteurs chroniques après un épisode clinique pourrait participer à l'entretien et à la propagation de la maladie, d'autant que certains bovins atteints d'infection persistante n'ont pas d'anticorps monoclonaux décelables, ce qui complique leur identification. L'importance épidémiologique des animaux d'élevage porteurs chroniques du virus de la

fièvre aphteuse est incertaine et controversée (Bronsvoort et al. 2006). Les animaux infectés de manière persistante par le virus ne sont pas nécessairement capables de transmettre la maladie mais la transmission est possible. Cependant dans une étude réalisée au Vietnam, dix bovins infectés de façon persistante ont été mis en contact avec des bovins naïfs pendant 6 mois pour évaluer la possibilité de transmission du virus. Des suivis mensuels par des méthodes cliniques et de laboratoires ont été effectués. Les résultats de cette étude ont montré qu'il n'y avait aucune preuve de transmission du FMDV à des animaux naïfs tout au long de la période de l'étude. De plus, il n'y a pas eu de détection d'infection ou de séroconversion du FMDV chez trois veaux nés d'animaux porteurs au cours de cette étude (Bertram et al. 2018).

En effet, les seules infections expérimentales réussies par le virus de la fièvre aphteuse étaient celles qui impliquaient des buffles africains porteurs du virus SAT, qui transmettaient le virus à d'autres buffles et sporadiquement au bétail (Bastos et al. 2000; Vosloo et al. 2002). Cependant même si le risque de transmission viral des porteurs asymptomatiques vers les espèces sensibles est estimé très faible voire rare, cette persistance virale reste un obstacle pour le contrôle de la fièvre aphteuse.

1.6.4. Rôle de la faune sauvage dans la transmission de la fièvre aphteuse

Le virus de la fièvre aphteuse peut infecter plusieurs espèces animales artiodactyles sauvages telles que le buffle d'Afrique, le gnou et le phacochère. Ces animaux sauvages jouent un rôle important dans l'épidémiologie de la maladie en Afrique (Di Nardo et al. 2015; Tekleghiorghis et al. 2016). En effet, la dynamique de transmission de la fièvre aphteuse en Afrique Subsaharienne est principalement déterminée par deux cycles épidémiologiques : l'un dans lequel le virus circule entre les animaux sauvages hôtes et les animaux domestiques ; et l'autre dans lequel le virus se propage parmi les animaux domestiques, sans la participation de la faune sauvage (Ayebazibwe et al. 2010; Bastos et al. 2000; Bengis et al. 1986; Thomson 1996; Thomson, Vosloo, et Bastos 2003; Vosloo et al. 2002).

Une caractéristique spécifique de l'épidémiologie de la fièvre aphteuse en Afrique est la présence des trois sérotypes du virus de la fièvre aphteuse des territoires sud-africains (SAT 1, 2 et 3), qui sont maintenus au sein de la population des buffles d'Afrique (*Syncerus caffer*). En Afrique australe, l'implication de ces buffles africains dans l'épidémiologie de la fièvre aphteuse a fait l'objet d'études approfondies (Brito et al. 2016; Jori et al. 2016). Par conséquent, dans cette sous-région, il a été démontré que les contacts entre buffles africains et

bovins sont principalement responsables de la plupart des foyers de fièvre aphteuse chez les bovins (Brito et al. 2016; Hargreaves et al. 2004; Jori et al. 2016, 2009; Phologane et al. 2008).

Inversement, dans d'autres parties de l'Afrique, en particulier en Afrique centrale et occidentale, le rôle que jouent les populations de faune sauvage dans la dynamique de transmission de la fièvre aphteuse n'est pas bien étudié. Cependant, quelques études ont été menées récemment dans ces zones et elles ont fait état de l'implication d'animaux sauvages comme les buffles africains dans la transmission du virus de la fièvre aphteuse aux animaux domestiques (Dhikusooka et al. 2016; Antonello Di Nardo et al. 2015; Wekesa et al. 2015). En effet, il a été démontré que de multiples sérotypes du virus de la fièvre aphteuse (O, SAT1 et SAT2) circulent chez les ruminants sauvages en particulier chez les buffles d'Afrique peuplant les parcours d'Afrique centrale et de l'Ouest (Di Nardo et al. 2015). En outre, des espèces animales sauvages autres que les buffles africains dont leur rôle a également été démontré dans l'épidémiologie de la fièvre aphteuse (Anderson et al. 1993). C'est le cas de l'Impala (*Aepyceros melampus*) qui est fréquemment infecté et sert d'intermédiaire dans la transmission entre le bétail et les buffles africains. Des nombreuses études ont confirmé son rôle potentiel dans la propagation du virus de la fièvre aphteuse (Brahmbhatt et al. 2012; Hargreaves et al. 2004; Jori et al. 2009; Vosloo et al. 2009). En dehors de l'Afrique, le rôle de la faune sauvage dans la transmission du virus de la fièvre aphteuse a été étudié, mais en termes de prédiction ou de simulation par modélisation (Highfield, Ward, et Laffan 2008; Highfield et al. 2009; Ward, Laffan, et Highfield 2007). Cependant, en 2011 en Europe, des sangliers infectés en provenance de la Turquie, étaient à l'origine d'une épizootie de la fièvre aphteuse en Bulgarie après avoir été en contact avec le bétail bulgare. En effet, il a été diagnostiqué pour la première fois la fièvre aphteuse sur un sanglier abattu par des chasseurs dans la région de Bourgas, au sud-est de la Bulgarie, près de la frontière avec la Turquie (Languille et al. 2011).

1.7. Diagnostic

1.7.1. Diagnostic clinique

La suspicion de fièvre aphteuse repose sur l'identification de tous les signes cliniques décrits précédemment tels que l'hyperthermie, l'hypersalivation, la boiterie, l'apparition d'aphtes et la mortalité brutale chez les jeunes animaux, mais la confirmation par le laboratoire est

essentielle. Le diagnostic clinique est difficile en raison de l'absence de signes pathognomoniques de la maladie (Chisembele 2005; Morgan et al. 2014). En effet, il faut soupçonner la fièvre aphteuse lorsque la salivation et la boiterie surviennent simultanément chez les animaux sensibles et lorsqu'une lésion vésiculeuse est observée ou soupçonnée. Habituellement, les vésicules apparaissent dans la cavité buccale, sur les pieds et sur les glandes mammaires (Barnett et Cox 1999). Les vésicules peuvent également se produire à d'autres endroits comme les narines et les points de pression sur les membres, surtout chez les porcs. La fièvre précède souvent d'autres signes cliniques. Par conséquent, les animaux fébriles doivent être examinés avec soin. En plus de ces signes cliniques, la maladie présente une morbidité élevée qui peut atteindre 100% et dans les fermes laitières, la production laitière peut être considérablement réduite (Barasa et al. 2008). Dans certains cas extrêmes, la mort peut survenir. La mortalité par myocardite multifocale est le plus souvent observée chez 5% des jeunes animaux (Alexandersen et Mowat 2005; Arzt et al. 2011). Néanmoins, les signes cliniques ne suffisent pas à eux seuls à établir un bon diagnostic, car d'autres maladies vésiculaires, notamment la maladie vésiculeuse du porc et la stomatite vésiculeuse contagieuse, peuvent produire des signes similaires. Un diagnostic définitif et précis ne peut être établi qu'après de tests de laboratoire.

1.7.2. Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic de laboratoire de la fièvre aphteuse repose sur la mise en évidence (i) du virus infectieux, de ses protéines ou de son génome dans les tissus épithéliaux ou les liquides biologiques (diagnostic virologique et moléculaire), ou (ii) d'anticorps dirigés contre les protéines structurales et non structurales de la capside (diagnostic sérologique). En raison de la nature hautement contagieuse du virus aphteux et de l'importance économique de la fièvre aphteuse, le diagnostic de laboratoire doit être effectué dans un laboratoire agrée qui répond spécifiquement aux exigences relatives aux agents pathogènes du groupe de confinement 3 (niveau de biosécurité 3). Il est très important que les prélèvements provenant des cas suspects soient appropriés et transportés dans les conditions de conservation adéquate ainsi que dans des conditions de sécurité conformes aux réglementations internationales (OIE 2008).

1.7.2.1 Prélèvement d'échantillons

L'échantillon idéal pour la détection du virus de la fièvre aphteuse est le liquide vésiculaire (aspiration de 2 ml à la seringue) si les vésicules ne sont pas rompues, ou bien le tissu épithélial des vésicules récemment rompues. Dans ce cas, 1 à 2 g de tissu épithélial doivent

être prélevés. L'épithélium doit être recueilli et placé dans un milieu de transport (2g de tissus déposé dans 5ml du milieu de transport du virus : glycérine tamponnée au phosphate, pH=7,2-7,6) et de préférence en présence d'antibiotiques (Holveck 2002; OIE 2008). Les échantillons doivent ensuite être envoyés sous régime du froid dans les meilleurs délais. Lorsque le tissu épithélial n'est pas disponible chez les ruminants, par exemple en phase d'incubation ou en phase de convalescence, des échantillons de liquide œsophago-pharyngien sont prélevés à l'aide d'un dispositif de type « Probang » et utilisés pour l'isolement du virus. Ces échantillons doivent être réfrigérés ou congelés immédiatement après prélèvement (OIE 2008, 2017). De plus, d'autres échantillons tels que le lait, le sang avec anticoagulant (tubes EDTA), les raclures de lésions podales, le sérum et certains échantillons post-mortem tels que les ganglions lymphatiques, la glande thyroïde, les glandes surrénales, les reins et le cœur sont également utiles pour confirmer la maladie. Les pays qui n'ont pas de laboratoire national ou régional spécialisé dans le diagnostic de la fièvre aphteuse doivent envoyer les échantillons à un laboratoire de référence de l'OIE pour la fièvre aphteuse. Dans ce cas, les échantillons doivent être soigneusement emballés, étiquetés et transmis au laboratoire par le moyen le plus rapide possible, avec un contrôle approprié de la température et dans le respect des conditions de biosécurité requises (OIE 2008).

1.7.2.2. Diagnostic sérologique

Les tests sérologiques de détection de la fièvre aphteuse sont de deux types : ceux qui détectent les anticorps dirigés contre les protéines structurales et ceux qui détectent les anticorps dirigés contre les protéines non structurales (NSP). Les anticorps dirigés contre les protéines non structurales peuvent être considérés comme des indicateurs de l'infection indépendants du statut vaccinal de l'animal (OIE 2008).

Un test ELISA (NSP-ELISA) qui détecte les anticorps dirigés contre les protéines non structurales du virus de la fièvre aphteuse peut être utilisé pour distinguer les animaux infectés et non infectés, quel que soit leur statut vaccinal, et ainsi aider les pays à prouver l'absence d'infection. Cependant, il existe des preuves expérimentales selon lesquelles certains bovins, vaccinés, puis contaminés par un virus vivant et confirmés comme étant infectés de façon persistante, peuvent ne pas être détectés dans certains tests anti-NSP, ce qui entraîne des résultats faussement négatifs (Brocchi et al. 2006). D'autre part, le manque de pureté vaccinale peut affecter la spécificité diagnostique, car la présence de protéines non structurales contaminantes dans certaines préparations vaccinales peut entraîner des erreurs de

classification chez les animaux qui ont été vaccinés à plusieurs reprises, les anticorps contre les protéines non structurales étant un signe d'accomplissement du cycle infectieux. Ainsi, des tentatives d'amélioration de ce test NSP-ELISA ont été menées et ont conduit au développement de différentes méthodes et techniques telles que les méthodes de détection des anticorps contre les polyprotéines 3AB ou 3ABC. La détection des anticorps dirigés contre les protéines non structurales 3ABC du virus de la fièvre aphteuse s'est révélée être une méthode sensible et spécifique pour différencier l'infection de la vaccination (Clavijo, Wright, et Kitching 2004). En effet, ces tests mesurent les anticorps dirigés contre les protéines structurales en utilisant des antigènes produits par des techniques recombinantes dans une variété de systèmes d'expression *in vitro*. Les anticorps dirigés contre les polyprotéines 3AB ou 3ABC sont généralement considérés comme les indicateurs les plus fiables de l'infection par la fièvre aphteuse (Bertram et al. 2018; Couacy-Hymann et al. 2006; Habiela et al. 2010; Kouato et al. 2018).

Les tests pour la détection des protéines structurales sont spécifiques du sérotype et détectent les anticorps produits par des animaux vaccinés ou infectés. Ils comprennent entre autres le test de neutralisation virale (VNT) (Golding, Hedger, et Talbot 1976), le test ELISA de compétition en phase solide (SPCE) (Chénard et al. 2003; Goris et De Clercq 2005; Mackay et al. 2001; Paiba et al. 2004), et le test ELISA de blocage en phase liquide (LPBE) (Hamblin, Barnett, et Hedger 1986). Ces tests sont plus fréquemment utilisés et sont très sensibles. Ainsi, le test VNT nécessite des installations de culture cellulaire, l'utilisation de virus vivants et prend 2 à 3 jours pour fournir des résultats. Les tests ELISA sont des tests de blocage ou de compétition qui utilisent des anticorps polyclonaux spécifiques de sérotypes. Ils sont plus rapides à réaliser et ne dépendent pas des systèmes de culture tissulaire et de l'utilisation de virus vivants. Il peut y avoir des réactions faussement positives à faible titre dans une petite proportion des sérums dans l'un ou l'autre ELISA (OIE 2008, 2017). Le test SPCE est plus spécifique mais aussi sensible que le test LPBE (Mackay et al. 2001). Une approche combinant le dépistage par ELISA et la confirmation des résultats positifs par le test de neutralisation virale minimise l'apparition de résultats faussement positifs. Des sérums de référence pour standardiser les tests sérologiques de la fièvre aphteuse pour certains sérotypes et sous-types sont disponibles au laboratoire de référence de Pirbright en Angleterre (Souley Kouato 2017).

1.7.2.3. Diagnostic virologique et moléculaire

Pour le diagnostic virologique, plusieurs types d'échantillons peuvent être utilisés pour la recherche virale notamment des fragments épithéliaux (lambeaux de parois d'aphtes), du liquide vésiculaire, du sang total et de surnageant de cultures cellulaires infectées.

Avant tout, il faut préparer certains échantillons pour la recherche virale. En effet, certains échantillons sont utilisables sans préparation, mais d'autres non, c'est les cas en particulier des lambeaux d'épithélium qui demandent d'être broyés et clarifiés et du surnageant de cultures cellulaires infectées qu'il est nécessaire de le débarrasser des débris cellulaires. La préparation des échantillons constitue une étape initiale à la réalisation des différents tests de détection du virus de la fièvre aphteuse (détection du virus, d'un antigène viral ou du génome viral) (Relmy et al. 2017).

Ensuite, l'isolement du virus est immédiatement mis en œuvre sur cellules primaires de thyroïde de veau et/ou cellules de lignée démontrées comme sensibles au virus de la FA, en priorité. En parallèle, la détection d'antigènes est réalisée par la méthode ELISA de capture et la détection du génome viral par RT-PCR en temps réel ou conventionnelle.

La figure 5 résume la procédure mise en œuvre du diagnostic virologique et moléculaire.

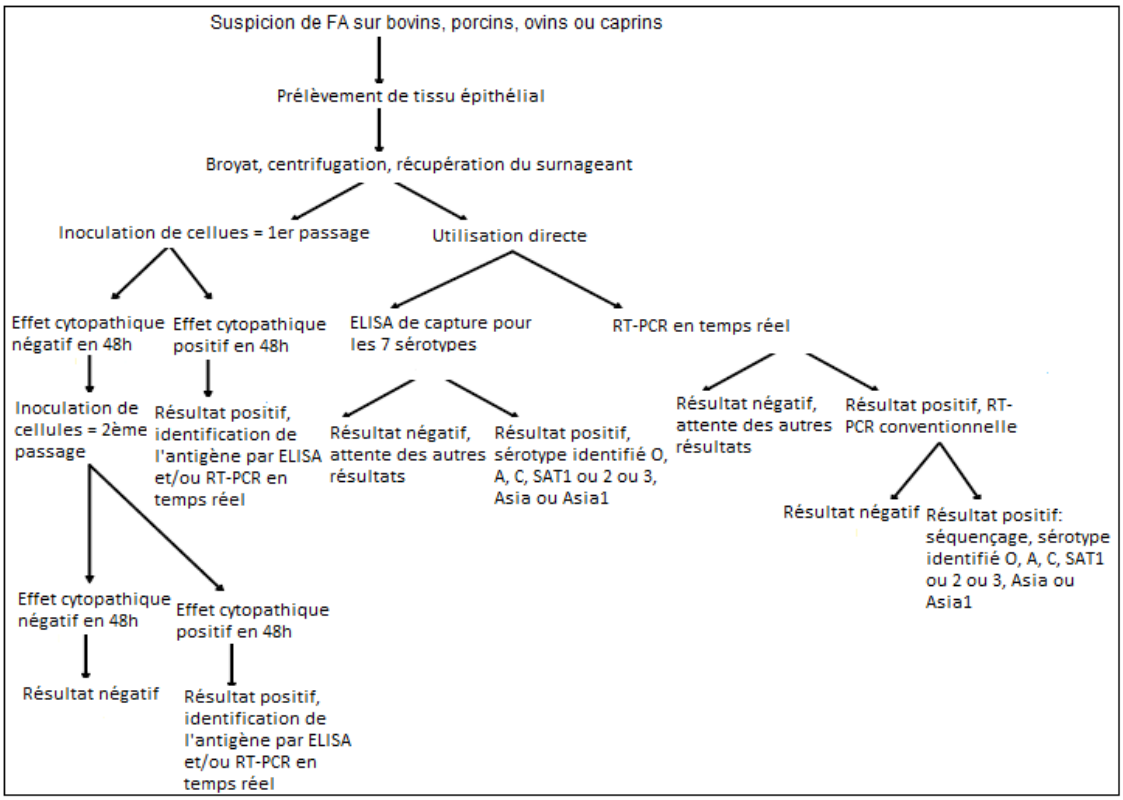


Figure 5 : Méthodes de diagnostic virologique et moléculaire
Source : (Afssa 2009)

a) Isolement viral

L'isolement du virus est effectué à partir de prélèvements par inoculation sur des cultures cellulaires. Les systèmes de culture cellulaire sensibles comprennent les cellules thyroïdiennes primaires de bovins (BTY) et les cellules fœtales ZZ-R 127 de la langue de chèvre. En effet, les cellules primaires de la thyroïde bovine (BTY) sont généralement le système de culture cellulaire le plus sensible pour la détection du virus de la fièvre aphteuse, mais elles sont difficiles à produire, en particulier pour les laboratoires qui effectuent rarement des tests de diagnostic de la fièvre aphteuse et pour ceux des pays où cette maladie est endémique qui ont des problèmes pour se procurer des glandes thyroïdes de veaux négatifs à cette maladie. La lignée cellulaire ZZ-R 127 s'est révélée être un outil sensible, rapide et pratique pour l'isolement du virus de la fièvre aphteuse et une alternative utile aux cellules BTY pour le diagnostic de cette maladie (Brehm et al. 2009).

Par ailleurs, les lignées cellulaires épithéliales établies, telles que les cellules BHK-21 (rein de hamster nouveau-né) et les cellules IBRS-2 (cellules rénales primaires de porc), peuvent également être utilisées, mais sont généralement moins sensibles que les cellules primaires pour détecter les faibles niveaux d'infectiosité. En outre, les cellules IBRS-2 peuvent être utilisées pour pouvoir différencier le virus aphteux du virus de la maladie vésiculeuse du porc (en cas de suspicion chez le porc) et de réaliser l'isolement des souches de virus aphteux qui seraient les plus adaptées aux porcins (OIE 2017). L'isolement du virus est une méthode très sensible, mais laborieuse et coûteuse et il y a un risque de dissémination du virus dans l'environnement. Il convient de noter que l'isolement du virus peut ne pas être utile pour identifier les sérotypes du virus de la fièvre aphteuse en cause dans un pays infecté (Kitching et al. 1989).

La sensibilité des cellules primaires de thyroïde de veau au virus est équivalente à celle de l'inoculation intradermique à l'animal sensible (House et House 1989). Après 48 heures, si aucun effet cytopathique (ECP) n'est observé, un second passage sera réalisé avant que le prélèvement puisse être déclaré négatif, portant le délai de réponse à 96 heures. Si un effet cytopathique est observé, l'identification du virus est alors effectuée à l'aide de la technique ELISA de capture et/ou des techniques de RT-PCR conventionnelle et RT-PCR en temps réel (OIE 2017).

b) Détection de l'antigène par ELISA de capture.

La méthode privilégiée pour la détection de l'antigène viral de la fièvre aphteuse et l'identification du sérotype viral est la méthode ELISA de capture d'antigènes (ELISA sandwich). C'est une méthode qui est réalisée vis-à-vis des sept sérotypes de virus de la fièvre aphteuse, ainsi que du virus de la maladie vésiculeuse du porc et des deux sérotypes du virus de la stomatite vésiculeuse, pour permettre un diagnostic différentiel. Ce test ELISA de capture est pratiqué soit sur le prélèvement d'aphtes, soit sur le surnageant des cultures cellulaires inoculées ayant donné un ECP (Ferris et Donaldson 1992; OIE 2017).

En effet, il s'agit d'un test indirect en sandwich dans lequel différentes rangées de plaques 96 puits sont recouvertes d'antisérums de lapin dirigés contre chacun des sept sérotypes du virus de la fièvre aphteuse. Lorsque l'échantillon d'essai est ajouté, l'antigène (s'il est présent) est piégé par les anticorps immobilisés. Des anticorps spécifiques de détection du virus de la fièvre aphteuse (issus de cobayes) sont ensuite ajoutés, qui à leur tour réagissent avec l'antigène piégé. Les anticorps de cobaye liés sont alors détectés en ajoutant des Ig anti-cochon d'Inde conjuguées à la peroxydase. Ensuite, avec l'ajout d'une solution substrat/chromogène, un produit coloré se développe, indiquant une réaction positive (OIE 2017). Les résultats sont obtenus par spectrophotométrie à une longueur d'onde appropriée (490 nm). Une valeur d'absorbance supérieure à 0,1 au-dessus du bruit de fond indique une réaction positive et permet l'identification du sérotype (Ferris et Donaldson 1992).

Les réactifs nécessaires sont fournis par le laboratoire de référence mondial OIE/FAO de Pirbright (Grande-Bretagne). Ce test permet le diagnostic et le typage du virus, à l'aide de sept antisérums spécifiques en six heures au minimum (Afssa 2009).

c) Détection du génome viral

L'acide nucléique du virus de la fièvre aphteuse (ARN simple brin) peut être détecté à l'aide de tests de réaction en chaîne de la transcription inverse de la polymérase (RT-PCR). La RT-PCR peut être utilisée pour amplifier les fragments de génome du virus de la fièvre aphteuse dans les échantillons de liquide vésiculaire, de tissu épithélial, de lait, et de liquide oesophago-pharyngé et même du sang. Il existe deux méthodes pour la détection de l'ARN génomique, il s'agit de la RT-PCR conventionnelle et la RT-PCR en temps réel (OIE 2008).

La RT-PCR conventionnelle est réalisée pour la détection Pan FA en utilisant des amorces codant respectivement pour la polymérase 3D (Laor et al. 1992), pour la partie non traduite du génome (IRES) (Reid et al. 2000). Elle est aussi réalisée pour faire le typage et le séquençage du virus en ciblant la région codant pour la protéine structurale VP1 (Amaral-Doel et al. 1993; Beck et Strohmaier 1987).

La RT-PCR en temps réel peut également être réalisée d'une part pour la détection Pan FA qui cible les deux régions génétiquement stables qui permettent la détection des sept types viraux : la séquence codant pour la polymérase 3D (Rasmussen et al. 2003) et la séquence codant pour la partie non traduite du génome (IRES) (Reid et al. 2002). D'autres part, elle est réalisée aussi pour faire le sérotypage du virus en ciblant la région codant pour la VP1.

Des progrès significatifs ont été réalisés pour améliorer les performances de ce test moléculaire. En effet, des amorces spécifiques ont été conçues pour distinguer les sept sérotypes (Vangrysperre et De Clercq 1996). L'application des techniques de biologie moléculaire, telles que l'amplification par PCR et le séquençage des nucléotides, a grandement contribué à une meilleure compréhension de l'épidémiologie de la fièvre aphteuse. Ces techniques ont permis de comparer et d'établir la phylogénie des souches du virus de la fièvre aphteuse. Dans les études épidémiologiques du virus de la fièvre aphteuse, le séquençage nucléotidique de la région codant la VP1 a été largement utilisé pour déterminer les relations entre les isolats de terrain. Dans les pays d'Afrique Subsaharienne, peu de laboratoires nationaux utilisent le diagnostic moléculaire en routine (Namatovu et al. 2015).

1.8. Épidémiologie moléculaire

L'épidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse repose sur la comparaison des différences génétiques entre les virus. Ainsi, des arbres phylogénétiques montrant la relation génomique entre le vaccin et les souches de terrain pour les sept sérotypes basés sur des séquences dérivées de la région génomique 1D (codant pour la protéine virale VP1) ont été publiés (Knowles et Samuel 2003). La comparaison de séquences entières du génome peut fournir une plus grande discrimination entre les virus étroitement apparentés et aider à recréer les voies de transmission entre les fermes à l'intérieur des foyers (Cottam et al. 2008).

Le degré de variabilité de l'espèce virale et de la région génomique analysée est donc un paramètre important de l'analyse phylogénétique. L'utilisation combinée de l'épidémiologie moléculaire et descriptive est fortement requise pour établir l'évolution temporelle et

géographique du virus de la fièvre aphteuse (Thiry, Baranowski, et Domingo 2001). Au cours des 30 dernières années, la compréhension de l'épidémiologie de la fièvre aphteuse a progressé. Cela a été possible grâce à l'application des techniques de biologie moléculaire de l'amplification de l'ARN du virus par RT-PCR, suivie du séquençage nucléotidique et de l'analyse phylogénétique (Jamal et Belsham 2018; OIE 2017)).

Dans la pratique, les isolats du virus de la fièvre aphteuse sont caractérisés par la séquence nucléotidique de la région génomique codant pour la protéine VP1. Ces isolats sont donc comparés en fonction du pourcentage de différences nucléotidiques dans cette partie restreinte du génome. L'analyse phylogénétique de la région VP1 du virus de la fièvre aphteuse a été utilisée de manière extensive pour étudier l'épidémiologie moléculaire de la maladie dans le monde entier. Ces techniques ont permis de déterminer les relations génétiques entre les différents isolats du virus de la fièvre aphteuse, la répartition géographique des lignées et des génotypes, l'établissement de topotypes liés génétiquement et géographiquement et de retracer la source du virus (Bastos et al. 2003; Sahle et al. 2007; Sangare et al. 2004; Kouato et al. 2018).

Des différences de séquence nucléotidique de 30 % à 55 % du gène VP1 ont été obtenues entre les sept sérotypes de la fièvre aphteuse, tandis que différents sous-groupes (génotypes, topotypes) ont été définis sur la base de différences de 15 % à 20 % (Knowles et Samuel 2003). Cependant, même si à l'intérieur des sérotypes du virus de la fièvre aphteuse, les topotypes restent constants dans le temps, il a été démontré que des virus appartenant à plusieurs topotypes peuvent être présents dans une région particulière (Sahle et al. 2007). Par conséquent, le concept de topotype doit être considéré avec prudence (Thiry, Baranowski, et Domingo 2001). Bien que la notion de topotype soit liée à une grande relation génétique entre isolats, il n'exclut pas que des virus d'un même topotype puissent circuler dans plusieurs régions différentes (Bachanek-Bankowska et al. 2016; Knowles et al. 2016, 2005; Valarcher et al. 2009).

1.9. Lutte contre la fièvre aphteuse

Les moyens de lutte contre la fièvre aphteuse en Afrique doivent être basés sur des cycles épidémiologiques spécifiques de la maladie. En effet, la fièvre aphteuse en Afrique Subsaharienne a deux situations distinctes mais qui se chevauchent. La première est la transmission de bétail à bétail, impliquant tous les types de virus de la fièvre aphteuse

prévalant en Afrique. La seconde est la maladie associée à la faune sauvage, en particulier les buffles africains, causée par les trois sérotypes SAT1-3 (Thomson et Bastos 1994).

En général, pour chaque maladie animale, y compris la fièvre aphteuse, le programme de contrôle et/ou d'éradication repose sur trois grands principes : i) la prévention de l'entrée de l'agent pathogène dans la zone, ii) la détection et le diagnostic précoces et iii) la mise en œuvre rapide des mesures de lutte et de gestion des foyers (Souley Kouato 2017). Cependant, le choix de la politique de lutte adoptée par un pays donné dépend de son statut au regard de la fièvre aphteuse, des risques d'incursion de la maladie et de son économie (Ahl et al. 1990).

La fièvre aphteuse étant très contagieuse, les mesures prises par un éleveur influent sur le risque de propagation de la maladie sur d'autres élevages. Une coordination à l'intérieur des pays et entre les pays est donc nécessaire pour contrôler la propagation de la fièvre aphteuse. Partant du principe que la lutte ne peut être que mondiale, l'OIE et la FAO ont lancé en 2009 un programme de contrôle progressif pour la fièvre aphteuse appelé « PCP-FMD » (Progressive Control Pathway), une offensive majeure contre la fièvre aphteuse en vue d'une lutte mondiale progressive (Sumption, Domenech, et Ferrari 2012).

Ainsi, en juin 2012, Le programme « PCP-FMD » a été adopté lors de la conférence mondiale sur la lutte contre la fièvre aphteuse à Bangkok en Thaïlande. Ce programme comprend 5 étapes de zéro à cinq (Figure 6) (Sumption, Domenech, et Ferrari 2012). Ces étapes guident la planification et la gestion des efforts visant à accroître le niveau de contrôle jusqu'au point où une demande de reconnaissance officielle de l'absence de la fièvre aphteuse est présentée à l'OIE.

Actuellement, l'OIE ne reconnaît que trois catégories de pays en ce qui concerne la fièvre aphteuse (Maree et al. 2014) :

i) les pays non indemnes de fièvre aphteuse (stades 0-3 du PCP) ;

ii) les pays ou zones indemnes de fièvre aphteuse pratiquant la vaccination (stade 4 du PCP) ;

iii) les pays ou zones indemnes de fièvre aphteuse où aucune vaccination n'est effectuée (stade 5 du PCP).

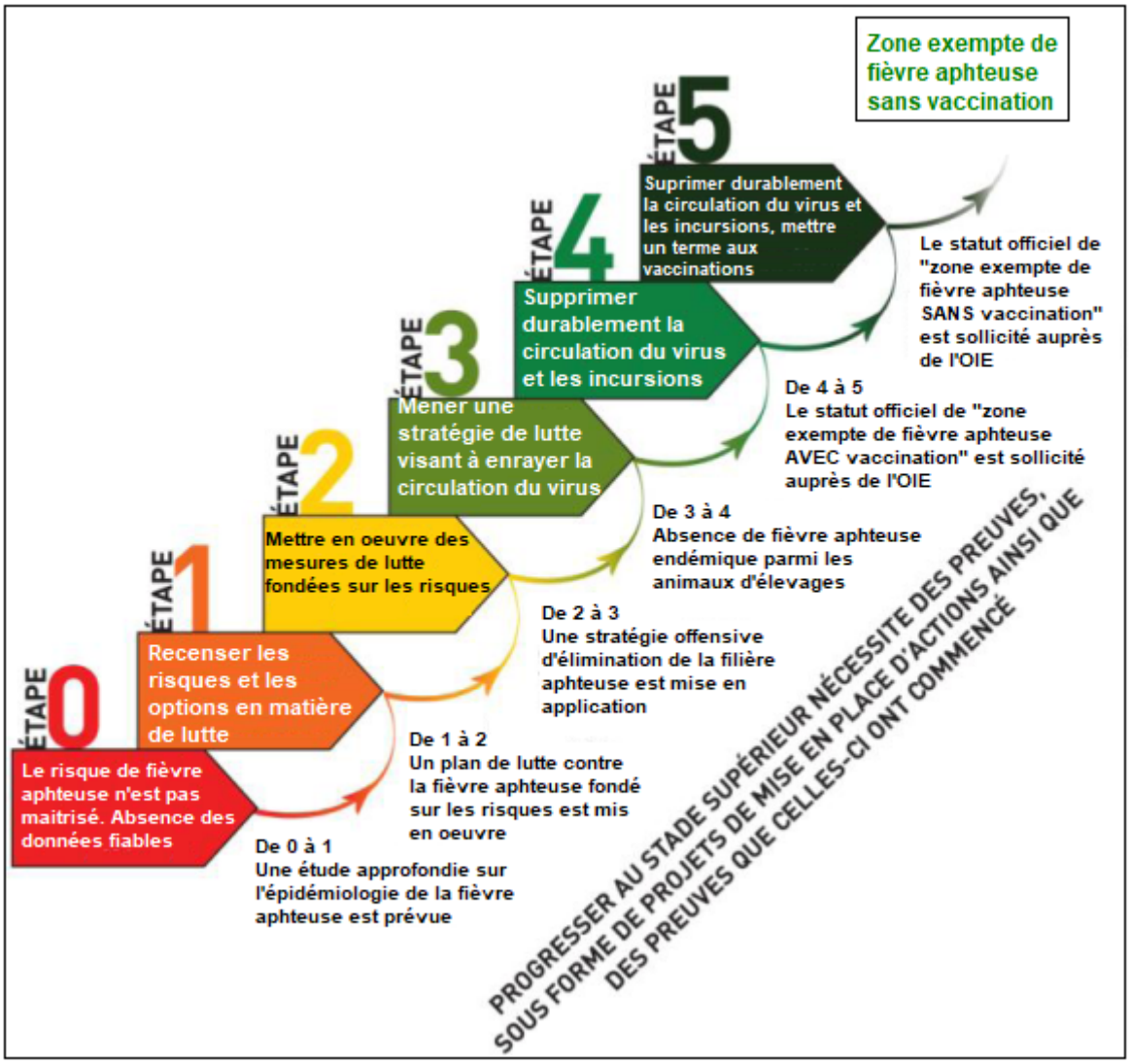


Figure 6 : Programme de contrôle progressif pour la fièvre aphteuse
Source : (Sumption, Domenech, et Ferrari 2012)

Les différentes régions de l'Afrique Subsaharienne sont à différents stades de développement de la lutte contre la fièvre aphteuse et sont donc confrontées à de multiples défis et priorités en termes de lutte contre la fièvre aphteuse. Malheureusement, le Tchad, ainsi que plusieurs pays d'Afrique centrale sont au stade zéro du PCP-FMD (Maree et al. 2014).

Cependant, dans la lutte contre la fièvre aphteuse, il y a deux approches principales qui sont fréquemment utilisées pour contrôler la maladie, il s'agit notamment de la prophylaxie sanitaire et de la vaccination.

1.9.1. Prophylaxie sanitaire

Il est en effet nécessaire de connaître les zones enzootiques pour s'en protéger en gérant le risque sanitaire lié aux échanges à travers une législation adaptée. Les importations d'animaux vivants ou de produits d'origine animale provenant de pays infectés ou susceptibles de l'être doivent être prohibées. Ensuite, en cas d'apparition de la maladie, il faut avoir un dispositif d'intervention qui doit permettre de mobiliser rapidement des moyens en matériels et en personnels capables d'assurer dans les meilleurs délais la neutralisation du premier foyer. Ainsi, l'abattage sanitaire est une stratégie reconnue et éprouvée pour l'élimination rapide d'une maladie exotique introduite ou d'une autre maladie émergente du bétail (Geering, Penrith, et Nyakahuma 2013). Cependant, pour réussir la politique d'abattage sanitaire, il y a des éléments cruciaux à prendre en compte. Ces éléments sont entre autres :

- la définition des zones infectées ;
- l'imposition de mesures de quarantaine et de restrictions aux déplacements du bétail ;
- l'abattage immédiat de tous les animaux réceptifs, soit sur les lieux infectés et de contact dangereux, soit dans l'ensemble de la zone infectée ;
- l'élimination sûre de leurs carcasses et d'autres matériaux potentiellement infectés ;
- la désinfection et nettoyage des locaux infectés ;
- le maintien des locaux dépeuplés d'animaux sensibles pendant une période appropriée.

L'abattage sanitaire peut être utilisé seul, comme au Royaume-Uni en 2001 (Leforban 2002), ou en combinaison avec la vaccination. La stratégie utilisée pour lutter contre l'épizootie de fièvre aphteuse qui s'est produite au Royaume-Uni en 2001 a suscité un débat plus large sur la politique de lutte contre la maladie par l'abattage sanitaire (Sutmoller et Olascoaga 2002; Thompson et al. 2002).

En outre, la possibilité d'une augmentation importante des coûts doit être envisagée lorsqu'un pays décide d'arrêter la vaccination et de lancer une politique d'abattage sanitaire. Cela nécessitera la création d'un fonds de prévoyance de sorte qu'en cas d'épidémie, les éleveurs touchés par la maladie seront intégralement et rapidement indemnisés, faute de quoi la politique ne sera pas maintenue. Par conséquent, dans les pays en développement, y compris la plupart des pays africains, le contrôle par abattage sanitaire s'est avéré très coûteux et, à

certains égards, irréaliste (Thompson et al. 2002). Dans ces pays en développement, le contrôle de la fièvre aphteuse passe donc principalement par une vaccination régulière en conjonction avec le contrôle des mouvements d'animaux pour prévenir la propagation du virus.

1.9.2. Vaccination

La vaccination est l'un des principaux outils éprouvés pour mieux gérer ou éliminer la maladie lorsqu'elle est correctement appliquée et que la qualité et la composition du vaccin sont satisfaisantes. Pour la fièvre aphteuse, des vaccins (souvent trivalents) utilisant des virus inactivés sont commercialisés (actifs sur les souches O, A et SAT 2). Selon le type d'adjuvant, les vaccins peuvent être sous forme aqueuse ou sous forme huileuse. Les vaccins aqueux utilisent des préparations adsorbées sur hydroxyde d'aluminium et adjuvées par la saponine, ils sont couramment utilisés chez les bovins, les ovins, les caprins et les buffles, mais ne sont pas efficaces chez les porcs. Tandis que les vaccins à base d'huile sont utilisés chez toutes les espèces (Holveck 2002; Souley Kouato 2017).

Le programme de vaccination recommandé comprend un traitement primaire à deux doses pour obtenir 6 mois de protection, la primovaccination étant effectuée à partir de l'âge de 4 mois. Chez les jeunes, le premier rappel est recommandé 4 à 5 mois plus tard. L'immunité humorale prend une semaine pour être décelable, le maximum est atteint en 3 ou 4 semaines et peut durer 2 ou 3 ans mais en général, elle est très faible au bout d'un an. Les rappels sont annuels (Holveck 2002).

Les souches vaccinales doivent être antigéniquement similaires à celles qui sont impliquées dans l'éclosion de la maladie. Le vaccin doit contenir tous les sérotypes qui circulent sur le terrain et doit induire une immunité protectrice contre chaque composant du vaccin (Ringa et Bauch 2014). En effet, en situation enzootique, l'efficacité de la vaccination peut varier considérablement en fonction de facteurs tels que la durée de l'immunité naturelle et vaccinale (généralement 6 mois) et le taux de réintroduction de la maladie. Dans une zone enzootique, l'objectif principal de la vaccination contre la fièvre aphteuse est de réduire l'incidence globale de la maladie. La vaccination doit être mise en œuvre dans le cadre d'un programme de contrôle qui comprend d'autres mesures zoo-sanitaires (Nicholls et al. 1983).

En Afrique, les programmes de lutte contre la fièvre aphteuse en Afrique australe et notamment au Botswana, illustrent le succès d'une application stricte des mesures zoo-

sanitaires à l'appui d'un programme de vaccination. Dans ce pays, le programme de contrôle est basé sur la division du pays en zones à risque et la mise en œuvre d'une surveillance appropriée des maladies, l'identification du bétail et la restriction et le contrôle des déplacements dans les différentes zones à risque. La vaccination est effectuée dans les zones de vaccination désignées. La situation de l'Afrique australe est très différente de celle des autres régions, en particulier celle de l'Afrique centrale. Le système d'élevage pastoral dans la région soudano-sahélienne, qui se caractérise par des mouvements de bétail sur de longues distances en raison de la transhumance ou du commerce, a été pointé comme l'une des principales sources de propagation de la fièvre aphteuse (Bronsvoort et al. 2004; Rweyemamu et al. 2008; Ularamu et al. 2016; Kouato et al. 2018). En effet, il est de coutume pour les éleveurs des pays saheliens, de déplacer des centaines de milliers de têtes de bétail dans un délai très court. Il serait impraticable d'établir des stations de quarantaine capables de contenir un grand nombre d'animaux dans la même zone (Sangare et al. 2004).

Dans la plupart des pays en développement où la fièvre aphteuse est surtout enzootique, d'autres défis se sont posés quant à l'efficacité de la vaccination dans la lutte contre la fièvre aphteuse. Les contraintes peuvent être résumées comme suit : restrictions financières et infrastructurelles, politiques inadéquates, manque de sensibilisation du public et manque d'engagement (Knight-Jones et Rushton 2013; Paton, Sumption, et Charleston 2009; Sinkala et al. 2014).

Chapitre 2. Situation de la fièvre aphteuse au Tchad

2.1. Caractéristiques générales du Tchad

2.1.1. Situation géographique

Pays enclavé au cœur de l'Afrique, le Tchad couvre une superficie de 1 284 000 km^2. Il est le plus grand des pays de la Communauté Economique et Monétaire de l'Afrique Centrale (CEMAC) (Figure 7). Il s'étend entre les 8^e et 23 ^{e} degrés de latitude Nord et les 4 ^{e} et 24 ^{e} degrés de longitude Est. Le Tchad s'étend sur 1700 km du Nord au Sud et 1000 km d'Est en Ouest. Le pays a des frontières communes avec la Libye au Nord, le Niger, le Nigeria et le Cameroun à l'Ouest, le Soudan à l'Est et la République centrafricaine au Sud. Le port le plus proche par lequel le pays importe et exporte des marchandises est celui de Douala au Cameroun, situé à environ 1700 km de la capitale N'Djamena (INSEED 2008). Sur le plan démographique, la population tchadienne a été estimée à 15 162 044 d'habitants, dont environ 80 % de ruraux, avec un taux de croissance annuel de 3,5 % (INSEED 2018).

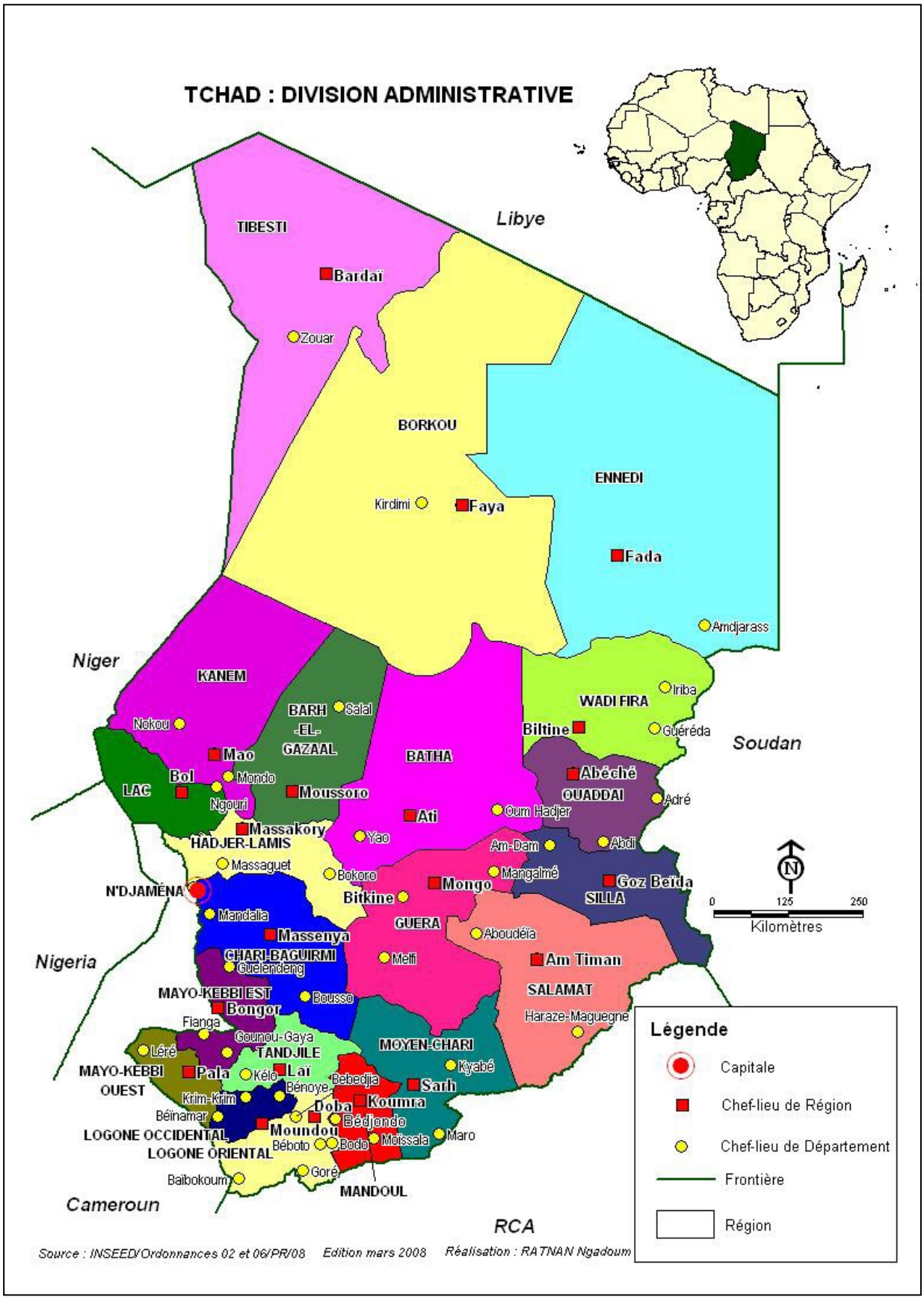


Figure 7 : Carte administrative du Tchad
Source : (INSEED 2008)

2.1.2. Zones bioclimatiques

En raison de sa grande latitude, le Tchad présente une importante variation climatique avec un passage progressif du Sud au Nord d'un climat tropical semi-humide à un climat désertique qui se caractérise par une alternance de deux saisons : une longue saison sèche (d'octobre à mai) et une saison des pluies (de juin à septembre). Il existe trois principales zones agro-écologiques au Tchad (Figure 8) : zone saharienne (60,7%) ; zone sahélienne (29,1%) et zone soudanienne (10,2%) (Toutain et Touré 2000).

2.1.2.1. Zone saharienne

Cette zone qui occupe plus de la moitié du territoire national (60,7%) est caractérisée par une très faible pluviométrie, inférieure à 200 mm/an. Le climat exclut toute possibilité de développement des cultures sèches. Les rares points d'eau se rencontrent dans les oasis et dans les vallées des massifs montagneux où se pratique une agriculture de type "oasien", c'est à dire basée sur le palmier dattier et les cultures irriguées. L'aridité de ce milieu et le caractère erratique des précipitations limite la disponibilité en eau et en pâturage pour le bétail. Toutefois, la zone recèle des gisements de minéraux utilisés par les animaux (cures salées). Le système d'élevage dans cette zone est nomade, centré principalement sur le dromadaire (le quart de l'effectif national) et les petits ruminants. Quelques têtes de bovins sont toutefois recensées dans cette zone (Toutain et Touré 2000).

2.1.2.2. Zone sahélienne

La zone sahélienne couvre 29,1% du territoire. Elle reçoit une pluviosité annuelle de 200 à 800 mm répartie sur trois mois. La végétation est une steppe herbacée ou arbustive à base de plantes herbacées annuelles et d'épineux. L'agriculture et l'élevage se côtoient et sont partiellement associés. Le mode de conduite des troupeaux est fondé sur une mobilité animale saisonnière. La transhumance est ici une pratique séculaire. La zone est caractérisée par un disponible fourrager important en saison des pluies et en début de saison sèche. Le système agricole est centré sur les cultures pluviales de mil pénicillaire, de sorgho et de l'arachide ainsi que sur la culture de sorgho de décrue (appelé localement « *berbéré* ») dans les bas-fonds. L'espace pastoral est largement disponible mais les ressources sont menacées de dégradation par les activités anthropiques. Il en résulte une compétition accrue entre agriculteurs et éleveurs pour l'accès aux ressources, ce qui engendre souvent des rapports conflictuels (Toutain et Touré 2000).

2.1.2.3. Zone soudanienne

La zone soudanienne couvre 10,2% de la superficie du pays. Elle concentre près de la moitié de la population tchadienne. Le climat est de type tropical subhumide, marqué par une pluviosité annuelle dépassant 700 mm et pouvant atteindre 1200 à 1400 mm (Toutain et Touré 2000). La végétation est de type savane arborée à base de graminées vivaces. Les activités agricoles y sont prédominantes. L'élevage porte sur de nombreuses espèces, dont les bovins, les caprins, les ovins et aussi les porcins. Les éleveurs transhumants venant des régions du centre du pays séjournent dans cette zone en saison sèche. Nombreux parmi ces éleveurs se sédentarisent tout en pratiquant la transhumance de faible amplitude (Réounodji, Tchaouna, et Banzhaf 2005). Les rapports sociaux conflictuels entre éleveurs transhumants et agriculteurs, les conditions sanitaires difficiles liées à la présence de glossines ou mouches tsé-tsé (mouches hématophages) et l'occupation anarchique de l'espace pastoral constituent les problèmes majeurs de l'élevage dans cette zone soudanienne.

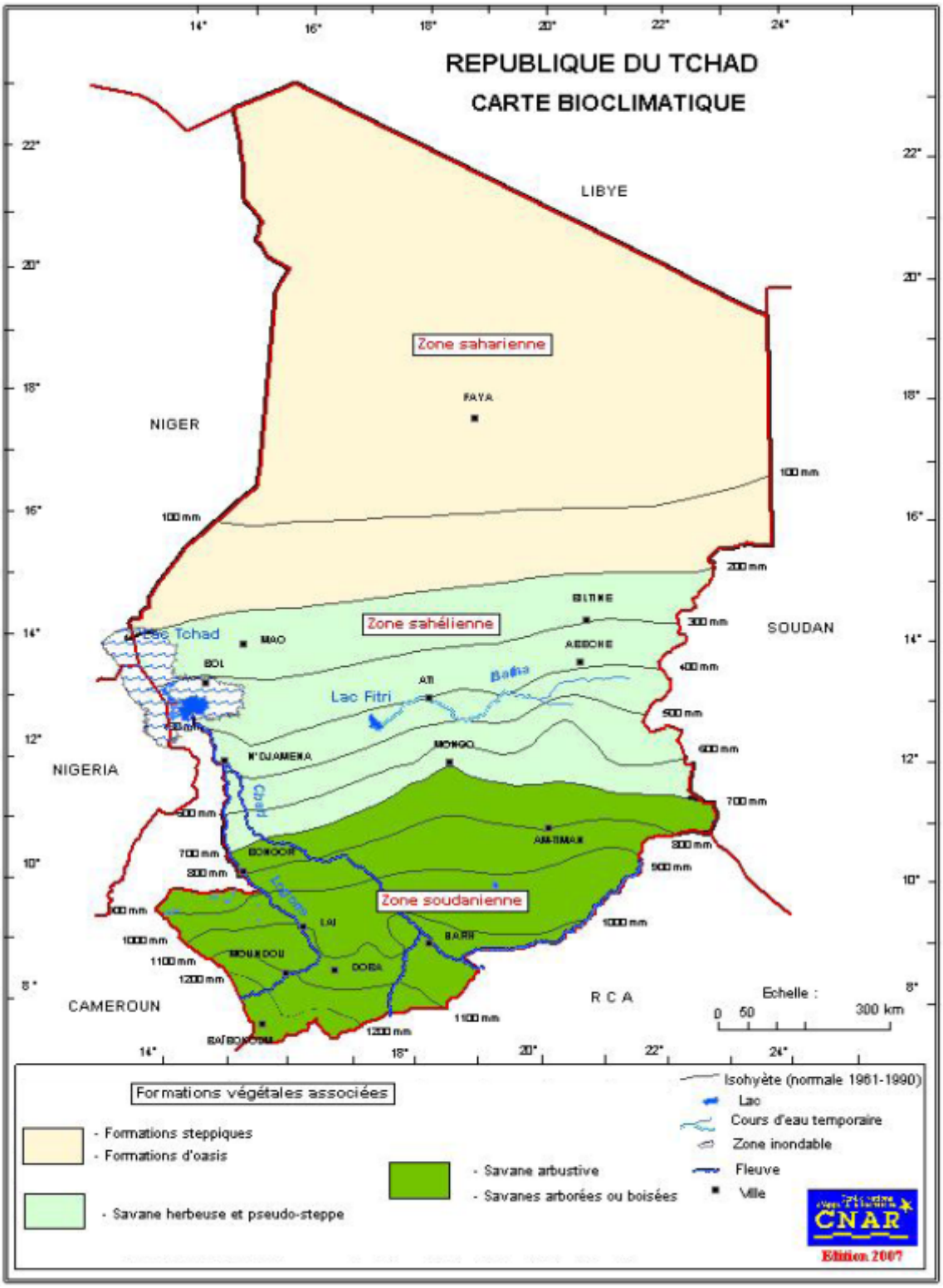


Figure 8 : Carte bioclimatique du Tchad
Source : (CNAR 2007)

2.1.3. Elevage

2.1.3.1. Importance de l'élevage

L'élevage est une composante essentielle de l'économie tchadienne et joue un rôle majeur dans la sécurité alimentaire. Il représente 53% du produit intérieur brut (PIB) du secteur primaire pour une contribution de 18% au PIB national et assure un revenu direct ou indirect à 40% de la population. De plus, sans pétrole, le bétail serait le principal produit d'exportation, soit plus de 51%, devant le coton, avec une valeur estimée à 123 milliards de francs CFA (Communauté Financière Africaine). Selon le Ministère de l'élevage, le cheptel ruminant représente à lui seul un capital de plus de 1 000 milliards de francs CFA. La valeur de la production de viande et de lait est estimée à 155 milliards de francs CFA (Ahmat 2014). En réalité, ces chiffres sont toujours sous-estimés car toutes les implications de l'élevage ne sont pas prises en compte. Par exemple, sa fonction d'épargne est particulièrement mal connue malgré son importance et le rôle joué par les animaux dans les échanges commerciaux, sociaux ou matrimoniaux. Le bétail est un investissement à long terme qui rapporte de l'intérêt (veaux, lait) et du capital. La part des animaux de trait n'est souvent pas prise en compte, ni celle de la valorisation de leur fumier.

2.1.3.2. Effectif du cheptel

Le cheptel a été estimé lors du Recensement Général de l'Elevage de 2014 à plus de 94 millions de têtes, dont 24,8 millions de bovins (26,4%), 26,5 millions d'ovins (28,2%), 30,8 millions de caprins (32,7%), 1,7 million de porcins (1,8%) et 10,5 millions d'autres espèces (camelins, équins et asins) (10,9%) (M.E 2015).

2.1.3.3. Races exploitées sensibles à la fièvre aphteuse

Les races animales exploitées sensibles à la fièvre aphteuse (FA) au Tchad sont :

a) Les races bovines :

Les races bovines sont constituées d'une part des zébus (*zébu arabe*, *zébu Peul, zébu M'bororo et zébu Bokolodji*) et d'autre part des taurins représentés par deux races (*Kouri* et *Toupouri*) (LRVZ 2003).

b) Les races des petits ruminants :

Elles sont composées des races ovines et caprines :

- Les races ovines : sont constituées notamment du *mouton Arabe (Black maure, Mouton maure à poils longs)*, du *mouton Peul*, du *mouton du Mayo-Kebbi (mouton Poulfouli, mouton de l'Ouest*), du *mouton Kirdimi (mouton nain du sud, mouton Djallonké, mouton Kirdi)* et des *moutons Kababich* et *Barbarin (mouton Fezzanais)* (LRVZ 2003).

- Les races caprines : elles sont composées de deux races qui sont : la *Chèvre du Sahel (chèvre Arabe)* et la *Chèvre Kirdimi* (*chèvre naine du Sud, chèvre Kirdi, chèvre Djallonké*) (LRVZ 2003).

c) Les races porcines :

Les porcs élevés au Tchad résultent de croisements entre plusieurs races exotiques (*Limousin, Large White, Yorkshire, Berkshire*) (Logténé, Koussou, et Kaboré-Zoungrana 2006).

2.1.3.4. Systèmes d'élevage

Les pratiques d'élevage au Tchad reposent sur plusieurs systèmes de production, dont les plus importants sont les systèmes pastoraux, les systèmes agropastoraux, les systèmes agricoles et les systèmes urbains et péri urbains.

a) Les systèmes pastoraux

Ces systèmes concernent 80% des effectifs bovins. Ils sont situés dans les zones arides et semi-arides du pays. Dans ces systèmes, les disponibilités alimentaires commandent les mouvements des troupeaux qui définissent des modes de production nomades ou transhumants. Les espèces utilisées sont des ruminants (bovins, ovins, caprins et camelins). La mobilité qui est à la base de ces systèmes permet de tirer le meilleur parti des conditions de pâture et de disponibilité en eau, variables selon la région et la saison. La production laitière occupe une place centrale dans ces systèmes et permet la subsistance du groupe par l'autoconsommation ou grâce aux échanges. Les systèmes pastoraux sont caractérisés par deux sous-systèmes (nomade et transhumant) (Toutain et Touré 2000) :

- *Nomade* : c'est un système de production caractéristique des régions désertiques. Il se caractérise par un mode de résidence et d'occupation de l'espace fondé sur la mobilité. Les éleveurs nomades qui effectuent des mouvements saisonniers, n'ont pas de points d'attache fixes et suivent des itinéraires variant d'une année à l'autre. Dans ce système, les mouvements

sont perpétuels, motivés par la recherche des ressources alimentaires dispersées et aléatoires. Le système nomade est centré sur l'élevage de dromadaires, mais aussi de petits ruminants. Le nomadisme bovin n'est pas très répandu au Tchad, toutefois, il est pratiqué par les pasteurs M'bororo (Toutain et Touré 2000).

- *Transhumant* : dans ce système, les éleveurs effectuent saisonnièrement des mouvements sur des itinéraires relativement constants ou qui peuvent évoluer d'une année sur l'autre. Toutain et Touré 2000 ont rapporté que la région de transhumance, peut être commune à plusieurs groupes d'éleveurs. Des règles d'entente traditionnelles, toujours renégociables, régissent le plus souvent l'accès aux ressources, mais les conflits sont parfois inévitables. Les espèces animales élevées dans ce système se composent principalement de bovins et des petits ruminants.

b) Les systèmes agro-pastoraux

Près de 20% du cheptel sont régis par ce système qui utilise également les résidus agricoles en plus des pâturages naturels. Ces systèmes qui combinent agriculture et élevage pour l'autoconsommation et la vente connaissent une croissance significative, en raison de la poussée démographique et de la sédentarisation récentes des éleveurs mobiles (Réounodji, Tchaouna, et Banzhaf 2005). Le bétail fournit du fumier, de l'énergie et une réserve de capital. Les dynamiques d'intégration de l'agriculture et de l'élevage sont très variables d'une région à l'autre.

c) Les systèmes agricoles

Ils sont caractéristiques des régions agricoles du Sud. Les agriculteurs ne mènent aucune activité spécifique d'élevage. Ils élèvent parfois 2 à 3 bœufs de culture attelée et des petits ruminants. Avec la sédentarisation progressive des éleveurs transhumants dans le sud du pays, la situation semble avoir beaucoup évolué ces dix dernières années. Par effet de contact, de nombreux agriculteurs capitalisent sur le gros bétail (bovin) et se retrouvent avec des effectifs de l'ordre de 10 à 30 têtes par exploitation (Réounodji, Tchaouna, et Banzhaf 2005).

d) Les systèmes urbains et péri -urbains

Le développement des systèmes d'élevage urbains et périurbains est essentiellement une initiative privée où l'élevage représente un investissement sûr et rentable. Ces systèmes concernent essentiellement les élevages de volailles, les porcs et, dans une moindre mesure,

les petits ruminants. Leur existence est dictée par le désir de satisfaire la forte demande en produits d'origine animale dans les villes qui subissent depuis quelques années une urbanisation rapide. Dans ces systèmes, dits « modernes », l'entretien des animaux fait appel aux foins, aux sous-produits agro-industriels et aux intrants vétérinaires importés, ce qui explique les coûts de production plus élevés que dans les systèmes traditionnels (M.E 2016).

2.1.3.6. Mouvements des animaux

La plupart du bétail tchadien fait de la transhumance qui est une migration saisonnière des éleveurs avec leur troupeau. Cette pratique concerne 70% du cheptel bovin. C'est une stratégie d'adaptation qui vise à optimiser l'accès du bétail à l'eau et à des pâturages de qualité pour assurer sa production annuelle (M.E 2016). A la fin de la saison des pluies, les éleveurs transhumants quittent leur terroir d'attache en direction de zones plus aptes à couvrir les besoins nutritionnels de leur cheptel. Une même famille peut se scinder pour emprunter plusieurs axes de transhumance en fonction de son patrimoine, de la taille et de la composition de la famille. La distance parcourue lors de ces déplacements varie d'une saison à l'autre en fonction des conditions climatiques, de la disponibilité et de la répartition des ressources pastorales dans les zones d'accueil. Certains éleveurs les plus mobiles transhument jusqu'à la frontière de la République centrafricaine (RCA) à l'extrême sud du pays.

Outre la transhumance, il y a aussi les mouvements commerciaux de bétail (Barraud et al. 2001). En effet, le Tchad est l'un des grands pays exportateurs du bétail dans la sous-région. Il exporte traditionnellement du bétail vers les grands centres urbains du Nigeria, du Cameroun, de la République centrafricaine, du Soudan et de la Libye (Mian Oudanang et Duteurtre 2002; Guibert et N'garoussa Hamat 2013). Ces mouvements d'animaux constituent l'une des sources de diffusion des maladies hautement contagieuses comme la fièvre aphteuse.

2.1.3.7. Santé animale au Tchad

Les maladies animales restent encore l'une des principales contraintes au développement de l'élevage. La protection sanitaire du bétail a toujours occupé et continue d'occuper une place centrale dans les actions du Ministère de l'élevage au Tchad. Cette protection repose essentiellement sur la lutte contre les pathologies réputées légalement contagieuses notamment la fièvre aphteuse, la peste des petits ruminants, la dermatose nodulaire contagieuse, la brucellose, la tuberculose et les mycoplasmoses des ruminants. Dans cette

optique, l'Etat tchadien avec l'appui des partenaires, a fait beaucoup d'efforts pour renforcer les capacités des services publics vétérinaires à maintenir les acquis obtenus et améliorer la santé animale. Si les grandes épizooties telles que la Peste bovine semblent avoir disparu, il n'en est pas ainsi pour la trypanosomiase, le charbon bactérien, la tuberculose et la brucellose dont la situation n'a pas changé depuis des années. Il s'y ajoute les flambées périodiques de fièvre aphteuse, de dermatose nodulaire et de peste porcine africaine (M.E 2015). La Fièvre aphteuse est régulièrement signalée par les agents du terrain. Des serotypes du virus de la fièvre aphteuse (O, A, SAT1, SAT2) ont été détectés au Tchad mais n'ont pas été encore séquencés (M.E 2015).

2.2. Fièvre aphteuse (FA) au Tchad

2.2.1. Caractéristiques cliniques de la FA

Au Tchad, la FA touche surtout les bovins et dans une moindre mesure les petits ruminants et les porcins. Chez les bovins, les signes qui attirent le plus l'attention des éleveurs sont l'hypersalivation et la boiterie, la localisation mammaire semblant être rare (Gueme et Bidjeh 1998). D'ailleurs, le nom vernaculaire « ab-lissane » et qui veut dire littéralement « affection de la langue » en arabe tchadien, a été attribué à la maladie sans nul doute à cause de l'atteinte de la langue.

En matière de gravité des symptômes, la maladie semble être plus dangereuse pendant la saison sèche (impossibilité de se déplacer et de s'alimenter) que pendant la saison pluvieuse lorsque les pâturages sont verts et abondants. La mort des animaux adultes est rare alors que la maladie est très bien connue des éleveurs comme étant une grande cause de mortalité chez les veaux (Gueme et Bidjeh 1998).

2.2.2. Types de virus et évolution de la maladie

Au Tchad, depuis plus de dix ans, quatre sérotypes du virus de la FA circulent dans le pays, il s'agit des sérotypes : O, A, SAT1 et SAT2 (Gueme et Bidjeh 1998; Ouagal et al. 2010; Ouagal et al. 2017; Ouagal et al. 2018), cependant, ils n'ont pas encore été séquencés. En effet, le sérotype SAT 1 a été le premier sérotype du virus de la FA à être enregistré au Tchad en 1963 lors d'une épizootie dans la région de Ouaddaï située à l'Est du pays à la frontière avec le Soudan. Ce sérotype SAT 1 a été isolé sur cobaye et sur souriceau (IEMVT 1963 cité par Gueme et Bidjeh 1998). Ensuite, le sérotype A a été détecté en 1973 à partir des prélèvements provenant d'Abéché dans la région de Ouaddaï (IEMVT 1973 cité par Gueme et

Bidjeh 1998). Le sérotype SAT 2 a été détecté pour la première fois en 1995 à partir des prélèvements provenant de Massakory au Centre-Ouest du pays par le test ELISA de capture d'antigènes (Gueme et Bidjeh 1998). Enfin, le sérotype O a été détecté en 1998 dans les sérums provenant des quatre localités du Tchad (Abéché, Bol, Mongo et Sarh) par le test ELISA type O (Gueme et Bidjeh 1998).

Bien qu'il soit difficile de situer avec précision le moment d'introduction initiale de la FA au Tchad, mais la maladie a sévi très tôt sur le bétail tchadien. Les éleveurs tchadiens la connaissaient cependant très bien depuis longtemps, même avant 1960. C'est en 1963 que la maladie a été signalée par les services vétérinaires dans la région d'Ouaddaï à l'Est du pays. Cette épizootie causée par le sérotype SAT 1 serait du à des échanges d'animaux infectés en provenance du Soudan, pays frontalier du Tchad (IEMVT 1963 cité par Gueme et Bidjeh 1998), puisque deux ans plus tôt en 1961, le sérotype SAT 1 a été détecté au Soudan. Ensuite, cette épizootie de 1963 s'est alors propagée à l'Ouest du pays, et toucha le Sud du pays. Puis elle submergea le territoire national et franchit les frontières nigériennes et camerounaises avec une morbidité de près de 100% (Gueme et Bidjeh 1998). En effet, au niveau de la frontière avec le Soudan, il a été toujours signalé de nombreux mouvements clandestins du bétail (Gueme et Bidjeh 1998). De plus, dix ans plus tard en 1973, une autre épizootie de fièvre aphteuse a été signalée à Abéché dans la région de Ouaddaï à la frontière avec le Soudan. Ainsi, les services vétérinaires tchadiens ont accusé le bétail soudanais d'être à l'origine de l'introduction initiale de la FA au Tchad (Gueme et Bidjeh 1998).

Les données concernant l'évolution de la maladie depuis ces dates sont issues des rapports annuels du Ministère de l'Elevage (M.E 2015). Ceux-ci sont établis d'après les renseignements fournis par les services vétérinaires déconcentrés. Cependant, certains renseignements sont plus ou moins faussés ou biaisés en raison notamment de l'incertitude liée au dénombrement des foyers totaux ou nouvellement apparus. La distribution géographique de la fièvre aphteuse au Tchad suit surtout les mouvements de la transhumance et de commerce du bétail, qui se déroulent tout au long de l'année. La maladie progresse la plupart du temps à partir du Nord du pays et diffuse dans toutes les régions du Centre puis affecte le reste du pays, préférentiellement les zones situées sur les couloirs de transhumance et les pistes d'acheminement du bétail vers les grands centres de consommation.

2.2.3. Facteurs de diffusion

Le plus grand agent de diffusion de la fièvre aphteuse au Tchad est l'animal domestique infecté cliniquement ou subcliniquement, par suite des mouvements du bétail : transhumance, nomadisme et commerce de bétail. Ce phénomène a été observé dans certains pays tels que l'Ethiopie et le Soudan (Eisa et Rweyemamu 1977; Villon 1973). Généralement, la perméabilité des frontières favorise la propagation de la maladie d'un pays à un autre. C'est ainsi que la majorité des cas de suspicion de la fièvre aphteuse au Tchad apparaissent à la suite des mouvements clandestins du bétail domestique proche de la frontière avec les pays voisins tels que le Soudan, le Cameroun et la République centrafricaine.

La propagation à l'intérieur du pays est assurée en grande partie par les animaux lors de la transhumance. De plus, les retards des déclarations des cas de suspicion fréquemment enregistrés et l'ignorance des éleveurs vis-à-vis des mesures de luttes pour contrecarrer la maladie sont quelques uns des facteurs qui amplifient la diffusion de la maladie sur de longues distances.

Au Tchad, peu d'études ont été effectuées pour déterminer le rôle de la faune sauvage dans la propagation de la maladie. Toutefois, dans une étude réalisée par Di Nardo et al. 2015 sur 696 échantillons des animaux sauvages prélevés entre 1999 et 2003 en Afrique de l'Ouest et du Centre, dont 256 échantillons provenaient de la faune sauvage du Tchad (buffles : 53 et autres espèces animales sauvages : 203), les résultats sérologiques (test ELISA NSP) des échantillons des buffles tchadiens ont montré une séroprévalence de 56,6% (95% IC : 43,3% - 69,1%) (Di Nardo et al. 2015). Par ailleurs, la caractérisation des sérotypes du virus de la fièvre aphteuse testés pour le buffle a révélé la présence d'anticorps dirigés contre les six sérotypes du virus de la fièvre aphteuse testés (O, A, C, SAT1, SAT2, SAT3), bien que des estimations élevées pour le type O et SAT 3 aient été signalées en Afrique centrale (Di Nardo et al. 2015). Enfin, les résultats de cette étude ont confirmé que le virus de la fièvre aphteuse circule dans les ruminants sauvages peuplant les parcours d'Afrique de l'Ouest et d'Afrique centrale et en particulier les buffles, ce qui suggère également que de multiples sérotypes du virus de la fièvre aphteuse pourraient être impliqués, le type O, SAT 2 et SAT 1 étant dominants. Les différences de sérotypes et de risques de propagation entre la faune et le bétail reflètent probablement la géographie régionale, la circulation historique et les différents systèmes commerciaux et d'élevage (Di Nardo et al. 2015).

2.2.4. Importance économique

La fièvre aphteuse a été longtemps considérée comme ayant peu d'importance économique au Tchad, d'une part parce qu'elle sévissait sur des races locales beaucoup plus résistantes à la maladie (avec des pertes asociées moins sévères), d'autre part parce que les services vétérinaires tchadiens se sont surtout préoccupés de problème causé par d'autres maladies beaucoup plus "spectaculaires" telles que la Peste bovine et la Trypanosomose. De cette façon, la place de la fièvre aphteuse dans la pathologie du bétail au Tchad a été marginale et les éleveurs ont toujours tendance à dire que les pertes occasionnées par cette maladie sont insignifiantes. Toutes les hypothèses avancées se basent cependant sur des considérations simplistes, sans chiffres à l'appui. Jusqu'à présent, aucune évaluation économique des pertes dues à la fièvre aphteuse au Tchad n'a pas été effectuée. Certes, la maladie est peu meurtrière, mais toujours est-il que son incidence économique est réelle et non négligeable, en raison des pertes inévitables qu'elle provoque, quoique difficilement chiffrables. Les pertes pourraient être dues à des effets directs et/ou indirects. Les directs sont ceux reflétés par les effets néfastes provoqués par la maladie sur l'animal notamment les pertes de poids, les pertes de lait, les pertes par stérilités et par avortements et la, mortalité chez les jeunes. Eisa et Rweyemamu 1977 ont signalé que le taux de mortalité dû à la fièvre aphteuse chez les veaux peut atteindre 50%. Les lésions sur la bouche provoquent une privation directe de l'animal de la consommation alimentaire, et les lésions des sabots peuvent restreindre le mouvement de l'animal aux pâturages et à l'eau surtout dans des conditions nomades. Les animaux ne peuvent pas travailler, ce qui a des effets indirects sur l'économie du paysan.

Les effets indirects de la fièvre aphteuse sur l'économie animale au Tchad peuvent être observés à travers les pertes auxquelles sont confrontés les commerçants en cas d'épidémie. En effet, ces pertes sont entre autres les frais de quarantaine et la perte de poids des animaux due à la maladie.

De plus, considérant la politique actuelle de l'Etat qui vise à orienter l'élevage bovin vers la production laitière, le problème de la fièvre aphteuse devient beaucoup plus préoccupant. Cette maladie risque donc de compromettre le développement de l'élevage laitier et mérite aujourd'hui l'attention des services vétérinaires tchadiens. Ceci nous amène à aborder le problème de surveillance et de lutte contre la fièvre aphteuse au Tchad.

2.2.5. Surveillance et lutte contre la fièvre aphteuse

2.2.5.1. Surveillance

Un système de surveillance permanent existe déjà au Tchad. En effet, un Réseau d'Epidémiosurveillance des Maladies Animales au Tchad (REPIMAT) a été mis en place depuis 1995 et surveille 10 maladies animales dont la fièvre aphteuse. Le REPIMAT couvre 172 postes de surveillance répartis dans les 19 délégations régionales d'élevage que compte le pays (Ouagal et al. 2008; Dufour et Hendrickx 2011). Ce réseau est fondé sur la circulation des données entre le terrain, la Direction des services vétérinaires (DSV) et l'Institut de Recherche en Elevage pour le Développement (IRED) ex-Laboratoire de recherches vétérinaires et zootechniques de Farcha. Les principaux acteurs du REPIMAT sont les intervenants de terrain tels que les agents enquêteurs, chefs de secteurs d'élevage et délégués régionaux d'élevage. Pour matérialiser la collaboration entre les institutions impliquées, le REPIMAT dispose d'un comité de pilotage, d'un comité technique et d'une cellule d'animation (Figure 9) (Ouagal, Berkvens, et Hendrikx 2004).

Au Tchad, la surveillance de la fièvre aphteuse est donc basée sur une surveillance passive événementielle fondée sur une surveillance clinique des animaux. L'éleveur est le premier maillon de ce réseau. Lors de signes suspects, il fait appel au chef de poste vétérinaire le plus proche qui examine le cas. Mais malheureusement, en raison d'un manque de capacités de laboratoire et d'équipement de diagnostic, le laboratoire national n'est pas en mesure d'analyser des échantillons pour détecter cette maladie. Ainsi, la notification des cas de fièvre aphteuse se limite aux suspicions cliniques et aucun prélèvement complémentaire n'est réalisé en vue de la confirmation du diagnostic au laboratoire (Ouagal 2014).

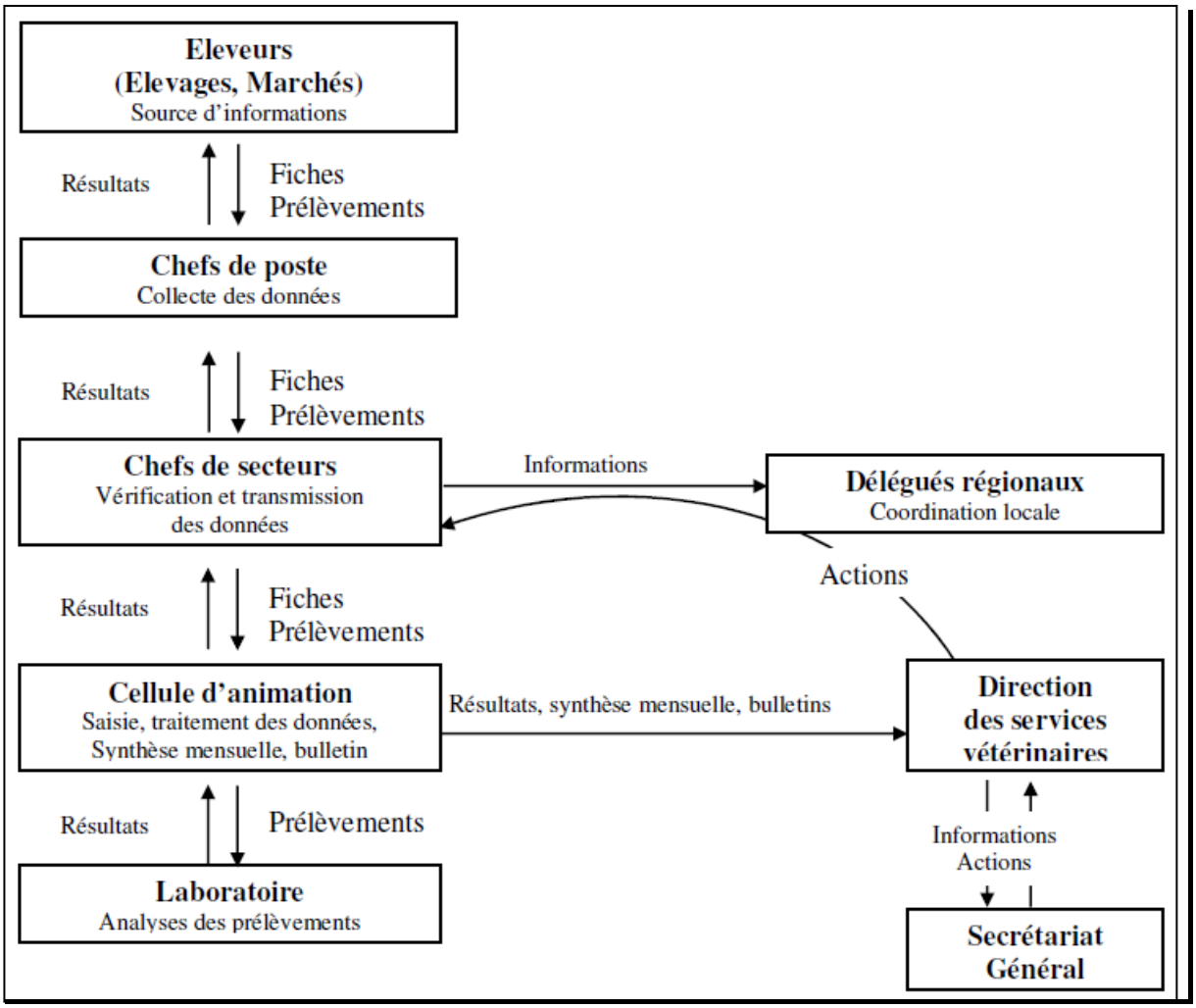


Figure 9 : Schéma de fonctionnement du REPIMAT
Source : (Ouagal, Berkvens, et Hendrikx 2004)

2.2.5.2. Contrôle de la FA

Au Tchad, aucune action concrète n'est menée pour lutter contre la maladie au niveau des frontières. En effet, il y a une insuffisance voire même un manque de stations de quarantaine aux frontières. Le bétail entrant dans le pays à partir des pays voisins échappe à tout contrôle sanitaire. Concernant la vaccination, aucun programme n'est encore adopté. Par ailleurs, en cas d'apparition de la maladie dans le pays, les mesures mises en œuvre se bornent essentiellement à limiter la contagion par le contrôle des mouvements du bétail (interdiction des déplacements d'une région à une autre) et des rassemblements (fermeture des marchés à bétail).

Considérant la pérennisation de la FA au Tchad depuis 1963, nous ne saurions que confirmer l'inefficacité des mesures de lutte. En effet, l'application des mesures sanitaires, ne se fait pas

comme on l'aurait souhaité. Pour le moment, ces mesures sont plus théoriques que pratiques, car il faudrait avant tout disposer d'un personnel technique nécessaire et mobilisable à tout moment pour assurer leur accomplissement, ce qui n'est pas le cas pour le Tchad.

DEUXIEME PARTIE : CONTRIBUTION PERSONNELLE

Chapitre 3 : Objectifs du travail de la thèse

3.1. Objectif général

La fièvre aphteuse est enzootique dans presque tous les pays d'Afrique Subsaharienne dont le Tchad (Couacy-Hymann et al. 2006; Gueme et Bidjeh 1998; Paton, Sumption, et Charleston 2009; Ouagal et al. 2010; Rweyemamu et al. 2008; Bachir et al. 2018). Mais malgré l'endémicité, la capacité du virus à se propager rapidement et l'impact négatif que la fièvre aphteuse pourrait avoir sur le développement de l'élevage, au Tchad, elle n'a pas été considérée comme une maladie prioritaire. Pendant plusieurs années, la maladie a été sous-déclarée et incontrôlée au Tchad, comme dans des nombreux pays de l'Afrique centrale.

Comme maintenant, il y a de plus en plus d'exigence dans la qualité de produits d'origine animale lors de la demande sous-régionale, y compris le bétail vivant, donc pour exporter, il faut se conformer aux normes internationales. La réponse à ces exigences est incontestablement l'amélioration de l'état sanitaire du bétail par le renforcement du système national de surveillance épidémiologique des maladies animales et de contrôler les maladies transfrontières, y compris la fièvre aphteuse (Souley Kouato 2017). Cependant, il existe des preuves que la fièvre aphteuse est présente au Tchad mais elle est peu étudiée, car il a été trouvé quelques données sur la séroprévalence de cette maladie dans la littérature (Gueme et Bidjeh 1998; Ouagal et al. 2017; Ouagal et al. 2018). Ainsi, une meilleure connaissance de l'épidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse est déterminante pour la mise en œuvre de mesures de lutte efficaces.

L'objectif général de cette thèse de doctorat est de **contribuer à l'amélioration des connaissances de l'épidémiologie de la fièvre aphteuse au Tchad pour mettre en œuvre un programme national de lutte contre cette maladie**.

3.2. Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques sont :

- évaluer et cartographier les zones à risque d'occurrence de la fièvre aphteuse en lien avec la mobilité animale ;
- déterminer la séroprévalence et effectuer la caractérisation moléculaire du virus de la fièvre aphteuse ;

- proposer des recommandations pour la lutte contre la fièvre aphteuse et des perspectives pour des études ultérieures dans le pays à prendre en considération.

Tout ceci, implique d'une part, la compréhension de l'analyse qualitative du risque et de la nouvelle approche cartographique du risque en lien avec la mobilité animale ; et d'autre part, de la connaissance des tests sérologiques (tests ELISA FMDV) et des tests virologiques tels que la RT-PCR, le séquençage nucléotidique du virus suivi d'une analyse phylogénétique afin de comprendre l'épidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse au Tchad.

Chapitre 4 : Séroprévalence et caractérisation moléculaire du FMDV au Tchad

Résumé :

Cette étude visait à déterminer la séroprévalence de la fièvre aphteuse chez les ruminants domestiques et à caractériser les souches virales en circulation dans trois régions du Tchad (Batha, Wadi Fira et Ennedi Ouest). Au total, 1520 échantillons de sérum (928 de bovins, 216 de caprins, 254 d'ovins et 122 de dromadaires) ont été prélevés et testés par le test ELISA PrioCHECK® FMDV NSP, pour détecter la présence d'anticorps induits par des protéines non structurales du virus de la fièvre aphteuse (en particulier la protéine 3ABC), correspondant à une infection passée par le virus de type sauvage. 9 échantillons de tissus épithéliaux des bovins ont été également prélevés pour l'isolement et la caractérisation du virus de la fièvre aphteuse. Les résultats sérologiques du test ELISA PrioCHECK® FMDV NSP montrent une séroprévalence globale de 40 % (602/1520), IC à 95 % [19-63]. Cependant, les séroprévalences de 84 %, 78 % et 84 % ont été estimées chez les bovins de plus de 5 ans respectivement aux Batha Est, Batha Ouest et Wadi Fira. Chez les bovins de moins d'un an, la séroprévalence était estimée à 67 % au Wadi Fira, 64 % au Batha Est et 59 % au Batha Ouest. Il a été constaté que ces taux de séroprévalence élevés obtenus dans les différentes zones étaient liés à des facteurs de risque favorisant la propagation de la maladie tels que le partage des pâturages avec d'autres troupeaux voisins, la combinaison de l'élevage bovin et ovin et l'âge des animaux. Les résultats du test de sérotypage ELISA PrioCHECK® FMDV types O et A et du test ELISA de compétition en phase solide (SPCE) (pour détecter les types SAT 1 et SAT 2) réalisés sur les sérums des jeunes animaux âgés de moins d'un an qui sont positifs au test ELISA PrioCHECK® FMDV NSP, montrent que les quatre sérotypes O, A, SAT 1 et SAT 2 ont circulé au Tchad en 2015. Cependant, le type SAT 2 dominait avec une séroprévalence globale de 43,3 % et était présent dans toutes les régions étudiées. Les analyses virologiques ont permis de caractériser le sérotype SAT 2 de la fièvre aphteuse et les analyses phylogénétiques de la séquence codante VP1 ont permis de déterminer le sérotype SAT 2 topotype VII, proche des souches virales trouvées au Cameroun en 2015 avec une similarité de 98,60%.

Seroprevalence and molecular characterization of Foot-and-Mouth-Disease virus in Chad

A.I. Abdel-Aziz*[1,2,3], A. Romey[1], A. Relmy[1], K. Gorna[1], E. Laloy[1], R. Métras[2,4], F. Munoz[2,4], S. Blaise-Boisseau[1], S. Zientara[1], R. Lancelot[2,4] and L. Bakkali Kassimi[1]

[1]*UMR Virologie 1161, INRA, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, ANSES, Université Paris-Est, Laboratoire de Santé Animale de Maisons- Alfort, Laboratoire de référence pour la Fièvre Aphteuse, , Maisons-Alfort, 94700, France*

[2]*CIRAD, UMR ASTRE, F-34398 Montpellier, France.*

[3]*Institut de Recherches en Elevage pour le Développement (IRED), N'Djamena, Tchad*

[4]*ASTRE, Univ Montpellier, CIRAD, INRA, Montpellier, France*

*arada.abdel-aziz@cirad.fr

(Article en cours de revision dans la revue Veterinay Medicine and Science)

Abstract:

This study aimed to determine the seroprevalence of Foot-and-Mouth Disease (FMD) in domestic ruminants and to characterize the virus strains circulating in three regions of Chad (Batha, Wadi Fira and West Ennedi). In total, 1520 sera samples (928 from cattle, 216 from goats, 254 in sheep and 122 from dromedaries) were collected for FMD serological analyses. Nine samples of bovine epithelial tissue were also collected for the isolation and characterisation of the foot-and-mouth disease virus. Serological results show an overall seroprevalence of 40%, 95% CI [19-63]. However, the seroprevalences of 84%, 78% and 84% were estimated in cattle over 5 years of age in East Batha, West Batha and Wadi Fira respectively. In cattle under one year of age, 67% seroprevalence was estimated in Wadi Fira, 64% in East Batha and 59% in West Batha. It was found that these high seroprevalence rates obtained in the different areas were linked to risk factors favouring the spread of the disease such as grazing sharing with other neighbouring herds; the combination of cattle and sheep breeding and the age of the animals. ELISA PrioCHECK® FMDV types O and A and in-house solid phase competition ELISA (to detect types SAT 1 and SAT 2) serotyping results show that the four O, A, SAT 1 and SAT 2 serotypes circulated in Chad in 2015. However, the type SAT 2 dominated with an overall seroprevalence of 43.3%, and was present in the all regions investigated. The virological analyses permitted characterization of FMD serotype SAT 2. The phylogenetic analyses of the VP1 coding sequence allowed determining the serotype SAT 2 topotype VII, close to viral strains found in Cameroon in 2015 with a similarity of 98.60%.

Keywords: Foot-and-mouth-disease virus; Chad; molecular characterization; seroprevalence

Introduction

Foot-and-mouth disease (FMD) is a highly contagious disease caused by a virus of the genus *Aphthovirus* within the *Picornaviridae* family. It especially affects wild and domestic *Artiodactyles*, namely cattle, sheep, goats and pigs (Jamal & Belsham, 2013). FMD virus (FMDV) is a small virus consisting of a single-stranded RNA genome of approximately 8500 bases encoding for structural and non-structural proteins. The virion is icosahedral, non-enveloped with a positive-sense single-stranded RNA genome (Domingo et al., 1990; Thiry, Baranowski, & Domingo, 2001). There are seven distinct serotypes (O, A, C, SAT 1, SAT 2, SAT 3 and Asia 1). Each serotype has multiple subtypes, because of the great antigenic variability resulting from genetic variation during FMDV replication (OIE, 2017).

FMD is enzootic in most of Africa, particularly in Central and West Africa (Bachir et al. 2018; Couacy-Hymann et al. 2006; Paton, Sumption, et Charleston 2009; Rweyemamu et al. 2008; Souley Kouato et al. 2018). Its occurrence is mainly associated with the presence of domestic ruminants and animal mobility (Bouslikhane 2015). In Chad, four serotypes have been identified: O, A, SAT 1 and SAT 2 (Gueme et Bidjeh 1998; Ouagal et al. 2010; Ouagal et al. 2017). This serotypes also circulate in neighbouring countries: Sudan, Niger, Libya and Cameroon (Abu Elzein 1983; Abubakar et al. 2017; Bachir et al. 2018; Bertram et al. 2018; Ehizibolo et al. 2017; Eldaghayes et al. 2017; Habiela et al. 2010; Kouato et al. 2018).

In Chad, despite the endemicity of the disease, few studies have been carried out on seroprevalence (Ouagal et al., 2018; Ouagal et al., 2017) and no studies on the molecular characterisation of the FMDV have been carried out before. That is why we have decided to carry out a study within the framework of the Pastoral Livestock Reinforcement Project in Chad (PREPAS) to determine not only the seroprevalence of FMD but also to characterize the serotypes of the FMDV circulating in the area covered by this project.

Matreial and Methods

Study area and sampling

The study area includes three livestock regions of Chad: Batha, Wadi Fira and West Ennedi (Figure 10). These areas are known fpr having favourable climatic conditions during the rainy season (July-October) for animal grazing, and therefore gathers most nomadic herds (cattle, small ruminants and dromedaries) from the subregion.

A cross-sectional survey for sample collection was conducted in October and November 2016. Chad's territorial administration is divided into regions that are divided into departments, while the latter are divided into sub-prefectures. These sub-prefectures are divided into cantons. Thus, the epidemiological unit selected for carrying out the surveys was the canton. On the basis of animal density, twenty cantons were sampled: six cantons in East Batha, six cantons in West Batha, four cantons in Wadi Fira and four cantons in West Ennedi. In East Batha and West Batha, eight cattle herds, three goat and sheep herds and one dromedary herd were sampled per canton. In Wadi Fira, five cattle herds, and three goat, sheep and camels herds were sampled. Finally, four goat and sheep herds, and five dromedary herds were sampled in West Ennedi.

A minimum of 11 sera per herd of cattle and 5 sera per herd of small ruminants and dromedaries were sampled to reach 95% chance to observe at least one positive test in the herd, assuming random sampling within herds with seroprevalence rates of 25% and 50% respectively in cattle and small ruminants. In total, 1520 sera samples were collected for serological analyses (928 from cattle, 216 from goats, 254 from sheep and 122 from dromedaries). Nine samples of bovine epithelial tissue were also collected for the isolation and characterisation of the foot-and-mouth disease virus. Samples were sent according to the recommendations of the OIE (OIE, 2008) to the FMD reference laboratory of Maisons-Alfort (France), for confirmatory diagnosis and FMDV serotype characterization.

Laboratory analyses

Three serological tests (ELISA PrioCHECK® FMDV NSP, ELISA PrioCHECK® FMDV types O and A and ELISA internal solid phase competition (SPCE)) were performed in this study. The first test was the PrioCHECK® FMDV NSP ELISA was used to determine the overall seroprevalence of FMD. This test is not specific to serotypes. It detect the presence of antibodies induced by non-structural proteins (in particular 3ABC protein) (Brocchi et al., 2006; Sørensen et al., 1998). The second test was the ELISA PrioCHECK® FMDV types O and A was used to detect antibodies against FMDV O and A serotypes (Hamblin, Barnett, & Hedger, 1986; Relmy et al., 2017; Van Maanen & Terpstra, 1989) for FMDV serotyping. The third test was the solid phase competition ELISA (SPCE) test was used for the detection of antibodies against FMDV serotypes SAT 1, SAT 2 and SAT 3 (Li et al. 2012). The reference strains of FMDV SAT 1 ZIM 25/89, SAT 2 ZIM 3/97, SAT 3 ZIM 4/99 were used as antigens in this SPCE test (Relmy et al., 2017). The sensitivity (Se) and specificity (Sp) of these

PrioCHECK® commercial tests have already been known. They are given by the supplier : ELISA PrioCHECK® FMDV NSP (Se :96% et Sp :87%), ELISA PrioCHECK® FMDV type O (Se :95% and Sp :99,4%), ELISA PrioCHECK® FMDV type A (Se :90% and Sp :99%). For the ELISA SPCE, the Se is 100% and the Sp is 99.41-99.7% (Li et al. 2012). For FMDV detection, three following tests were performed. The first test was the Real-time RT-PCR for FMD detection targeting the 3D and IRES regions of the viral genome (Laor, Torgersen, Yadin, & Becker, 1992; Reid, Ferris, Hutchings, Samuel, & Knowles, 2000). The second test was the RT-PCR multiplex was used for FMDV typing (Callens & De Clercq, 1997; Giridharan, Hemadri, Tosh, Sanyal, & Bandyopadhyay, 2005; Gorna et al., 2016). However, this test does not allow the sequencing, because the amplified part is very short (250 nt) which is insufficient for complete sequencing of the VP1 gene (Gorna et al., 2016). The third test was the Conventional RT-PCR has been carried out for amplification of the complete gene encoding the VP1 protein (Relmy et al. 2017). Indeed, specifics primers of FMDV serotype SAT2 (P1-1223F / SAT-2B208R) were chosen to amplify this region of the genome encoding the VP1 protein (Ayelet et al., 2009).

Bioinformatic analysis of nucleotide sequences

The sequences obtained were assembled and verified using ContigExpress software (Vector NTI, Invitrogen). A complete sequence of the VP1 coding region was analysed and compared to the homologous genomic regions available in the NCBI GenBank database. Multiple sequence alignment and phylogenetic analyses were conducted using MEGA version 6 software (Tamura et al. 2013). FMDV sequences were aligned using the Muscle program with default parameters (Edgar, 2004). Phylogenetic analyses were conducted by Neighbor-Joining (NJ) method (Saitou & Nei, 1987) with the Kimura 2-parameter model (Kimura, 1980). The confidence of the NJ tree was assessed by bootstrap analysis with 1000 replicates.

Statistical analyses

Binomial regression was conducted using the package R-INLA (Rue, Martino, & Chopin, 2009) of the R software (R Core Team, 2018) to estimate overall disease seroprevalence by species, age category and region. Since infection patterns are very different between species, species-specific seroprevalence were estimated. However, one estimate was presented for small ruminants that is sheep and goats.

The number of positive groups y_{ij} in region i and age-category j for a given species has been modelled with a binomial likelihood $y_{ij} \sim Bi(n_{ij}, p_{ij})$

where n_{ij} is the number of sampled groups in region i and age-group j.

The group-prevalence p_{ij} has been modelled in a logit-scale with a linear predictor with a region-specific intercept β_i and varying effects w_{ij} of the age-category for each region:

$$y_{ij} = \log(\frac{p_{ij}}{1 - p_{ij}}) = n_{ij} = \beta_{ij} + w_{ij}$$

$$w_{\cdot j} \sim N(0, AR1(\sigma_w, \varphi))$$

so that within each region, a separate first-order autoregressive model (AR1) has been used for the effect of the age-category, all sharing the same marginal variance σ_w and autocorrelation parameter φ

Given the small number of groups for some species (e.g. less than 10 for most age-categories and regions of small ruminants), we fitted this model using Bayesian approach in order to reduce overfitting and improve the seroprevalence estimates. Finally, for the prior parameter of the scale, the approach of the penalized complexity prior was followed. This approach is defined in terms of the Kullback-Leibler distance from the model from a simpler model with zero variance. The penalty rate is determined by specifying a probability assessment such that P(σw > U) = α (Simpson, Rue, Riebler, Martins, & Sørbye, 2017). Thus, to make the calculation, U = 3 and α = 0.001 were set, which means that it is very unlikely that the scale parameter of the autoregressive effect was greater than 3.

Results and Discussion

Seroprevalence results

Figure 11 shows observed (black) and estimated (grey) seroprevalences at the group level by region and age category for the different animal species studied. Serological results show an overall seroprevalence of 40%, 95% CI [19-63].

Indeed, in cattle over 5 years of age, seroprevalence was estimated at 84% (95% CI: 72 - 93), 78% (95% CI: 65 - 89), 84% (95% CI: 69 - 95) respectively in East Batha, West Batha and Wadi Fira. Aslo, seroprevalence estimates were made for cattle under one year of age: 67%

(95% CI: 48 - 83) in Wadi Fira, 64% (95% CI: 45 - 81) in East Batha and 59% (95% CI: 41 - 76) in West Batha.

Furthermore, among small ruminants over 5 years of age, seroprevalences of 63% (95% CI: 36 - 88), 45% (95% CI: 21-70), 34% (95% CI: 16-53) and 10% (95% CI: 2-23) have been estimated in West Batha, East Batha, Wadi Fira and West Ennedi respectively. Also, among young small ruminants under one year of age, seroprevalences was estimated in the different areas studied: 32% (95% CI: 12-55) in East Batha, 18% (95% CI: 4-39) in West Batha, 50% (95% CI: 25-76) in Wadi Fira and 11% (95% CI: 3-27) in West Ennedi.

Finally, seroprevalence has also been estimated among dromedaries over 5 years old in the different areas: 33% (95% CI: 10-56) in East Batha, 20% (95% CI: 4-38) in West Batha, 16% (95% CI: 5-36) in Wadi Fira, 7% (95% CI: 2-16) in West Ennedi. In dromedaries less than 1 year old, seroprevalence was not determined due to lack of samples in this age group.

Based on the results of the seroprevalences estimates obtained, it was found that the three areas: West Batha, East Batha and Wadi Fira have high seroprevalence of FMD compared to the West Ennedi area. This can be explained by the fact that these three areas have high animal densities (cattle and small ruminants). In addition, these are transhumant areas where animal movements are uncontrolled. These uncontrolled movements may be one of the main sources of disease spread. Our results are consistent with previous results obtained by (Ouagal et al. 2010) in the same areas in Chad. On the other hand, the low seroprevalence rate obtained in Ennedi West could be explained by the fact that this area is arid, with a very low animal density and limited between herds contacts.

The low seroprevalence of dromedaries compared to other animal species (cattle, goats and sheep) is due to the fact that camels are less susceptible to FMD. Our results on the seroprevalence of FMD in dromedaries confirm the results obtained by (Wungak et al., 2015) in Nigeria.

Seroprevalence rates by age group were found to be higher in older animals than in young animals under one year of age. These low seroprevalence rates in young animals (less than one year old) may be due to low exposure of young animals to risk factors or to the fact that the virus has recently circulated at a low level. There is also the practice of herders to keep young animals separate from adult animals around the village, which may also explain the

low seroprevalence rates. This may also be due to the fact that adult animals are repeatedly exposed and in close contact with other animals in pastures and water points. Our results are similar to those of (Wungak, Olugasa, Ishola, Lazarus, & Ularamu, 2016). These authors determined seroprevalence by age group in Nigeria and also obtained higher seroprevalence in adults than in young animals.

Concerning the serotyping of the FMDV in Chad, serotyping tests were carried out on sera from young animals under one year of age (67/194) positive for the NSP ELISA test. The FMDV serotyping results have been broken down by geographical area and are presented in Table I. These results show that the four serotypes O, A, SAT1 and SAT2 circulated well in Chad in 2016. The SAT 2 type dominated with an overall seroprevalence of 43.3% and was present in all four areas. It is followed by serotype O (29.9%). This serotype O was present in West Batha and Wadi Fira. Then comes serotype A (22.4%) but it has only been detected in Wadi Fira. Finally, the SAT 1 type (4.5%), it was present in East Batha and West Batha.

The presence of the four serotypes (A, O, SAT 1 and SAT 2) in the country could be due to the free cross-border movement of animals in search of pastures and water points and uncontrolled trade in livestock between Chad, the Central African Republic, Sudan, Cameroon and Niger. Indeed, these four circulating serotypes (O, A, SAT 1 and SAT 2) have also been identified and not yet eradicated in countries bordering Chad (Bachir et al., 2018; Bertram et al., 2018; Habiela et al., 2010; Kouato et al., 2018; Wungak et al., 2016).

Virological results

Virological analyses initially yielded 5/9 positive samples to the real-time RT-PCR test detecting both IRES and 3D targets of the viral genome. Then, the five real-time RT-PCR positive samples were by tested conventional multiplex RT-PCR for virus typing. These typing results showed that only one in five was positive, confirming the presence of FMDV serotype SAT 2. This serotype SAT 2 sample was taken from the West Batha area. Several attempts to isolate and amplify the VP1 gene were made but without success on the four negative samples. This may be explained by the poor quality of these samples.

Finally, phylogenetic analyses of the sequence coding for VP1 of the SAT 2 type obtained made it possible to determine the SAT 2 topotype VII serotype, close to the virus strains of Cameroon 2015 with a similarity of 98.60% (Figure 12). This suggests the movements of infected animals between Chad and Cameroon.

Conclusion

This study showed that FMD is enzootic in the four study areas in Chad (East Batha, West Batha, Ennedi-West and Wadi Fira) and that FMDV SAT 2 serotype is circulating in all four area. This is the first characterisation of FMDV circulating in Chad. This enzootic FMD may be maintained by primary foci scattered in pastoral areas where animal density is high. The high rate of seroprevalence of FMD and the potential for spread of the disease represent a major challenge for the control and eradication in Chad. Further studies in other areas of Chad would provide more insight on the epidemiology of the disease at a national level.

Bibliography

Ayelet, G., Mahapatra, M., Gelaye, E., Egziabher, B. G., Rufeal, T., Sahle, M., … Knowles, N. J. (2009). Genetic Characterization of Foot-and-Mouth Disease Viruses, Ethiopia, 1981–2007. *Emerging Infectious Diseases*, *15*(9), 1409–1417. https://doi.org/10.3201/eid1509.090091

Bachir, S. K., De Clercq Kris, K. N., King Donald, P., Eric, T., Hamani, M., & Claude, S. (2018). Systematic review of molecular epidemiology of foot-and-mouth disease in Africa: implications for more integrated control and regional strategies. *PLoS ONE*, 139.

Bertram, M. R., Delgado, A., Pauszek, S. J., Smoliga, G. R., Brito, B., Stenfeldt, C., … Marie, A. A. O. (2018). Effect of vaccination on cattle subclinically infected with foot-and-mouth disease virus in Cameroon. *Preventive Veterinary Medicine*, *155*, 1–10.

Bouslikhane, M. (2015). Les mouvements transfrontaliers d'animaux et de produits d'origine animale et leur rôle dans l'épidémiologie des maladies animales en Afrique. Afrique – Commission régionale OIE. Retrieved from http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Publications_%26_Documentation/docs/pdf/TT/2015_AFR2_Bouslikhane_F.pdf

Brocchi, E., Bergmann, I. E., Dekker, A., Paton, D. J., Sammin, D. J., Greiner, M., … Haas, B. (2006). Comparative evaluation of six ELISAs for the detection of antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus. *Vaccine*, *24*(47–48), 6966–6979.

Callens, M., & De Clercq, K. (1997). Differentiation of the seven serotypes of foot-and-mouth disease virus by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, *67*(1), 35–44.

Couacy-Hymann, E., Aplogan, G. L., Sangaré, O., Compaoré, Z., Karimu, J., Awoueme, K. A., … Valarcher, J. F. (2006). Étude rétrospective de la fièvre aphteuse en Afrique de l'Ouest de 1970 à 2003. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz*, *25*(3), 1013–1024.

Domingo, E., Mateu, M. G., Martínez, M. A., Dopazo, J., Moya, A., & Sobrino, F. (1990). Genetic variability and antigenic diversity of foot-and-mouth disease virus. In *Virus variability, epidemiology and control* (pp. 233–266). Springer.

Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, *32*(5), 1792–1797.

Eldaghayes, I., Dayhum, A., Kammon, A., Sharif, M., Ferrari, G., Bartels, C., … Brocchi, E. (2017). Exploiting serological data to understand the epidemiology of foot-and-mouth disease virus serotypes circulating in Libya. *Open Veterinary Journal*, *7*(1), 1–11.

Giridharan, P., Hemadri, D., Tosh, C., Sanyal, A., & Bandyopadhyay, S. K. (2005). Development and evaluation of a multiplex PCR for differentiation of foot-and-mouth disease virus strains native to India. *Journal of Virological Methods*, *126*(1–2), 1–11.

Gorna, K., Relmy, A., Romey, A., Zientara, S., Blaise-Boisseau, S., & Bakkali-Kassimi, L. (2016). Establishment and validation of two duplex one-step real-time RT-PCR assays for diagnosis of foot-and-mouth disease. *Journal of Virological Methods*, *235*, 168–175.

Gueme, A., & Bidjeh, K. (1998). *Contribution au sérotypage du virus aphteux dans quelques régions du Tchad.* Mémoire de fin d'études, Adjoint technique d'élevage.

Habiela, M., Alamin, M. A. ., Raouf, Y. A., & Ali, Y. H. (2010). Epizootiological study of foot and mouth disease in the Sudan: the situation after two decades. *Veterinarski Arhiv*, *80*(1), 11–26.

Hamblin, C., Barnett, I. T. R., & Hedger, R. S. (1986). A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus I. Development and method of ELISA. *Journal of Immunological Methods*, *93*(1), 115–121.

Jamal, S. M., & Belsham, G. J. (2013). Foot-and-mouth disease: past, present and future. *Veterinary Research*, *44*(1), 116.

Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, *16*(2), 111–120.

Kouato, B. S., Elliot, F. M., King, D. P., Hyera, J., Knowles, N. J., Ludi, A. B., … Saegerman, C. (2018). Outbreak investigations and molecular characterization of foot-and-mouth disease viruses circulating in south-west Niger. *Transboundary and Emerging Diseases*, *65*(1), 146–157. https://doi.org/10.1111/tbed.12642

Laor, O., Torgersen, H., Yadin, H., & Becker, Y. (1992). Detection of FMDV RNA amplified by the polymerase chain reaction (PCR). *Journal of Virological Methods*, *36*(3), 197–207.

Li, Y., Swabey, K. G., Gibson, D., Keel, P. J., Hamblin, P., Wilsden, G., … Ferris, N. P. (2012). Evaluation of the solid phase competition ELISA for detecting antibodies against the six foot-and-mouth disease virus non-O serotypes. *Journal of Virological Methods*, *183*(2), 125–131.

OIE. (2008). Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres. Retrieved 23 February 2018, from http://www.test.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/Volume1_Manuel2008_fr.pdf

OIE. (2017). Foot and mouth disease: Chapitre 2.1.8. du Manuel Terrestre OIE. Retrieved 4 September 2017, from http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.01.08_FMD.pdf

Ouagal, M., Brocchi, E., Grazioli, S., Ade, B. ., Keith, S., Kiram, D., … Saegerman, C. (2018). Study on seroprevalence and serotyping of foot and mouth disease in Chad. *Re Vue Scientifique et Technique de l'OIE*, *37*(3).

Ouagal, M., Hendrikx, P., Saegerman, C., & Berkvens, D. (2010). Comparison between active and passive surveillance within the network of epidemiological surveillance of animal diseases in Chad. *Acta Tropica*, *116*(2), 147–151.

Ouagal, Mahamat, Brocchi, E., Grazioli, S., Ben Youssef, A., Sumption, K., Hendrikx, P., … Saegerman, C. (2017). Evaluation de la sensibilité du réseau d'épidémiosurveillance des maladies animales au Tchad pour la surveillance de la fièvre aphteuse. *Epidémiologie et Santé Animale*, *72*, 5–14.

Paton, D. J., Sumption, K. J., & Charleston, B. (2009). Options for control of foot-and-mouth disease: knowledge, capability and policy. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, *364*(1530), 2657–2667.

R Core Team, R. C. (2018). *R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.* ISBN 3-900051-07-0. Retrieved from https://www.r-project.org/

Reid, S. M., Ferris, N. P., Hutchings, G. H., Samuel, A. R., & Knowles, N. J. (2000). Primary diagnosis of foot-and-mouth disease by reverse transcription polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, *89*(1–2), 167–176.

Relmy, A., Romey, A., Gorna, K., Blaise-Boisseau, S., Laloy, È., Meenowa, D., … Bakkali Kassimi, L. (2017). Crise sanitaire dans l'Océan Indien : virus de la fièvre aphteuse aux Îles Maurice et Rodrigues en 2016. *Épidémiol. et santé anim.*, (71), 117–127.

Rue, H., Martino, S., & Chopin, N. (2009). Approximate Bayesian inference for latent Gaussian models by using integrated nested Laplace approximations. *Journal of the Royal Statistical Society: Series b (Statistical Methodology)*, *71*(2), 319–392.

Rweyemamu, M., Roeder, P., Mackay, D., Sumption, K., Brownlie, J., Leforban, Y., … Saraiva, V. (2008). Epidemiological patterns of foot-and-mouth disease worldwide. *Transboundary and Emerging Diseases*, *55*(1), 57–72.

Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, *4*(4), 406–425.

Simpson, D., Rue, H. avard, Riebler, A., Martins, T. G., & Sørbye, S. H. (2017). Penalising model component complexity: A principled, practical approach to constructing priors. *Statistical Science*, *32*(1), 1–28.

Sørensen, K. J., Madsen, K. G., Madsen, E. S., Salt, J. S., Nqindi, J., & Mackay, D. K. J. (1998). Differentiation of infection from vaccination in foot-and-mouth disease by the detection of antibodies to the non-structural proteins 3D, 3AB and 3ABC in ELISA using antigens expressed in baculovirus. *Archives of Virology*, *143*(8), 1461–1476.

Souley Kouato, B., De Clercq, K., Abatih, E., Dal Pozzo, F., King, D. P., Thys, E., … Saegerman, C. (2018). Review of epidemiological risk models for foot-and-mouth disease: implications for prevention strategies with a focus on Africa. *PLoS ONE*.

Thiry, E., Baranowski, E., & Domingo, E. (2001). Epidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse. *Epidémiol. Santé Anim*, *39*, 59–67.

Van Maanen, C., & Terpstra, C. (1989). Comparison of a liquid-phase blocking sandwich ELISA and a serum neutralization test to evaluate immunity in potency tests of foot-and-mouth disease vaccines. *Journal of Immunological Methods*, *124*(1), 111–119.

Wungak, Y. S., Lazarus, D. D., Woma, T. Y., Ehizibolo, D. O., Dogonyaro, B. B., Bwala, D. G., … Ibu, J. O. (2015). Serological evidence of foot-and-mouth disease virus (FMDV) in camels (Camelus dromedaries) in Nigeria. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, *7*(7), 261–264.

Wungak, Y. S., Olugasa, B. O., Ishola, O. O., Lazarus, D. D., & Ularamu, G. H. (2016). Foot-and-mouth disease (FMD) prevalence and exposure factors associated with seropositivity of cattle in north-central, Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, *15*(24), 1224–1232.

Tableau I : Seroprevalence of FMD virus serotypes (ELISA PrioCHECK® types O and A and ELISA SPCE) in young animals by geographical area

Areas	Number of young animals tested positive to NSP ELISA (age ≤ 1 year)	Percentage of positive animals to the different serotyping tests **% (n)**			
		Type SAT2	**Type O**	**Type SAT1**	**Type A**
West Batha	13/49	61.5% (n=8)	30.8% (n=4)	7.7% (n=1)	0
East Batha	20/46	90% (n=18)	0	10% (n=2)	0
West Ennedi	2/17	100% (n=2)	0	0	0
Wadi Fira	32/82	3.1% (n=1)	50% (n=16)	0	46.9% (n=15)
Total	**67/194**	**43.3% (n=29)**	**29.9% (n=20)**	**4.5% (n=3)**	**22.4% (n=15)**

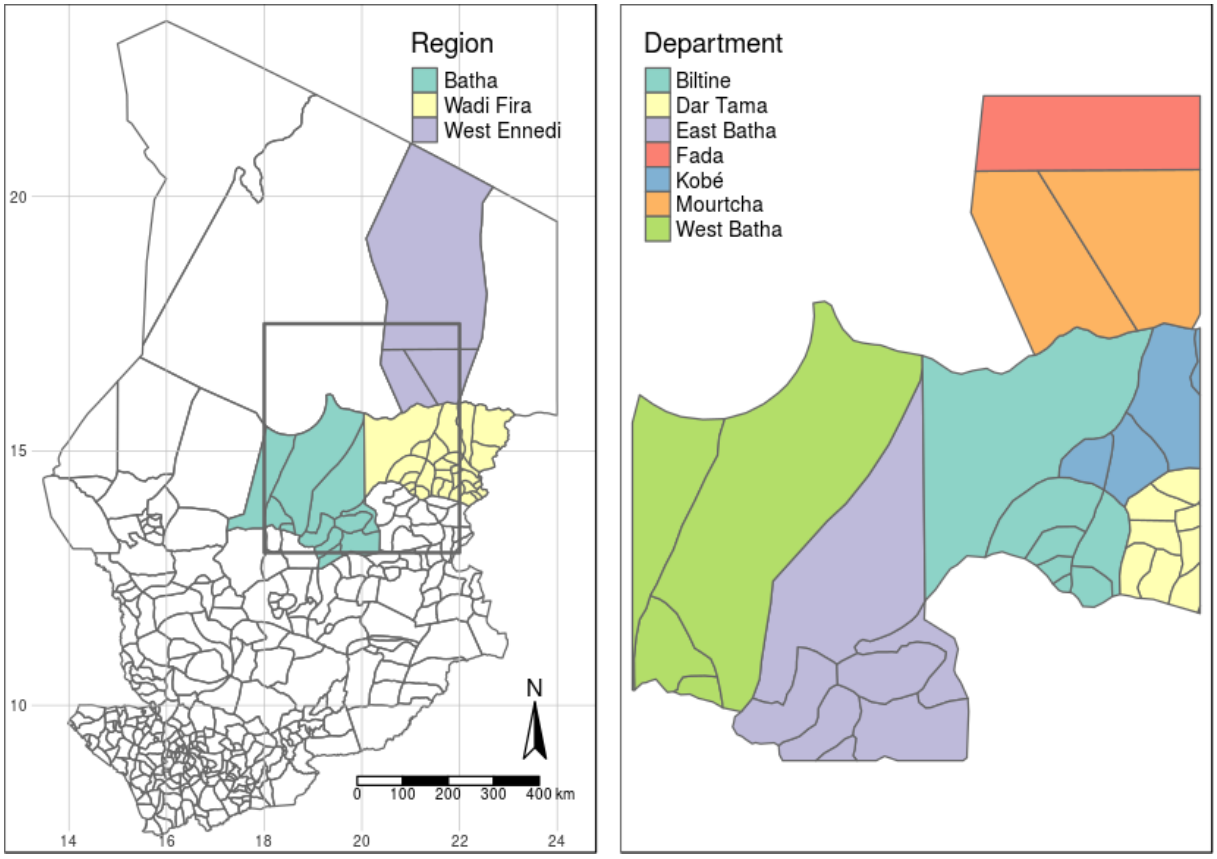


Figure 10 : Chad Departments within the region of PREPAS project (black rectangle)

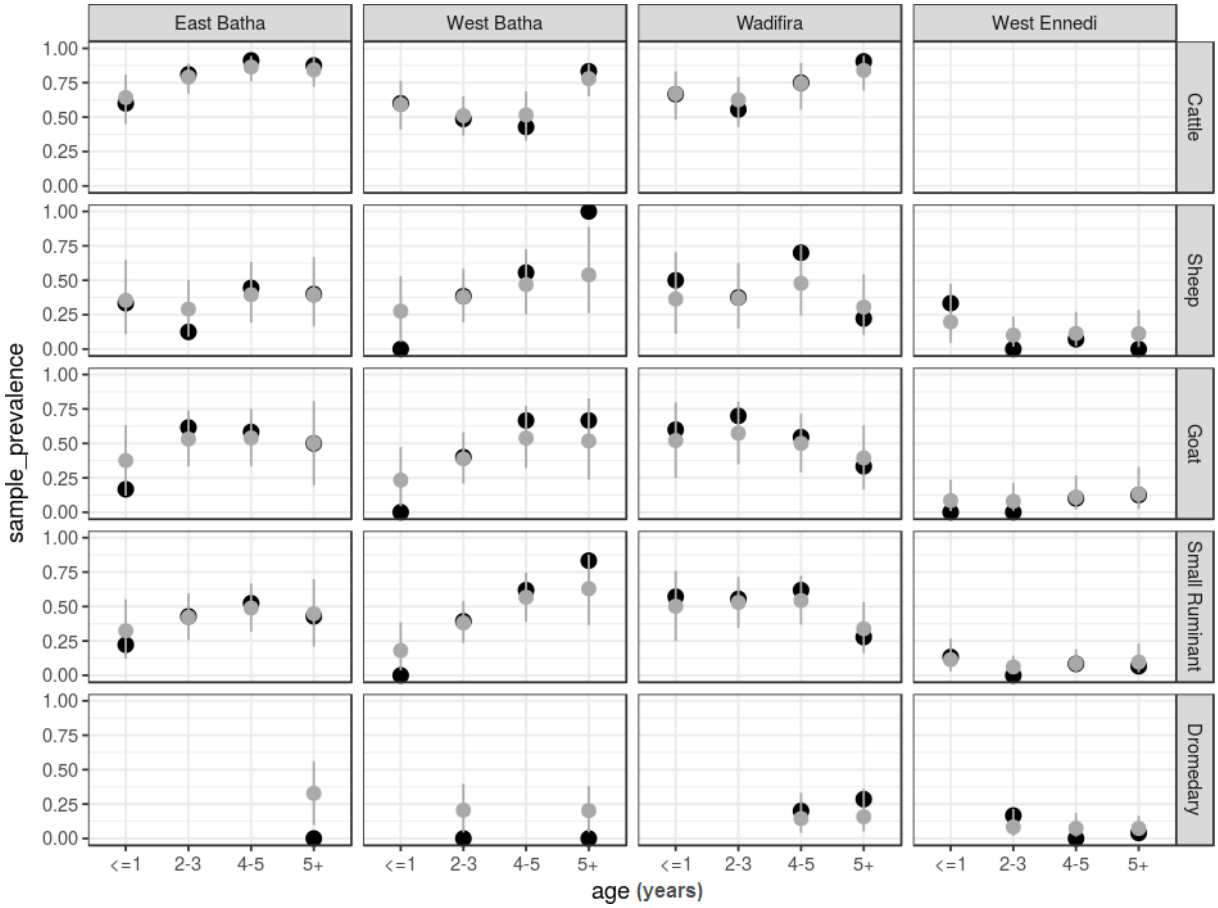


Figure 11 : Predicted (grey) and observed (black) seroprevalence rates by group with 95%CI

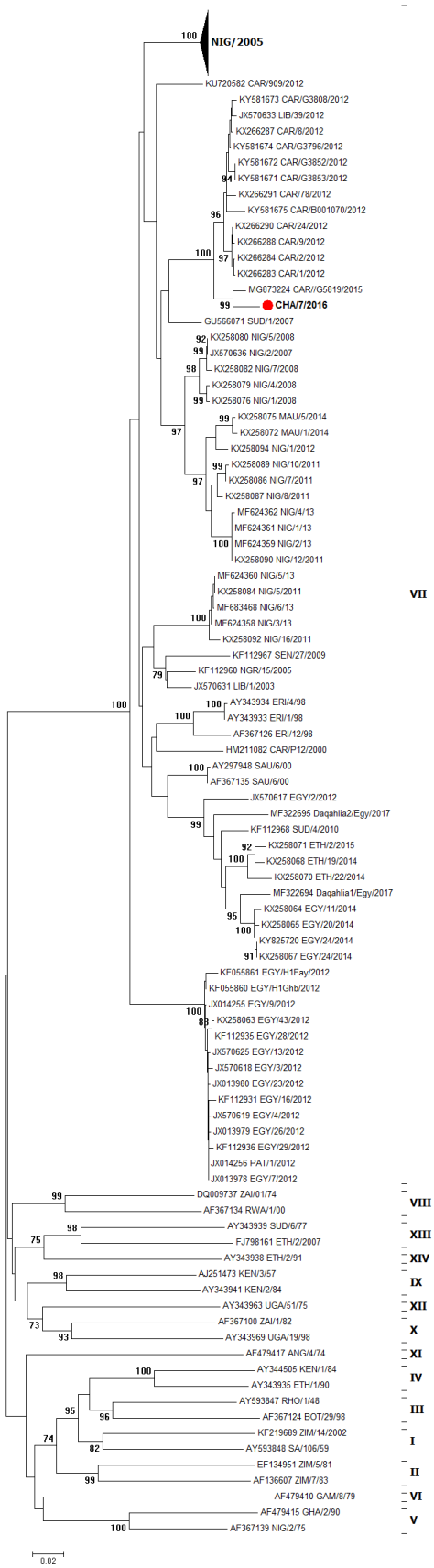


Figure 12 : Phylogenetic tree of the FMD SAT 2 virus sampled in Chad

Chapitre 5 : Cartographie des risques basée sur l'occurrence de la fièvre aphteuse au Tchad

Résumé

Le Tchad est un grand exportateur de bétail en Afrique Subsaharienne. Cependant, le commerce informel du bétail entre le Tchad et les pays voisins augmente le risque d'introduction et de propagation des maladies animales, telles que la fièvre aphteuse. Les ressources gouvernementales étant limitées pour gérer le risque de fièvre aphteuse, les autorités vétérinaires doivent cartographier les zones à risque pour concentrer la surveillance là où la maladie est susceptible de se déclarer.

Cette étude a permis d'évaluer et de cartographier le risque de fièvre aphteuse au Tchad à l'aide d'une analyse documentaire, de données sur la mobilité des animaux et de l'avis d'experts des services vétérinaires nationaux et internationaux. Après avoir examiné tous les facteurs de risque influençant le risque d'introduction et d'exposition, il a été décidé de définir quatre strates de risque (très élevé, élevé, faible et négligeable). Plusieurs facteurs de risque tels que la densité animale et la présence de marchés primaires de bétail ont été combinés pour caractériser ces strates. Enfin, des cartes illustrant le risque d'introduction et d'exposition de la fièvre aphteuse au Tchad ont été produites. Sur les 347 communes administratives du Tchad, 12 communes (3,45%) situées aux frontières étaient caractérisées par un risque "très élevé" d'émission du virus de la fièvre aphteuse et 54 communes (15,56%) par un risque "très élevé" d'exposition. Les résultats de cette étude aideront les services vétérinaires à cibler les zones à risque afin de réduire le coût de l'intervention mais aussi de rendre la surveillance des maladies efficace.

Risk mapping based on the occurrence of Foot-and-Mouth-Disease in Chad

A.I. Abdel-Aziz[(1)(2)(3)*], C. Coste[(1)(4)], C. Squarzoni-Diaw[(1)(4)], E. Arsevska[(1)(4)], R. Métras[(1)(4)], F. Munoz[(1)(4)], L. Bakkali-Kassimi[(2)] and R. Lancelot[(1)(4)]

[(1)] CIRAD, UMR ASTRE, F-34398 Montpellier, France.

[(2)] Laboratoire de Santé Animale de Maisons- Alfort, Laboratoire de référence Nationale et OIE pour la Fièvre Aphteuse, UMR Virologie 1161, Université Paris-Est, Anses, Maisons-Alfort, France

[(3)] Institut de Recherches en Elevage pour le Développement (IRED), N'Djamena, Tchad

[(4)] ASTRE, Univ Montpellier, CIRAD, INRA, Montpellier, France

**Corresponding author: arada.abdel-aziz@cirad.fr*

(Article en cours de revision dans la Revue scientifique et technique de l'OIE)

Abstract

Chad is a major livestock exporter in Subsaharan Africa. However, informal livestock trade between Chad and neighbouring countries increases the risk of introduction and spread of animal diseases, such as foot-and-mouth-disease (FMD). As governmental resources are scarce for managing the FMD risk, veterinary authorities need to map areas at risk to focus surveillance where the disease is likely to occur.

This study enabled to assess and mapp the risk of FMD occurrence in Chad using literature review, animal mobility data and expert opinion from national and international veterinary services. After considering all risk factors influencing the risk of introduction and exposure, it was decided to define four risk strata (very high, high, low and negligible). Several risk factors such as animal density and presence of primary livestock markets, were combined to characterize those strata. Finally, maps illustrating the risk of introduction and exposure of FMD in Chad were produced. Out of 347 administrative communes in Chad, 12 communes (3.45%) located at the borders were characterized by a "very high" risk for FMD virus emission and 54 communes (15.56%) were characterized by a "very high" risk of FMD exposure. The results obtained from this study will help Chadian veterinary services to target areas at risk to reduce the cost of intervention but also to make disease surveillance effective.

Keywords: risk-mapping, foot-and-mouth-disease, Chad, qualitative risk analysis

Introduction

Chad is a major livestock producing country in Sub-Saharan Africa. Besides the oil sector, the livestock production contributes significantly to the national economy. For example, 37% of agricultural Gross Domestic Product (GDP) and 14% to 20% of national GDP is due to livestock production [1]. The livestock production represents about 75.11% of the value of Chad's total exports, excluding oil [2]. In 2014 General Livestock Census (GER), the livestock population in Chad counted over 94 million heads, including 24.8 million cattle (26.4%), 26.5 million sheep (28.2%), 30.8 million goats (32.7%), 1.7 million pigs (1.8%) and 10.5 million other species (dromedaries, horses and donkeys) (10.9%) [3]. However, Chad's livestock population is subject to several health constraints that hinder its development. One of these health constraints includes foot-and-mouth disease (FMD) [4]. The FMD is a highly infectious disease caused by a virus of the genus *Aphthovirus*, family *Picornaviridae* [5]. It is a major transboundary disease transmitted through direct contact between uninfected and infected animals and/or contaminated objects (products, clothing, vehicles...) [6–8]. FMD causes economic losses both in disease-free countries when introduced and in countries where it is endemic [6,9]. This disease can be introduced in different ways via illegal importation of live animals or animal products, contaminated objects and contact with wildlife during transhumance [10–13]. In the past, Chadian veterinary authorities and farmers gave little importance to FMD because of the extensive type of farming in the country. In recent years, the situation has changed with the observation of high mortality among young animals, thus becoming a significant concern for Chadian veterinary services [14]. It is one of the most suspected diseases in the country by the Animal Disease Epidemiosurveillance Network in Chad. However, due to a lack of laboratory capacities and diagnostic equipment, the national laboratory is unable to analyse samples to detect this disease. Thus, the notification of cases is limited to clinical suspicions without taking samples for laboratory confirmation. However, according to a study made by Ouagal *et al.* [14], the individual seroprevalence rate of FMD in Chad was 35.6%, and the herd seroprevalence rate was 61.9%, respectively in 2010. The FMD has been endemic in Chad since 1973 when it was first identified [14,15]. The FMD is also endemic in Chad's neighbouring countries, i.e., Cameroon, Sudan, Niger and Central African Republic [6,16–20]. As national resources have declined in recent years [14], there is a need for effective and efficient disease surveillance that will target surveillance in high-risk areas for disease occurrence. Consequently, there is a need for better understanding FMD spread in order to identify where it might most likely occur. Thus, to make better use of the

limited governmental resources, we propose a new approach to risk-based mapping and disease surveillance. Our approach spatially discriminates areas in a country according to the risk of occurrence for a given disease outbreak. In this study, the standard definition of "risk" was used, i.e., the risk of occurrence and the likely magnitude of the biological and economic consequences of an adverse event or effect on animal and human health [21].

Although there are currently other risk mapping approaches such as the MCAS-S (Multicriteria Analysis Shell) developed in 2007 by the Australian Bureau of Agricultural and Resource Economics and Sciences [22,23] similar to our approach. However, we propose an approach to risk mapping using open source software. Our approach is simple, collecting data and identifying risk factors, assessing probabilities (introduction, exposure and occurrence) [24] and producing risk maps. The final aim is to propose a general risk-based FMD surveillance protocol for Chad.

In this article, we describe this new approach.

Material and methods

Framework

The risk mapping described in this paper is based on a qualitative risk analysis including animal mobility data and expert opinion from national and international veterinary services (officials from Chad's Ministry of Livestock and experts in qualitative risk analysis at CIRAD). Qualitative risk analysis are used to assess the probabilities of disease introduction, exposure and hazard occurrence [25]. Thus, to simplify the qualitative assessment of risk, we defined four levels of risk: negligible (event possible in certain exceptional cases), low (event possible, but considerably low), high (possible) and very high (very possible). The risk assessment must be conducted on the basis of the most precise data available [26].

Data collection and identification of risk factors

All data collected and associated sources were summarised in Table II.

The risk of FMD introduction into Chad include was assessed using:

- The health status data from neighbouring countries and FMD surveillance and control systems obtained from the EMPRES-I database [27] and the OIE WAHID interface for the year 2015 [28]. However, for health data on FMD and livestock trade in Chad,

they were extracted from the Ministry of Livestock's annual statistics report for 2015 [3].

- The prevalence and spatial distribution of infection in Chad were obtained from the 2015 annual statistic report of the Chad Ministry of Livestock [3],
- As officially, there is no record of transboundary live animal movement, only uncontrolled transboundary movements of live animals were assessed/ Thos movement and potentially coming with contaminated products/equipments were described by local experts between neighbouring countries and Chad.

The risk of FMD exposure was assessed using:

- Animal densities (Cattle, Goats, Sheep and Pigs). The animal density data used in this study are those of the FAO: “Gridded livestock of the world de 2007” [29], because those of Chad, found in the 2015 annual report of the Ministry of Livestock are not consistent. So it was decided to use FAO data that are reliable, that other authors also used them in their work [30,31];
- Accessibility (national road network of Chad). The accessibility data used are issued from the annual report of the Ministry of infrastructure and Equipment of Chad [32];
- Animal mobility data were collected through a bibliographic review of various document (reports and books) detailed in Table II [1,3,33–36]. These data were used to determine Networks Analysis (SNA) indicators of livestock trade flows and transhumance such as degree and betwennees. These two indicators have been selected among several SNA indicators because they make it possible to identify the most important nodes of the network [37];
- The animal gathering areas locations (livestock markets, watering points and pastures) described from the PAFIB/Chad project reports [33], the AFD report on the pastoral water sector [38] and the report on the state of pastoral development [36].

Consultation of experts in qualitative risk analysis and FMD at CIRAD and telephone interviews with field staff from the Ministry of Livestock in Chad were organised to complete the missing data. Finally, administrative divisions of Chad and neighbouring countries required for mapping were extracted from the "Global Administrative Areas" website (http://www.gadm.org/country).

Assessment of the risk of introduction

After having identifying all the risk factors that influence the risk of introduction, the experts designed a table to estimate the risk of introduction and then assigned values ranging from 0 to 3 for each risk factor reflecting their importance. Each country presents a different risk defined by several risk factors: type of cross-border movement; FMD health status; control and surveillance measures in place. These risk factors were used to estimate the risk (Table III). Indeed, illegal trade is carried out at the expense of health controls and thus presents a higher risk. Also in case of legal trade we will see the risk of introduction the score is 1 while in case of illegal trade the risk will be increased to 3. If monitoring and control arrangements exist in the trading country, the risk factor is assigned a score of 0; otherwise, a corresponding score is assigned for each factor (0.25; 0.5; 0.75 or 1). If a country is infected with the disease, a score of 3 is assigned, otherwise a score of 0. By adding all the scores for these risk factors, each country then obtains a final score out of 12 which is then qualitatively transcribed into risk levels (score 1-3 "negligible risk", score 3-6 "low risk", score 6-9 "high risk", score 9-12 "very high risk").

In addition, based on the results of risk estimates of virus introduction from neighbouring countries, we determined the risk of introduction at the Chadian communes at the borders. This risk of introduction at borders was estimated by taking into account the risk at the borders of neighbouring countries and two main factors of the "spread" of the disease notably accessibility (national road network) and live animals cross-border flow. Thus, the experts carried out a combination of risk factors to assess the risk of introduction for each commune in Chad. Indeed, it has been estimated that if a communes is at the border and has very important accessibility or entry of live animals, then the risk of FMD introduction is very high. The risk of FMD introduction has decreased with decreased accessibility and entry of live susceptible animals of FMD. Before using QGIS software, depending on the level of introduction risk, the combinations used to estimate this risk are as follows:

i) Very high: [estimated risk of neighbouring countries] AND [“very high” Accessibility] OR [“very high” SNA indegree].

ii) High: [estimated risk of neighbouring countries] AND [“high” Accessibility] OR [“high” SNA indegree].

iii) Low: [estimated risk of neighbouring countries] AND [“low” Accessibility] OR [“low” SNA indegree].

iv) Negligible: All remaining communes.

Assessment of the risk of exposure

Before mapping all quantitative variables, we discretized the values, i.e. the grouped them in class. As a result, quantitative information is transformed into ordered information (standardized discretization) to allow its spatial representation [39]. This method of standardized discretization was chosen because the statistical distribution of our values approaches the normal distribution. This standardized discretization is constructed by considering the mean and standard deviation and gives fairly homogeneous classes [39–41]. In addition, like for the risk of introduction, it was decided to set the number of risk strata at four (very high, high, low and negligible) in order to have a better representation of the exposure risk. A combination of several conditions was used to characterize each strata. Thus, depending on the stratum level, the combinations made are as follows:

i) Very high: ["very high" animal density] OR [Presence of primary livestock markets AND water points] OR ["very high" accessibility] OR ["very high" Degree] OR ["very high" Betweenness]

ii) High: ["high" animal density] OR [Presence of secondary livestock markets AND water points] OR ["high" accessibility] OR ["high" Degree] OR ["high" Betweenness]

iii) Low: ["low" animal density] OR ["high" accessibility] OR ["low" Degree] OR ["low" Betweenness]

iv) Negligible: All remaining communes

It is important to stress that the risk factors as well as the strata fixed in this study are not permanents; they can be re-evaluated at any time if necessary to take into account the new data and update the risk maps.

Validation of the risk mapping

It was decided to validate the high and very high FMD risk communes obtained with the FMD suspicion data from 2014 to 2015 from the Ministry of Livestock of Chad to see if there is a correlation between the FMD suspicion cases and the risk factors used in the mapping. Communes with a high and very high risk of the spread of FMD will be compared with communes where cases of suspected FMD have been reported by veterinary officers in the field.

Software

The data were analysed using the R software [42], in particular the SNA package [43]. Spatial data and results were visualized using QGIS software [44].

Results

Mapping the risk of introduction

The results obtained show that the risk of introducing FMD virus from neighbouring countries such as Cameroon, Sudan, Niger and the Central African Republic is very high (Figure 13). However, the risk of introduction of the virus from Libya and Nigeria was not assessed, since these two countries do not present a risk of introduction of the FMD virus into Chad. Because Chad does not import animals from these countries but rather exports to these countries so there is no risk of virus introduction. Figure 14 shows the risk of introduction of the FMD virus into Chad from neighbouring countries. The results of the assessment of the risk of introduction of the virus show that out of 347 administrative communes in Chad, 12 communes located at the borders (3.45%) have a “very high” risk of FMD virus emission. There are 52 communes with “high” risk borders (14.98%), 89 and 194 communes “low” (25.64%) and "negligible" risk (55.90%).

Mapping the risk of exposure

Figure 15 presents the results from the assessment of the risk of exposure in Chad. Out of 347 administrative communes, 54 communes were considered "very high" risk (15.56%), 78 "high" risk communes (22.47%), 95 "low" risk communes (27.37%) and 120 "negligible" risk communes (34.58%).

Validation of risk mapping

The Ministry of Livestock in Chad between 2014 and 2015 recorded suspicion of 210 FMD outbreaks. These suspected outbreaks have been declared in 38/347 communes, i.e. 10.95% [3]. It was found that 63% of these suspected outbreaks were reported in communes at very high risk, 26% in communes at high risk and 11% in communes at low risk. Our results show that there is a correlation between suspected FMD outbreaks and the risk factors used in the mapping (r= 0.52). Furthermore, there is no significant difference (p-value = 0.4759) between communes with a high and very high risk of spreading FMD and communes where cases of suspected FMD have been reported.

Discussion

The principle of our approach described here presents a simple approach for risk assessment of disease introduction and exposure. The approach classifies areas according to their level of risk where the disease is more likely to be introduced and spread, and thus provides a rational basis for targeting the areas to be monitored since there are insufficient resources to monitor the whole country. Our framework includes tools such as geographic information system (GIS) and SNA, commonly used in epidemiology. Therefore, it is flexible in the use of data sets that vary from country to another. In addition, it may consider a variety of risk factors for different diseases. However, one obligation of our approach is the use of expert opinion when it comes to setting thresholds for identified risk factors to select different strata in order to produce exit maps. Thus, it is possible that bias may be introduced by the use of "expert opinion" because of preconceived notions about the importance of the various pathways of disease introduction and spread, but the correspondence between sites of ancient suspicions of disease and areas of very high risk of expected occurrence suggests that this is not the case. In addition, the analysis performed on each risk map by comparing with actual facts on the ground also gave confidence in the robustness of our approach. With regard to the risk of introducing FMD into Chad, it has been found that high or very high risk areas are associated with the illegal importation of infected animals from neighbouring countries such as Sudan, Niger, Cameroon and the Central African Republic, which are endemic [6,16–20]. For the exposure risk of susceptible animals, a very high exposure risk was observed in 54 of the 347 Chadian administrative communes. This very high risk of exposure in these municipalities can be explained by a high concentration of livestock and better accessibility between these communes. Some infected animals are therefore contaminants before we even know it, so they are a source of the disease. Indeed, small ruminants show little clinical signs to FMD so they can easily spread the virus over long distances during transhumant movements in search of water and pasture.

One of the difficulties encountered during this study was the lack of data. Indeed, an important documentation was consulted and a certain number of field agents were contacted during this study, which allowed the collection of an important quantity of data. However, some data remain missing (e.g. cross-border livestock flows, animal prices, overall list of livestock markets) and others seem unreliable (e.g. number of animals sold by farmers, number of reported cases of suspected FMD). Thus, the reliability of risk maps is

questionable given the absence and reliability of some data. Seasonal variability has not been taken into account here, and it would be interesting to take it into account and produce a risk map according to the time of year. Indeed, risk factors such as accessibility and animal density are not the same throughout the year. For example, in the dry season between October and June, transhumants move with their animals to the south of the country in search of good pastures and water so the density will be higher during this period in the South. On the other hand, this animal density becomes higher in the North during the rainy season (July-September) because of the rise of transhumants towards their original terroirs in the Nord of country. Also, some areas are inaccessible in rainy season which changes the animal density during the year.

Conclusion

Our study constitutes a first assessment of the risk of occurrence of the FMD virus in Chad. The qualitative risk mapping approach has made it possible to identify areas at risk according to the assessment of factors likely to play a role in the introduction and/or spread of the FMD virus in Chad. However, national and cross-border surveys may be conducted in the future to collect more accurate data on internal and cross-border livestock flows, animal prices, livestock markets and animal movement periods in order to update risk maps. The results obtained through our approach can be used by Chadian veterinary services on the one hand to perform risk stratification in order to optimise the allocation the staff and resources of veterinary services for continuous disease surveillance in "high" and "very high" risk areas and on the other hand to define and implement a realistic the surveillance protocol for FMD risk-based.

References

1. Bonnet B., Maasarelli A., Moussa H. & Adam A. (2010). – *Mission d'étude de faisabilité pour la définition d'une zone pilote de transit et de services aux acteurs de la filière d'exportation du bétail et d'un cadre général de certification et de traçabilité.* Ministère de l'Elevage, N'Djamena, Tchad.
2. Ahmat Y. (2014). – Statistiques de commerce extérieur au Tchad. Available at: http://www.inseedtchad.com/IMG/pdf/commerce_exterieur2014_def-2.pdf (accessed on 10 September 2016).
3. M.E (2015). – Statistiques du Ministère de l'Elevage du Tchad.
4. Ouagal M., Hendrikx P., Berkvens D., Ncharé A., Cissé B., Akpeli P.Y., Sory K. & Saegerman C. (2008). – Les réseaux d'épidémiosurveillance des maladies animales en Afrique francophone de l'Ouest et du Centre. *Revue scientifique et technique-Office international des épizooties*, **27** (3), 689–702.
5. Toma B., Dufour B., Rivière J. & al. (2016). – La fièvre aphteuse,Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises. Available at: http://eve.vet-alfort.fr/pluginfile.php/43606/mod_resource/content/0/FA_2016_complet.pdf (accessed on 15 September 2016).
6. Couacy-Hymann E., Aplogan G.L., Sangaré O., Compaoré Z., Karimu J., Awoueme K.A., Seini A., Martin V. & Valarcher J.F. (2006). – Étude rétrospective de la fièvre aphteuse en Afrique de l'Ouest de 1970 à 2003. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, **25** (3), 1013–1024.
7. Dehoux J.P. & Vé G.H. (1991). – Epizootie de fièvre aphteuse au Nord-Bénin durant la saison sèche 1990-1991. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, **44** (3), 261–262. doi:10.19182/remvt.9162.
8. Alexandersen S., Zhang Z., Donaldson A.I. & Garland A.J.M. (2003). – The Pathogenesis and Diagnosis of Foot-and-Mouth Disease. *Journal of Comparative Pathology*, **129** (1), 1–36. doi:10.1016/S0021-9975(03)00041-0.
9. Domenech J. (2011). – Mise en oeuvre d'une stratégie mondiale pour le contrôle de la fièvre aphteuse. Available at: http://oie.int/doc/ged/D10456.PDF (accessed on 5 July 2016).

10. Alexandersen S., Zhang Z. & Donaldson A.I. (2002). – Aspects of the persistence of foot-and-mouth disease virus in animals—the carrier problem. *Microbes and Infection*, **4** (10), 1099–1110. doi:10.1016/S1286-4579(02)01634-9.
11. Donaldson A.I. (1997). – Risks of spreading foot and mouth disease through milk and dairy products. *Revue scientifique et technique-Office international des épizooties*, **16**, 117–131.
12. Houndjè E., Kpodékon M., Moutou F., Blaise-Boisseau S., Bakkali-Kassimi L., Berkvens D., Zientara S. & Saegerman C. (2013). – Principales caractéristiques epidémiologiques et impact économique de la fièvre aphteuse en afrique: Synthèse bibliographique. *de médecine vétérinaire*, **158**, 119–133.
13. Bartley L.M., Donnelly C.A. & Anderson R.M. (2002). – *Review of foot-and mouth disease virus survival in animal excretions and on fomites*. British Medical Journal Publishing Group.
14. Ouagal M., Hendrikx P., Saegerman C. & Berkvens D. (2010). – Comparison between active and passive surveillance within the network of epidemiological surveillance of animal diseases in Chad. *Acta tropica*, **116** (2), 147–151.
15. Gueme A. & Bidjeh K. (1998). – Contribution au sérotypage du virus aphteux dans quelques régions du Tchad.
16. Habiela M., Alamin M.A., Raouf Y.A. & Ali Y.H. (2010). – Epizootiological study of foot and mouth disease in the Sudan: the situation after two decades. *Veterinarski arhiv*, **80** (1), 11–26.
17. Pomeroy L.W., Bjørnstad O.N., Kim H., Jumbo S.D., Abdoulkadiri S. & Garabed R. (2015). – Serotype-specific transmission and waning immunity of endemic foot-and-mouth disease virus in Cameroon. *PloS one*, **10** (9), e0136642.
18. Ularamu H.G., Ibu J.O., Wood B.A., Abenga J.N., Lazarus D.D., Wungak Y.S., Knowles N.J., Wadsworth J., Mioulet V., King D.P. & others (2016). – Characterization of Foot-and-Mouth Disease Viruses Collected in Nigeria Between 2007 and 2014: Evidence for Epidemiological Links Between West and East Africa. *Transboundary and Emerging Diseases*. Available at: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tbed.12584/full (accessed on 24 January 2017).

19. Ehizibolo D.O., Haegeman A., De Vleeschauwer A.R., Umoh J.U., Kazeem H.M., Okolocha E.C., Van Born S. & De Clercq K. (2017). – Foot-and-mouth disease virus serotype SAT1 in cattle, Nigeria. *Transboundary and Emerging Diseases*, , 8.
20. Bertram M.R., Delgado A., Pauszek S.J., Smoliga G.R., Brito B., Stenfeldt C., Hartwig E.J., Jumbo S.D., Abdoulmoumini M. & Marie A.A.O. (2018). – Effect of vaccination on cattle subclinically infected with foot-and-mouth disease virus in Cameroon. *Preventive veterinary medicine*, **155**, 1–10.
21. Murray N. (2004). – *Handbook on import risk analysis for animals and animal products: quantitative risk assessment*. Office international des épizooties.
22. ABARES (2012). – Multi-Criteria Analysis Shell for Spatial Decision Support. Available at: http://www.agriculture.gov.au/abares/aclump/multi-criteria-analysis.
23. East I.J., Wicks R.M., Martin P.A.J., Sergeant E.S.G., Randall L.A. & Garner M.G. (2013). – Use of a multi-criteria analysis framework to inform the design of risk based general surveillance systems for animal disease in Australia. *Preventive veterinary medicine*, **112** (3–4), 230–247.
24. Coste C., Squarzoni-diaw C. & Arsevska E. (2016). – Optimization of national monitoring systems incorporating risk analysis linked to animal mobility. Available at: http://www.aitvm-stvm2016.com/.
25. Plee L., Hattenberger A.M., Boisseleau D., Chartier C., Durand B., Ganiere J.P., Guillotin J., Lancelot R., Moutou F. & Saergerman C. (2008). – Une méthode qualitative d'estimation du risque en santé animale. *Rapport AFSSA*.
26. OIE (2010). – Code sanitaire pour les animaux terrestres. Analyse du risque à l'importation. Chapitres 211 et 217. Available at: https://www.oie.int/doc/ged/D7598.PDF.
27. Fao (2016). – Global animal disease information système. Available at: http://empres-i.fao.org/eipws3g/ (accessed on 20 May 2016).
28. OIE (2016). – Mesures de lutte contre les maladies animales. Available at: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseasecontrol/measures (accessed on 21 April 2016).
29. Wint W. & Robinson T. (2007). – *Gridded livestock of the world 2007.* FAO, Rome (Italy). World Health Organization, Rome (Italy)., Rome (Italy). Available at: http://www.fao.org/publications/card/en/c/7fc2bd92-81ad-5e80-9abb-b34fb5ae0bdf/.

30. Robinson T.P., Wint G.W., Conchedda G., Van Boeckel T.P., Ercoli V., Palamara E., Cinardi G., D'Aietti L., Hay S.I. & Gilbert M. (2014). – Mapping the global distribution of livestock. *PloS one*, **9** (5), e96084.
31. Nicolas G., Robinson T.P., Wint G.W., Conchedda G., Cinardi G. & Gilbert M. (2016). – Using random forest to improve the downscaling of global livestock census data. *PloS one*, **11** (3), e0150424.
32. M.I.E (2011). – Réseaux des transports en République du Tchad. Available at: http://www.comcec.org/wp-content/uploads/2015/02/Chad.pdf (accessed on 11 May 2016).
33. Guibert B. & N'garoussa Hamat C. (2013). – Appui à la gestion de points d'eau créés sur les axes de commercialisation du bétail.
34. Touré I., Ickowicz A., Wane A., Garba I., Gerber P., Atte I., Cesaro J.D., Diop A.T., Djibo S. & Ham F. (2012). – *Atlas des évolutions des systèmes pastoraux au Sahel: 1970-2012*. CIRAD&FAO.
35. Barraud V., Frontieres V. sans, Saleh O.M., Mamis D. & others (2001). – L'élevage transhumant au Tchad oriental. Available at: http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF2015040513 (accessed on 27 December 2016).
36. M.E (2016). – Etat des lieux du Développement Pastoral. Available at: http://www.plateforme-pastorale-tchad.org/classified/Etat_des_lieux_Tome2_SNDP_VD.pdf (accessed on 10 May 2016).
37. Ortiz-Pelaez A., Pfeiffer D.U., Soares-Magalhaes R.J. & Guitian F.J. (2006). – Use of social network analysis to characterize the pattern of animal movements in the initial phases of the 2001 foot and mouth disease (FMD) epidemic in the UK. *Preventive veterinary medicine*, **76** (1), 40–55.
38. Ickowicz A., Aminou B.K., Ancey V., Azoulay G. & Benamour A. (2010). – Interventions financées par l'AFD dans le secteur de l'hydraulique pastorale au Tchad sur la période 1994-2004. Available at: http://agritrop.cirad.fr/558858/ (accessed on 17 February 2017).
39. Mathian H. (2006). – Méthodes de discrétisation. Available at: http://sigea.educagri.fr/fileadmin/user_upload/public/Ressources_pedagogiques/Supports_de_cours/Cartographie/Discretisation_diapo.pdf (accessed on 15 April 2016).

40. Cauvin C., Reymond H. & Serradj A. (1987). – *Discrétisation et représentation cartographique*. Gip Reclus Montpellier. Available at: http://library.wur.nl/WebQuery/clc/515579 (accessed on 15 February 2017).
41. Rican S. (1999). – La cartographie des données épidémiologiques. Les principales méthodes de discrétisation et leur importance dans la représentation cartographique. *Cahiers d'études et de recherches francophones/Santé*, **8** (6), 461–470.
42. R Core Team R.C. (2018). – *R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.* ISBN 3-900051-07-0. Available at: https://www.r-project.org/.
43. Butts C.T. & Butts M.C.T. (2016). – Package 'sna.' *Computer Software]. Retrieved from https://cran. r-project. org/web/packages/sna/sna. pdf*.
44. Hijmans R.J., Guarino L., Bussink C., Mathur P., Cruz M., Barrentes I. & Rojas E. (2012). – DIVA-GIS: A geographic information system for the analysis of species distribution data. *Versão*, **7**, 476–486.

Tableau II : Data collected and identified factors of risk in Chad

Risk	**Risk factors**		**Data sources**
Risk of introduction	The health status data from neighbouring countries and FMD surveillance and control systems		-the EMPRES-I database [27] -the OIE WAHID interface for the year 2015 [28]
	for health data on FMD and livestock trade in Chad		-the Ministry of Livestock's annual statistics report for 2015 (M.E 2015b)
	The prevalence and spatial distribution of infection in Chad		-the Ministry of Livestock's annual statistics report for 2015 (M.E 2015b)
Risk of exposure	Animal density of susceptible species	Cattle	-the FAO document « Gridded livestock of the world of 2007» [29]
		Goats	
		Sheep	
		Pigs	
	SNA indicators for trade flows	Degree	-the annual report of the Chad Ministry of Livestock (M.E 2015b) -the 2009-2013 PAFIB/Chad project reports [33] - the 1970-2012 SIPSA Atlas [34] -the book on "transhumant livestock farming in eastern Chad" [35] -the report of the "Feasibility study mission for the definition of a pilot transit zone and services to stakeholders in the livestock export chain and a general certification and traceability framework" [1].
		Betweennes s	
	SNA indicators for transhumance flows	Degree	-the 2009-2013 PAFIB/Chad project reports [33]; -the 1970-2012 SIPSA Atlas [34]; -the book on "transhumant livestock farming in eastern Chad" [35]
		Betweennes s	
	Accessibility (national road network of Chad)		-the annual report of the Ministry of Infrastructure and Equipment of Chad [32].
	List of administrative municipalities with livestock markets and water points		-the 2009-2013 PAFIB/Chad project reports [33]; AFD report on the pastoral water sector in Chad [38]; -Report on the state of pastoral development in Chad [36]

Tableau III : Estimated risk of virus introduction from neighbouring countries of Chad

neighbouring countries	**Health status**	**Legal trade with countries at risk**	**Illegal movements**	**Monitoring devices = 2**				**Control devices = 3**					**Total = 12**	**Emission risk of neighbouring countries**
	Infected contry = 3	**= 1**	**= 3**											
	(if infected contry=3, unscathed contry=0)	(if yes=1, no=0)	(if yes=3, no=0)	Obligatory declaration = **0,25** (if yes =0 no=0,25)	monitoring active =**0,5** (if yes =0 no=0,5)	monitoring passive = **0,5** (if yes =0 no=0,5)	Risk-based monitoring =**0,75** (if yes =0 no=0,75)	Border control = **1** (if yes =0 no=1)	Sanitary culling of hearths =**0,5** (if yes =0 no=0,5)	Sanitary culling aroud hearths = **0,5** (if Yes =0 No=0,5)	Zoning and movement restrictions = **0,75** (if yes =0 no=0,75)	Ring vaccination = **0,25** (if yes =0 no=0,25)		
Niger	3	1	3	0,0	0,5	0,0	0,75	1	0,5	0,5	0,75	0,25	**11,25**	Very high
Cameroon	3	1	3	0,0	0,5	0,0	0,75	1	0,5	0,5	0,75	0,25	**11,25**	Very high
Sudan	3	1	3	0,0	0,0	0,0	0,75	1	0,5	0,5	0,75	0,25	**10,75**	Very high
Central African Republic	3	1	3	0,0	0,5	0,0	0,75	1	0,5	0,5	0,75	0,25	**11,25**	Very high
Libya	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**-**	No estimated
Nigeria	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**-**	No estimated

The risk of virus introduction from Libya and Nigeria has not been estimated because these countries do not export livestock to Chad, so they do not pose a risk.

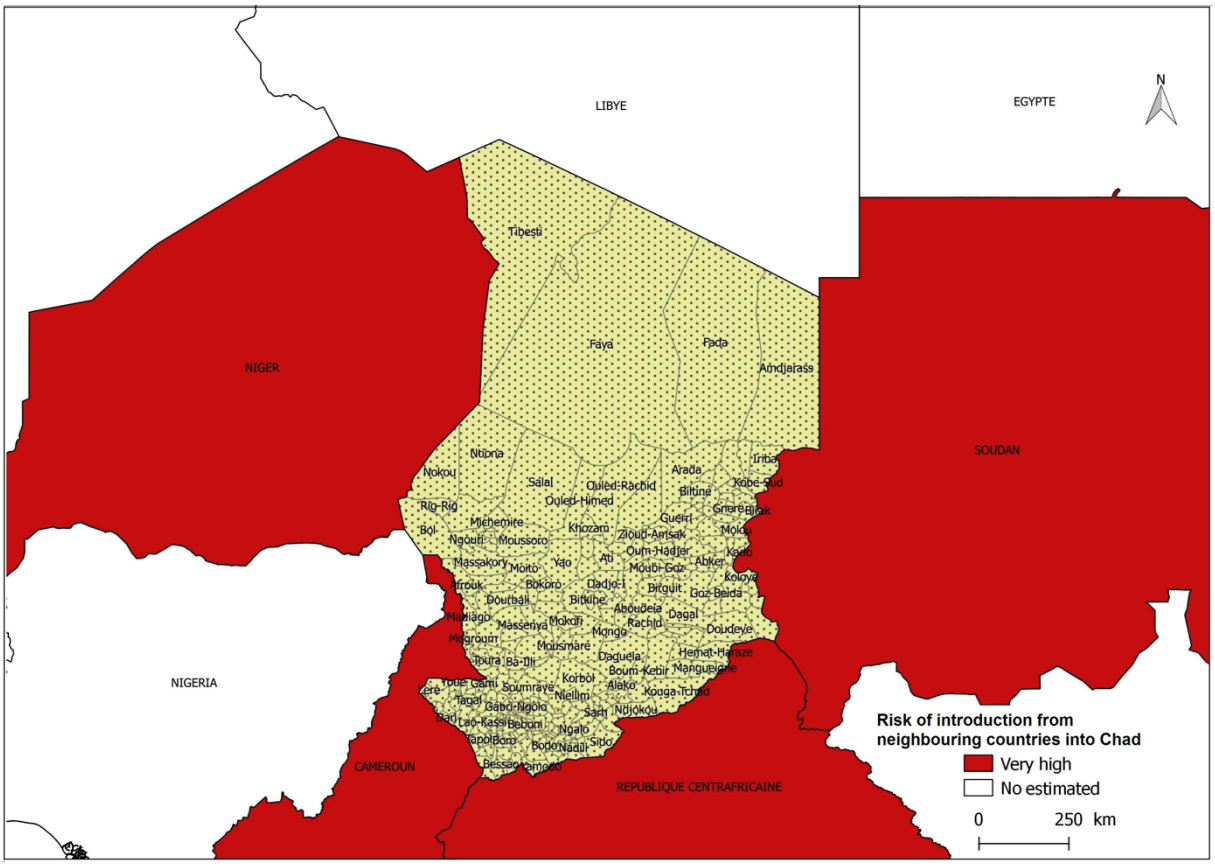


Figure 13 : Mapping the risk of introduction of FMD virus from neighbouring countries into Chad

Very high risk of virus introduction comes from countries colored in red and countries colored in white do not pose a risk because they do not export livestock to Chad.

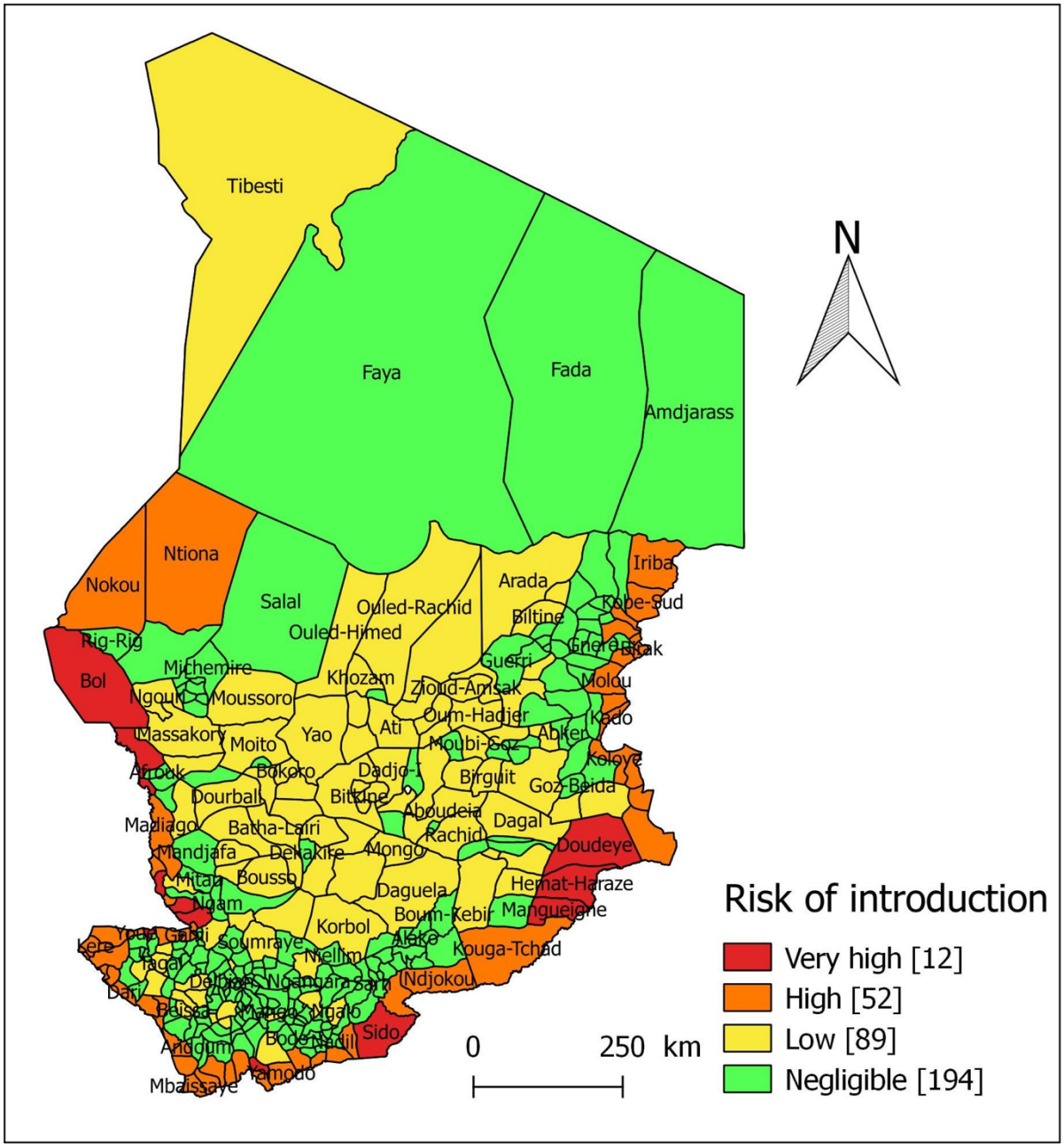


Figure 14 : Mapping the risk of introduction of FMD virus into Chad

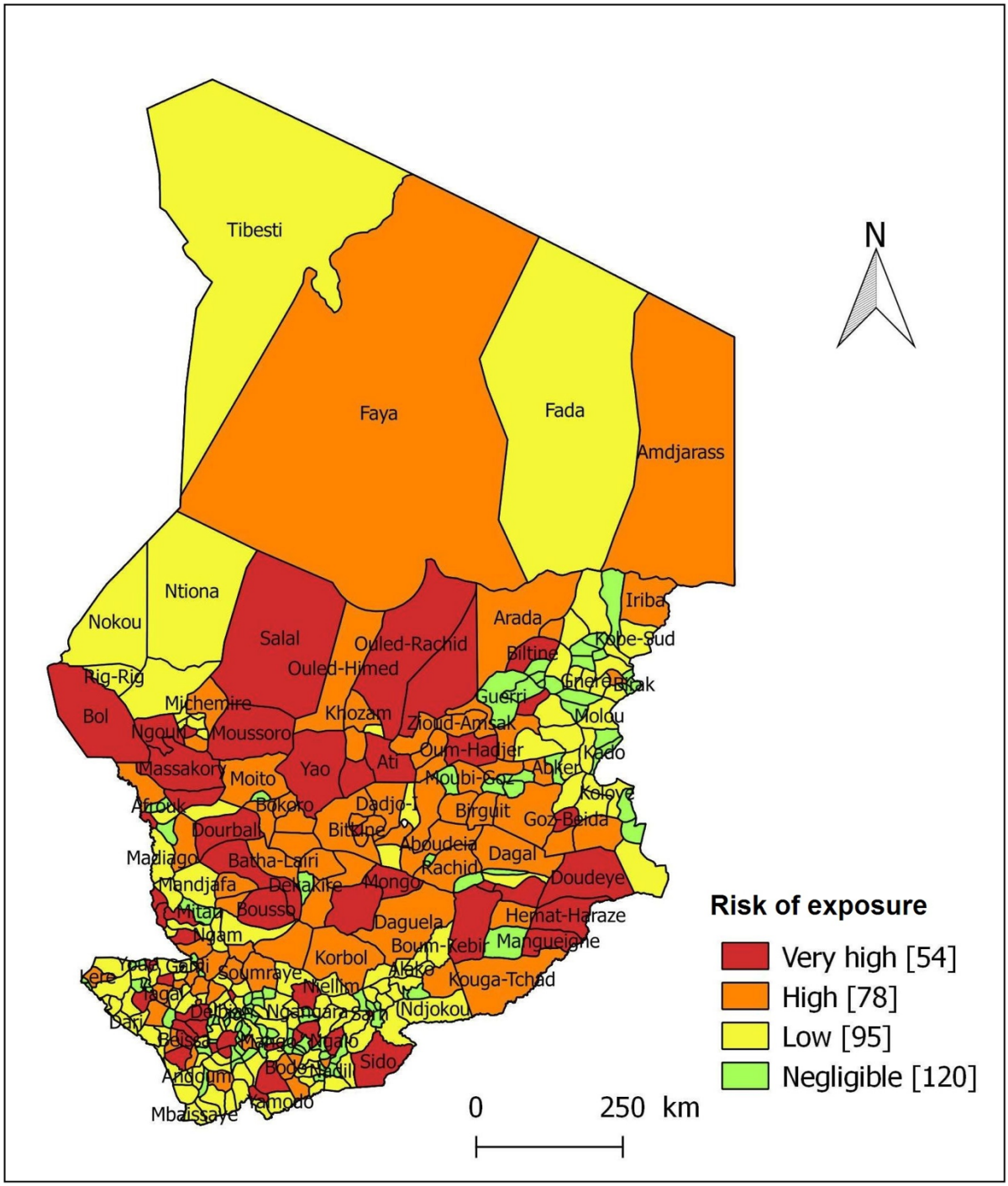


Figure 15 : Mapping the risk of exposure in Chad

Chapitre 6 : Discussion générale, conclusion et perspectives

6.1. Discussion générale

Une meilleure compréhension de l'épidémiologie moléculaire est très importante pour la prévention et le contrôle des maladies infectieuses, y compris la fièvre aphteuse. Il est donc important de déterminer les zones à risque, d'estimer la séroprévalence de la maladie et de caractériser les sérotypes du virus de la fièvre aphteuse circulant dans le pays. En revanche, comme pour de nombreux pays de l'Afrique centrale et de l'Ouest, les souches actuelles du virus de la fièvre aphteuse qui circulent au Tchad ne sont pas encore séquencées (Couacy-Hymann et al. 2006; Rweyemamu et al. 2008; Souley Kouato 2017). Cela a des implications importantes pour le choix d'une souche vaccinale appropriée et il est essentiel que la sélection se fasse sur la base de la relation avec les souches actuelles sur le terrain plutôt qu'avec des virus historiques (Doel 1996, 2005). En conséquence, les travaux conduits durant cette thèse pourraient être utilisés comme information initiale pour mettre en œuvre un futur plan de prévention et de contrôle de la fièvre aphteuse chez les espèces animales sensibles.

La bibliographie nous a permis de mettre en évidence la distribution de différents sérotypes du virus de la fièvre aphteuse dans le monde. En fonction du sérotype et des sous-types qui circulent, les régions endémiques ont été subdivisés en 7 pools de virus. Cependant, les sérotypes O, A, SAT 1, 2 et 3 circulent en Afrique Subsahariénne (Jamal et Belsham 2013). Ces sérotypes ne sont pas uniformément répartis et que chaque sérotype donne lieu à des schémas épidémiologiques différents et, par conséquent, à une épidémiologie complexe de la fièvre aphteuse dans les pays d'Afrique Subsaharienne enzootiques. Par ailleurs, la bibliographie nous a permis d'obtenir des données importantes sur les mouvements des animaux et le système d'élevage au Tchad (mélange d'animaux autour des points d'eau et pendant les pâturages) qui sont des facteurs de diffusion de la fièvre aphteuse. En effet, la mobilité transfrontalière et incontrôlée du bétail était l'une des principales sources de propagation du virus de la fièvre aphteuse d'un pays à un autre (Balinda et al. 2010; Bastos et al. 2003; Knowles et Samuel 2003). Cette partie bibliographique a aussi mis en évidence la nécessité évidente de disposer de données de bonne qualité pour réaliser des études afin d'améliorer le système de surveillance et de déclaration des maladies et de planifier une lutte efficace contre la fièvre aphteuse au Tchad.

Dans les sous-parties qui suivent, les résultats des différentes études réalisées dans le cadre de cette thèse sont discutés.

6.1.1 Cartographie des risques basée sur l'occurrence de la fièvre aphteuse au Tchad

Cette étude visait à évaluer et cartographier le risque d'apparition de la fièvre aphteuse par la nouvelle approche de cartographie de risque à l'aide d'une revue bibliographique, de données sur la mobilité animale et de l'avis d'experts des services vétérinaires nationaux et internationaux.

Le Tchad est l'un des principaux exportateurs de bétail en Afrique centrale. Cependant, le commerce informel du bétail entre le Tchad et les pays voisins augmente le risque d'introduction et de propagation de maladies animales dont la fièvre aphteuse. Après avoir considéré tous les facteurs de risque influençant le risque d'introduction et d'exposition, il a été décidé de définir quatre strates de risque (très élevé, élevé, faible et négligeable). Ensuite, des cartes illustrant le risque d'introduction et d'exposition à la fièvre aphteuse au Tchad ont été produites. L'étude a permis de montrer que sur 347 communes administratives du Tchad, 12 communes (3,45%) situées aux frontières étaient caractérisées par un risque « très élevé » d'émission du virus de la fièvre aphteuse et 54 communes (15,56%) étaient caractérisées par un risque « très élevé » d'exposition à la fièvre aphteuse. Il a été mis en évidence que certaines régions du Tchad seraient plus exposées à l'introduction et à la propagation du virus de la fièvre aphteuse. Cela permettrait de savoir où la priorité doit être donnée lors de l'application de mesures de contrôle, en particulier dans un contexte de ressources limitées. En effet, la nouvelle approche qui a été utilisée pour évaluer le risque est une approche assez simple, utilisant des logiciels libre accès (QGIS et R). Elle a permis de classer les zones en fonction de leur niveau de risque où la maladie est plus susceptible d'être introduite et de se propager. Cette nouvelle approche de cartographie fournit ainsi une base rationnelle pour cibler les zones à surveiller, car les ressources sont insuffisantes pour surveiller l'ensemble du pays. Cependant, l'une des obligations de la nouvelle approche cartographique est l'utilisation de l'avis d'experts lorsqu'il s'agit de fixer des seuils pour les facteurs de risque identifiés afin de sélectionner les différentes strates pour produire des cartes de sortie. En ce qui concerne le risque d'introduction de la fièvre aphteuse au Tchad, il a été constaté que des zones à risque « élevé » ou « très élevé » sont associées à l'importation illégale d'animaux infectés en provenance de pays voisins tels que le Soudan, le Niger, le Cameroun et la République

centrafricaine, qui sont enzootiques (Bertram et al. 2018; Couacy-Hymann et al. 2006; Habiela et al. 2010; Souley Kouato 2017). Pour le risque d'exposition des animaux sensibles, le risque « très élevé » observé dans 54 des 347 communes administratives tchadiennes peut s'expliquer par la forte concentration de bétail dans ces communes et une meilleure accessibilité entre elles. L'une des difficultés rencontrées au cours de cette étude a été le manque de données. En effet, une documentation importante a été consultée et un certain nombre d'agents de terrain ont été contactés au cours de cette étude, ce qui a permis la collecte d'une quantité importante de données. Ainsi, les résultats de cette étude doivent être interprétés avec prudence en raison de certaines données manquantes (par exemple, le nombre d'animaux échangés, les prix des animaux, la liste globale des marchés de bétail) et d'autres semblent peu fiables (par exemple, la sous-déclaration des cas de suspicion de la fièvre aphteuse). Cependant, la sous-déclaration des foyers de maladies animales est une caractéristique courante dans la plupart des pays en développement où le système de déclaration des maladies est médiocre et où la majorité des animaux sont détenus par des éleveurs ruraux (Rweyemamu et al. 2008). Ainsi, la fiabilité des cartes de risques obtenues est discutable compte tenu de l'absence et de la fiabilité de certaines données. Aussi, la variabilité saisonnière n'a pas été prise en compte, il serait donc intéressant d'en tenir compte et de produire de cartes des risques en fonction de la période de l'année. En effet, les facteurs de risque tels que l'accessibilité et la densité animale ne sont pas les mêmes tout au long de l'année. Par exemple, pendant la saison sèche entre octobre et juin, les transhumants se déplacent avec leurs animaux vers le sud du pays à la recherche de bons pâturages et d'eau, de sorte que la densité sera plus élevée pendant cette période dans le Sud. D'autre part, cette densité animale devient plus élevée dans le Nord pendant la saison des pluies (juillet-septembre) en raison de la montée des transhumants vers leurs terroirs d'origine dans le Nord du pays. De plus, certaines zones sont inaccessibles en saison des pluies, ce qui modifie la densité animale au cours de l'année. En effet, on sait que la production animale au Sahel s'adapte aux variations saisonnières et interannuelles de la biomasse végétale et de la disponibilité des ressources en eau (Boutrais 2007; Touré et al. 2009, 2012). Cela a des conséquences sur la concentration animale qui peut favoriser la transmission de maladies infectieuses, y compris la fièvre aphteuse.

6.1.2 Séroprévalence et caractérisation moléculaire du virus la fièvre aphteuse

Cette étude visait à déterminer la séroprévalence de la fièvre aphteuse chez les ruminants domestiques et à caractériser les souches virales circulant dans trois régions du Tchad (Batha, Wadi Fira et Ennedi Ouest). Au total, 1520 sérums (928 des bovins, 216 des caprins, 254 des ovins et 122 des dromadaires) et 9 tissus épithéliaux de bovins ont été collectés. Les analyses sérologiques et virologiques ont été effectuées au Laboratoire de référence de la fièvre aphteuse à l'ANSES à Maisons-Alfort (France). Ainsi, les 1520 sérums ont été testés par le test ELISA PrioCHECK® FMDV NSP, pour détecter la présence d'anticorps induits par des protéines non structurales du virus de la fièvre aphteuse (en particulier la protéine 3ABC), correspondant à une infection passée par le virus de type sauvage (Sørensen et al. 1998; Brocchi et al. 2006). Il a été obtenu une séroprévalence globale de 40% (602/1520) au test ELISA PrioCHECK® FMDV NSP. Parmi ces 602 échantillons positifs, 67 appartiennent à des jeunes animaux âgés de moins d'un an. Ensuite, ces 67 serums des jeunes animaux ont été analysés par les tests ELISA PrioCHECK® FMDV types O et A et ELISA compétition interne en phase solide (SPCE) pour détecter les types SAT 1 et SAT 2 du virus de la fièvre aphteuse. Les résultats sérologiques ont montré de séroprévalences variant de 51 % à 86 % dans les zones : Batha Ouest, Batha Est et Wadi Fira. Cette répartition géographique indique que la maladie a été davantage signalée dans les régions où la densité du cheptel bovin est élevée. Les mouvements incontrôlés d'animaux dans ces zones peuvent être la cause principale de la propagation rapide de la fièvre aphteuse. Nos résultats sont cohérents avec les résultats antérieurs dans les mêmes régions (Ouagal 2014). Cet auteur a obtenu une séroprévalence de 61,9 %. D'autre part, le faible taux de séroprévalence observé (≤11%) à l'Ennedi Ouest pourrait s'expliquer par le fait que cette zone est située dans une zone aride où la densité animale est très faible (il n'y a pas des bovins) et les contacts entre troupeaux sont minimes.

L'étude a confirmé aussi que les quatre sérotypes du virus de la fièvre aphteuse O, A, SAT1 et SAT2 ont bien circulé au Tchad en 2016. Cependant, le sérotype SAT2 qui dominait avec une séroprévalence globale de 43,3 % et il était présent dans les quatre zones étudiées (Batha Ouest, Batha Est, Ennedi Ouest et Wadi Fira). Le sérotype SAT1 était le moins répandu avec seulement 4,5% et présent dans le Batha Est et le Batha Ouest. Le sérotype O (29,9%) a été signalé respectivement au Batha Ouest et au Wadi Fira. Enfin, le sérotype A (22,4%) n'a été

détecté que dans le Wadi Fira. Par conséquent, les résultats sérologiques ainsi que la distribution géographique de la fièvre aphteuse confirment le caractère enzootique de la maladie dans l'ensemble de la zone d'étude. La présence des quatre sérotypes (A, O, SAT1 et SAT2) dans le pays pourrait être due à la libre circulation transfrontalière des animaux à la recherche de pâturages et de points d'eau et au commerce illégal du bétail entre le Tchad et les pays voisins tels que la République centrafricaine, le Soudan, le Cameroun et le Niger. En effet, ces quatre sérotypes circulants (O, A, SAT1 et SAT2) ont été également identifiés et non encore éradiqués dans ces pays voisins du Tchad (Kouato et al. 2018; Bertram et al. 2018; Couacy-Hymann et al. 2006; Habiela et al. 2010). De plus, lorsqu'aucune mesure de lutte n'est appliquée, les maladies hautement contagieuses comme la fièvre aphteuse ont tendance à se produire avec des cycles épizootiques réguliers liés à l'augmentation de la population sensible au fil du temps (Thrusfield et Christley 2005).

Concernant les analyses virologiques, les 9 échantillons d'épithélium ont été testés d'abord par RT-PCR en temps réel pour détecter les régions IRES et 3D du génome viral. Les résultats ont montré que 5/9 échantillons sont positifs. Puis les 5 échantillons positifs à la RT-PCR en temps réel ont été testés par RT-PCR multiplex classique, puis par RT-PCR classique pour amplification du gène VP1 (Laor et al. 1992; Reid et al. 2000; Relmy et al. 2017). Un seul échantillon sur 5 a été détecté positif (sérotype SAT2) par RT-PCR multiplex classique et RT-PCR classique. Ce résultat a été également confirmé par le laboratoire de référence mondiale pour la fièvre aphteuse à Pirbright en Angleterre. Ensuite, un isolement viral a été tenté plusieur fois mais sans succès. En effet, les échantillons (les suspensions de tissu épithélial) ont été inoculés sur des cultures cellulaires sensibles au virus de la fièvre aphteuse, telles que la lignée cellulaire ZZ-R127 (cellules épithéliales fœtales de langue de chèvre) (Brehm et al. 2009), la lignée cellulaire IBRS-2 (cellules épithéliales de rein de porc) et la lignée cellulaire BHK-21 (cellules fibroblastiques de rein de bébé hamster) pour pouvoir isoler le virus (OIE 2017). Mais, après plusieurs tentatives d'isolement rien n'a été obtenu. Cela est dû à la mauvaise qualité des échantillons. Des nombreuses contraintes ont été rencontrées lors de la collecte des échantillons. En effet, au cours de la collecte des échantillons, nous avons dû faire face, entre autres, à des contraintes liées au problème de déclaration tardive des foyers de fièvre aphteuse et un défaut de la chaine de froid. En raison du manque de capacités de détection et de caractérisation des souches du virus de la fièvre aphteuse au laboratoire national du Tchad, l'alternative était d'envoyer les échantillons au

laboratoire de référence de la fièvre aphteuse de l'ANSES à Maisons-Alfort en France, en fait, l'OIE recommande que le diagnostic de la fièvre aphteuse soit effectué dans un laboratoire agréé par l'OIE (Namatovu et al. 2013).

Le sérotype SAT 2 du virus de la fièvre aphteuse caractérisé au Tchad a été fréquemment isolé dans plusieurs pays d'Afrique Subsaharienne, notamment au Cameroun, au Soudan et au Niger (Bertram et al. 2018; Couacy-Hymann et al. 2006; Habiela et al. 2010; Souley Kouato 2017). Ainsi, les analyses phylogénétiques de la séquence correspondante codant pour VP1 ont permis de déterminer un sérotype SAT 2 topotype VII, proche des souches virales du Cameroun 2015 avec une similarité de 98,60%. Ces résultats confirment une fois de plus l'hypothèse selon laquelle la fièvre aphteuse au Tchad est principalement liée aux mouvements incontrôlés d'animaux, à la transhumance transfrontalière et au commerce de bétail vivant. Un certain nombre d'exemples illustrent l'impact des mouvements incontrôlés du bétail et de la transhumance dans la transmission du virus de la fièvre aphteuse en Afrique où une grande majorité des pays sahéliens sont concernés par la transhumance transfrontalière, soit comme pays de départ, soit comme pays de destination ou de transit (Abiola et al. 2005). Dans un tel système de productions animales, le contact entre animaux infectés et sains et entre animaux sauvages potentiellement infectés pourrait poser un risque important de propagation des maladies infectieuses, y compris la fièvre aphteuse (Tanya et al. 2003; Couacy-Hymann et al. 2006; Dean et al. 2013). Compte tenu du fait qu'il serait pratiquement impossible de limiter les contacts entre les troupeaux dans les pâturages ou les points d'eau, l'une des stratégies de contrôle et de prévention de la maladie la plus appropriée serait la vaccination des animaux. Ainsi, pour mettre en œuvre une telle campagne de vaccination, une connaissance et une compréhension approfondies de la dynamique et de l'épidémiologie du virus de la fièvre aphteuse sont nécessaires. La diversité génétique du virus de la fièvre aphteuse associée à son caractère enzootique en Afrique Subsaharienne implique la nécessité d'utiliser un vaccin au moins trivalent qui contient les sérotypes A, O et SAT 2 actuellement dominants dans la sous-région (Tekleghiorghis et al. 2016). Cependant, outre les contraintes liées à la diversité génétique du virus de la fièvre aphteuse, il existe des contraintes économiques qui peuvent expliquer pourquoi la vaccination systématique des animaux contre la fièvre aphteuse n'est pas devenue une stratégie de lutte contre la maladie, en particulier dans les pays de l'Afrique Subsaharienne (Bachir et al. 2018).

6.2. Conclusion et perspectives

Au Tchad, comme dans la plupart des pays de l'Afrique Subsaharienne tels que le Cameroun, la République centrafricaine et le Niger, la fièvre aphteuse a été considérée comme une maladie animale moins prioritaire, parce qu'elle est moins fatale provoquant un faible taux de mortalité chez les animaux domestiques des races locales qui sont rustiques. Les pertes dues à cette maladie chez ces animaux ont été considérées comme moins graves et, par conséquent, toute l'attention a été accordée à la lutte contre d'autres épizooties plus graves, telles que la peste bovine et la trypanosomose. Bien que la fièvre aphteuse ne soit pas une maladie mortelle, son impact économique est réel et non négligeable (Bachir et al. 2018). Le Tchad dans sa stratégie nationale de réduction de la pauvreté, met l'accent sur les secteurs productifs, en particulier l'élevage et l'agriculture. L'amélioration des systèmes de production de l'élevage par la maitrise de la santé animale est au centre des préoccupations nationales et constitue l'un des aspects importants à prendre en compte dans la politique de développement de ce secteur. Cela incite à contrôler et éradiquer les maladies épizootiques telles que la fièvre aphteuse et mettre en place un système de surveillance pour suivre l'évolution de la maladie et fournir des données destinées aux analyses de risques visant à protéger la santé animale ou la santé publique. Cependant, la stratégie de lutte la plus efficace contre les maladies animales devrait mettre l'accent notamment sur l'identification des sources primaires d'infection et les pratiques d'élevage (Stephen et al. 2005). A cet égard, de nombreux pays se lancent dans l'approche progressive de lutte contre la fièvre aphteuse proposée par l'OIE et la FAO pour améliorer leur capacité de lutte contre la fièvre aphteuse (Sumption, Domenech, et Ferrari 2012; Souley Kouato 2017).

Ainsi, cette thèse représente une contribution initiale et importante à l'amélioration de la connaissance de l'épidémiologie de la fièvre aphteuse au Tchad. Elle a permis de révéler une nécessité d'améliorer le système de surveillance passive et de développer les capacités à effectuer des tests de laboratoire pour confirmer les suspicions cliniques. Néanmoins, la connaissance des zones à risque d'introduction et de propagation de la maladie ainsi que l'identification des sérotypes du virus de la fièvre aphteuse en cause sont des intrants importants pour lancer un programme de lutte.

A partir de données recueillies dans la littérature sur la mobilité animale et la situation épidémiologique de la maladie, il a été évalué et cartographié les zones à risque d'occurrence de la fièvre aphteuse au Tchad. La conclusion de ces résultats est que lorsque les ressources

du Gouvernement sont limitées, une politique de contrôle doit d'abord cibler les zones à risque « très élevé » et élevé » où la maladie est susceptible d'apparaitre et de se propager, cela permettra d'avoir un impact plus important sur le contrôle de la maladie.

- Bien que les mouvements transfrontaliers d'animaux liés au commerce du bétail et à la transhumance semblent être un facteur décisif dans la propagation du virus de la fièvre aphteuse, il manque jusqu'à présent de données fiables sur la mobilité animale. Par conséquent, il serait souhaitable de promouvoir une enquête nationale et transfrontalière sur la mobilité animale pour apporter des informations précises sur l'origine et destination des animaux, quantifier le flux du bétail, recenser tous les principaux points de rassemblement des animaux (marchés à bétail et points d'eau), localiser les axes de la transhumance, etc. pour permettre de réactualiser les cartes de risque d'occurrence de la maladie déjà réalisées.

- Malgré l'endémicité de la fièvre aphteuse, il n'y a pas assez des données sur la séroprévalence dans les zones d'élevage au Tchad. Ainsi, des études séro-épidémiologiques doivent être menées sur l'ensemble du territoire national pour déterminer la séroprévalence de la maladie afin de constituer une base de données.

- L'analyse phylogénétique de la séquence codant pour VP1 a permis de déterminer un sérotype SAT 2 topotype VII étroitement lié à une souche isolée au Cameroun, ce qui indique que les mouvements transfrontaliers d'animaux, sont les principaux facteurs de propagation du virus de la fièvre aphteuse dans la sous-région. Compte tenu de la diversité des sérotypes dans les pays africains, une surveillance régulière et un sérotypage avec caractérisation moléculaire des isolats des foyers de la fièvre aphteuse dans l'ensemble du pays doivent être effectués afin de vérifier l'introduction et la circulation de sérotypes potentiels dans le pays. Par la suite, il serait important de proposer des souches candidates isolées localement pour la fabrication des vaccins contre le virus de la fièvre aphteuse.

- Dans un contexte de systèmes de transhumance, le contrôle des déplacements des animaux ne serait pas une option réaliste. Toutefois, en cas d'apparition d'un foyer, des quarantaines strictes devraient être appliquées afin d'éviter la propagation de la maladie à de nouvelles zones indemnes de fièvre aphteuse.

- Le Tchad possède une population assez importante d'animaux sauvages tels que les buffles d'Afrique et les phacochères dans le parc de Zakouma au Sud du pays. En effet, il est très courant en saison sèche par insuffisance des pâturages, les animaux domestiques (ruminants) peuvent aller brouter près du parc, de fois à l'intérieur même du parc. Il serait donc intéressant de mener des études approfondies pour comprendre l'interaction entre les animaux sauvages et les animaux domestiques dans le maintien et la propagation de la fièvre aphteuse.

- Pour une maladie animale transfrontalière comme la fièvre aphteuse, il est impératif de mettre en œuvre un plan de lutte fondé sur une approche régionale intégrée. A travers cette thèse, l'une des recommandations pertinentes adressées aux décideurs politiques concerne la création d'une unité mixte de recherche sur la fièvre aphteuse au sein de l'Institut de Recherche en Elevage pour le Développement (IRED) à N'Djamena en association avec l'Université de N'Djamena. Cette unité aura pour mission d'assurer le diagnostic de la fièvre aphteuse, en particulier le diagnostic d'urgence en cas de suspicion de la maladie ; de mener des activités de recherche soutenues (collecter, traiter, analyser, publier et diffuser les données épidémiologiques pertinentes sur la fièvre aphteuse) en collaboration avec d'autres organismes de recherche (Instituts universitaires, Centre national d'appui à la recherche, CIRAD, ANSES, etc.) ; de lancer un programme de production de vaccins, en particulier contre les souches identifiées au Tchad mais aussi contre celles des pays voisins dont les échanges d'animaux sont réguliers.

Malgré ses limites, notre travail de Thèse contribue à une meilleure connaissance de l'épidémiologie de la fièvre aphteuse au Tchad. Les recommandations ci-dessus permettent de réduire considérablement l'impact de la fièvre aphteuse dans le pays.

Références bibliographiques

Abiola, F., A. Teko-Agbo, C. Biaou, et M. Niang. 2005. « Socio-economic and animal health impact of transhumance ». In *16th Conference of theWorld Organisation for Animal Health (OIE) Regional Commission for Africa*, 105–119.

Acharya, Ravindra, Elizabeth Fry, David Stuart, Graham Fox, David Rowlands, et Fred Brown. 1989. « The three-dimensional structure of foot-and-mouth disease virus at 2.9 \AA resolution ». *Nature* 337 (6209): 709.

Adams, M. J., E. J. Lefkowitz, A. M.Q King, B. Harrach, R. L. Harrison, Nick J. Knowles, Andrew M. Kropinski, Mart Krupovic, Jens H. Kuhn, et Arcady R. Mushegian. 2017. « Changes to taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2017) ». *Archives of virology* 162 (8): 2505–2538.

Afssa. 2009. « Méthodes de diagnostic et de dépistage de la fièvre aphteuse. Rapport Afssa "Fièvre aphteuse" ». https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT-Ra-FievreAphteuse.pdf.

Ahl, R., B. Haas, R. J. Lorenz, et G. Wittmann. 1990. « Alternative potency test of FMD vaccines and results of comparative antibody assays in different cell systems and ELISA ». *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-mouth Disease, FAO, Rome, Lindholm, Denmark*, 25–29.

Ahmat, Youssouf. 2014. « Statistiques de commerce extérieur au Tchad ». INSEED, Ministère de l'Econonie et du Plan, Tchad. http://www.inseedtchad.com/IMG/pdf/commerce_exterieur2014_def-2.pdf.

Ahmed, H. A., S. A. H. Salem, A. R. Habashi, A. A. Arafa, M. G. A. Aggour, G. H. Salem, A. S. Gaber, O. Selem, S. H. Abdelkader, et N. J. Knowles. 2012. « Emergence of Foot-and-Mouth Disease Virus SAT 2 in E gypt During 2012 ». *Transboundary and emerging diseases* 59 (6): 476–481.

Alexandersen, S., Z. Zhang, et A. I. Donaldson. 2002. « Aspects of the persistence of foot-and-mouth disease virus in animals—the carrier problem ». *Microbes and Infection* 4 (10): 1099-1110. https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)01634-9.

Alexandersen, Søren, et N. Mowat. 2005. « Foot-and-mouth disease: host range and pathogenesis ». In *Foot-and-Mouth Disease Virus*, 9–42. Springer.

Amaral-Doel, C. M. F., N. E. Owen, N. P. Ferris, R. P. Kitching, et T. R. Doel. 1993. « Detection of foot-and-mouth disease viral sequences in clinical specimens and ethyleneimine-inactivated preparations by the polymerase chain reaction ». *Vaccine* 11 (4): 415–421.

Ambros, Victor, et David Baltimore. 1980. « Purification and properties of a HeLa cell enzyme able to remove the 5'-terminal protein from poliovirus RNA. » *Journal of Biological Chemistry* 255 (14): 6739–6744.

Anderson, E. C., C. Foggin, M. Atkinson, K. J. Sorensen, R. L. Madekurozva, et J. Nqindi. 1993. « The role of wild animals, other than buffalo, in the current epidemiology of foot-and-mouth disease in Zimbabwe ». *Epidemiology & Infection* 111 (3): 559–564.

Arzt, Jonathan, Nicholas Juleff, Zhidong Zhang, et L. L. Rodriguez. 2011. « The pathogenesis of foot-and-mouth disease I: viral pathways in cattle ». *Transboundary and emerging diseases* 58 (4): 291–304.

Arzt, Jonathan, J. M. Pacheco, et L. L. Rodriguez. 2010. « The early pathogenesis of foot-and-mouth disease in cattle after aerosol inoculation: identification of the nasopharynx as the primary site of infection ». *Veterinary pathology* 47 (6): 1048–1063.

Ayebazibwe, Chrisostom, Frank N Mwiine, Kirsten Tjørnehøj, Sheila N Balinda, Vincent B Muwanika, Anna R Ademun Okurut, Graham J Belsham, Preben Normann, Hans R Siegismund, et Soren Alexandersen. 2010. « The role of African buffalos (syncerus caffer) in the maintenance of foot-and-mouth disease in Uganda ». *BMC Veterinary Research* 6 (décembre): 54. https://doi.org/10.1186/1746-6148-6-54.

Ayelet, Gelagay, Mana Mahapatra, Esayas Gelaye, Berhe G. Egziabher, Tesfaye Rufeal, Mesfin Sahle, Nigel P. Ferris, Jemma Wadsworth, Geoffrey H. Hutchings, et Nick J. Knowles. 2009. « Genetic Characterization of Foot-and-Mouth Disease Viruses, Ethiopia, 1981–2007 ». *Emerging Infectious Diseases* 15 (9): 1409-17. https://doi.org/10.3201/eid1509.090091.

Bachanek-Bankowska, K., J. Wadsworth, B. Thapa, D. P. King, et N. J. Knowles. 2016. « Complete Genome Sequence of a Serotype A Foot-and-Mouth Disease Virus from an Outbreak in Saudi Arabia during 2015 ». *Genome Announcements* 4 (1): e01591-15. https://doi.org/10.1128/genomeA.01591-15.

Bachir, Souley Kouato, Knowles Nick De Clercq Kris, P. King Donald, Thys Eric, Marichatou Hamani, et Saegerman Claude. 2018. « Systematic review of molecular

epidemiology of foot-and-mouth disease in Africa: implications for more integrated control and regional strategies ». *PLoS ONE*, 139.

Balinda, S. N., A. K. Sangula, R. Heller, V. B. Muwanika, G. J. Belsham, Charles Massem, et H. R. Siegismund. 2010. « Diversity and transboundary mobility of serotype O foot-and-mouth disease virus in East Africa: Implications for vaccination policies ». *Infection, Genetics and Evolution* 10 (7): 1058-65. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2010.06.017.

Barasa, M., A. Catley, D. Machuchu, H. Laqua, E. Puot, D. Tap Kot, et D. Ikiror. 2008. « Foot-and-Mouth Disease Vaccination in South Sudan: Benefit–Cost Analysis and Livelihoods Impact ». *Transboundary and Emerging Diseases* 55 (8): 339–351.

Barnett, P. V., et S. J. Cox. 1999. « The role of small ruminants in the epidemiology and transmission of foot-and-mouth disease ». *The Veterinary Journal* 158 (1): 6–13.

Barnett, Paul V., E. J. Ouldridge, D. J. Rowlands, Fred Brown, et N. R. Parry. 1989. « Neutralizing epitopes of type O foot-and-mouth disease virus. I. Identification and characterization of three functionally independent, conformational sites ». *Journal of general virology* 70 (6): 1483–1491.

Barraud, Véronique, Ousman Mahamat Saleh, D. Mamis, et others. 2001. « L'élevage transhumant au Tchad oriental ». http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF2015040513.

Barteling, S. J. 2002. « Development and performance of inactivated vaccines against foot and mouth disease ». *Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties* 21 (3): 577–583.

Barteling, S. J., et J. Vreeswijk. 1991. « Developments in foot-and-mouth disease vaccines ». *Vaccine* 9 (2): 75–88.

Bastos, A. D. S., C. I. Boshoff, D. F. Keet, R. G. Bengis, et G. R. Thomson. 2000. « Natural transmission of foot-and-mouth disease virus between African buffalo (Syncerus caffer) and impala (Aepyceros melampus) in the Kruger National Park, South Africa ». *Epidemiology & Infection* 124 (3): 591–598.

Bastos, A. D. S., D. T. Haydon, O. Sangare, C. I. Boshoff, J. L. Edrich, et G. R. Thomson. 2003. « The implications of virus diversity within the SAT 2 serotype for control of foot-and-mouth disease in sub-Saharan Africa ». *Journal of General Virology* 84 (6): 1595–1606.

Bauer, K. 1997. « Foot- and-Mouth Disease as Zoonosis ». *Archives of Virology. Supplementum* 13: 95-97.

Beck, E. 1988. « Genetic Variation of Foot and Mouth Disease Virus ». In *Virus Diseases in Laboratory and Captive Animals*, 521–533. Springer.

Beck, E., et K. Strohmaier. 1987. « Subtyping of European foot-and-mouth disease virus strains by nucleotide sequence determination. » *Journal of Virology* 61 (5): 1621–1629.

Belsham, G.J., et J.K. Brangwyn. 1990. « A region of the 5'noncoding region of foot-and-mouth disease virus RNA directs efficient internal initiation of protein synthesis within cells: involvement with the role of L protease in translational control. » *Journal of virology* 64 (11): 5389–5395.

Belsham, Graham J. 2013. « Influence of the Leader protein coding region of foot-and-mouth disease virus on virus replication ». *Journal of General Virology* 94 (7): 1486–1495.

Bengis, Roy G., G. R. Thomson, R. S. Hedger, V. Vos De, et A. Pini. 1986. « Foot-and-mouth disease and the African buffalo (Syncerus caffer). 1. Carriers as a source of infection for cattle. » *The Onderstepoort journal of veterinary research* 53 (2): 69–73.

Berríos, P. E. 2007. « Foot and mouth disease in human beings. A human case in Chile ». *Revista chilena de infectologia: organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectologia* 24 (2): 160–163.

Bertram, M. R., A. Delgado, S. J. Pauszek, G. R. Smoliga, B. Brito, Carolina Stenfeldt, Ethan J. Hartwig, Simon Dickmu Jumbo, Mamoudou Abdoulmoumini, et Amba Abona Oliva Marie. 2018. « Effect of vaccination on cattle subclinically infected with foot-and-mouth disease virus in Cameroon ». *Preventive veterinary medicine* 155: 1–10.

Bertram, Miranda R., Le T. Vu, Steven J. Pauszek, Barbara P. Brito, Ethan J. Hartwig, George R. Smoliga, Bui H. Hoang, Nguyen T. Phuong, Carolina Stenfeldt, et Ian H. Fish. 2018. « Lack of transmission of foot-and-mouth disease virus from persistently infected cattle to naïve cattle under field conditions in Vietnam ». *Frontiers in Veterinary Science* 5.

Boutrais, J. 2007. « Crises écologiques et mobilités pastorales au Sahel: les Peuls du Dallol Bosso (Niger) ». *Science et changements planétaires/Sécheresse* 18 (1): 5–12.

Brahmbhatt, D. P., G. T. Fosgate, E. Dyason, C. M. Budke, B. Gummow, Ferran Jori, Michael P. Ward, et R. Srinivasan. 2012. « Contacts between domestic livestock and

wildlife at the Kruger National Park Interface of the Republic of South Africa ». *Preventive veterinary medicine* 103 (1): 16–21.

Brehm, K. E., N. P. Ferris, M. Lenk, R. Riebe, et B. Haas. 2009. « Highly sensitive fetal goat tongue cell line for detection and isolation of foot-and-mouth disease virus ». *Journal of clinical microbiology* 47 (10): 3156–3160.

Brito, B. P., L. L. Rodriguez, J. M. Hammond, J. Pinto, et A. M. Perez. 2017. « Review of the global distribution of foot-and-mouth disease virus from 2007 to 2014 ». *Transboundary and emerging diseases* 64 (2): 316–332.

Brito, Barbara P., Ferran Jori, Rahana Dwarka, Francois F. Maree, Livio Heath, et Andres M. Perez. 2016. « Transmission of Foot-and-Mouth Disease SAT2 Viruses at the Wildlife–Livestock Interface of Two Major Transfrontier Conservation Areas in Southern Africa ». *Frontiers in Microbiology* 7 (avril). https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00528.

Brocchi, E., I. E. Bergmann, A. Dekker, D. J. Paton, D. J. Sammin, Matthias Greiner, S. Grazioli, F. De Simone, H. Yadin, et B. Haas. 2006. « Comparative evaluation of six ELISAs for the detection of antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus ». *Vaccine* 24 (47-48): 6966–6979.

Bronsvoort, B. M. de C., A. D. Radford, V. N. Tanya, C. Nfon, R. P. Kitching, et K. L. Morgan. 2004. « Molecular Epidemiology of Foot-and-Mouth Disease Viruses in the Adamawa Province of Cameroon ». *Journal of Clinical Microbiology* 42 (5): 2186-96. https://doi.org/10.1128/JCM.42.5.2186-2196.2004.

Bronsvoort, B.M.C, J. Anderson, A. Corteyn, P. Hamblin, R. P. Kitching, C. Nfon, V. N. Tanya, K. L. Morgan, A. Y. Gancz, et S. Lee. 2006. « 1164501. Geographical and age-stratified distributions of foot-and-mouth disease virus-seropositive and probang-positive cattle herds in the Adamawa province of Cameroon ». *The Veterinary Record* 159 (10): 299–308.

Bronsvoort, BMDC, S. Parida, I. Handel, S. McFarland, L. Fleming, P. Hamblin, et R. Kock. 2008. « Serological survey for foot-and-mouth disease virus in wildlife in eastern Africa and estimation of test parameters of a nonstructural protein enzyme-linked immunosorbent assay for buffalo ». *Clinical and Vaccine Immunology* 15 (6): 1003–1011.

Brooksby, J. 1958. « The virus of foot-and-mouth disease ». *Advances in virus research* 5: 1-37.

Brooksby, J. B. 1982. « Portraits of viruses: foot-and-mouth disease virus ». *Intervirology* 18 (1-2): 1–23.

Brooksby, J. B., et J. Rogers. 1957. « Methods used in typing the virus of foot-and-mouth disease at Pirbright, 1950-55 ». *Methods of typing and cultivation of foot-and-mouth disease virus, European Productivity Agency of the Organisation for European Economic Co-operation, Project* 31: 34.

Bruckner, G. K., W. Vosloo, BJAD Plessis, PELG Kloeck, L. Connoway, M. D. Ekron, D. B. Weaver, C. J. Dickason, F. J. Schreuder, et T. Marais. 2002. « Foot and mouth disease: the experience of South Africa ». *Revue scientifique et technique-Office international des épizooties* 21 (3): 751–761.

Burroughs, J. N., D. V. Sangar, B. E. Clarke, D. J. Rowlands, Alfons Billiau, et Desire Collen. 1984. « Multiple proteases in foot-and-mouth disease virus replication. » *Journal of virology* 50 (3): 878–883.

Capella, Giovanni Luigi. 2001. « Foot and mouth disease in human beings ». *The Lancet* 358 (9290): 1374.

Carrillo, C. 2012. « Foot and mouth disease virus genome ». In *Viral Genomes-Molecular Structure, Diversity, Gene Expression Mechanisms and Host-Virus Interactions*. InTech.

Carrillo, C., E. R. Tulman, G. Delhon, Z. Lu, A. Carreno, A. Vagnozzi, G. F. Kutish, et D. L. Rock. 2005. « Comparative genomics of foot-and-mouth disease virus ». *Journal of virology* 79 (10): 6487–6504.

Carrillo, Consuelo, Manuel Borca, Douglas M. Moore, Donald O. Morgan, et Francisco Sobrino. 1998. « In vivo analysis of the stability and fitness of variants recovered from foot-and-mouth disease virus quasispecies. » *Journal of General Virology* 79 (7): 1699–1706.

Cartwright, B., W. G. Chapman, et R. T. Sharpe. 1982. « Stimulation by heterotypic antigens of foot-and-mouth disease virus antibodies in vaccinated cattle. » *Research in veterinary science* 32 (3): 338–342.

Charleston, Bryan, Bartlomies M. Bankowski, Simon Gubbins, Margo E. Chase-Topping, David Schley, Richard Howey, Paul V. Barnett, Debi Gibson, Nicholas D. Juleff, et Mark EJ Woolhouse. 2011. « Relationship between clinical signs and transmission of an infectious disease and the implications for control ». *Science* 332 (6030): 726–729.

Chénard, G., K. Miedema, P. Moonen, R. S. Schrijver, et A. Dekker. 2003. « A solid-phase blocking ELISA for detection of type O foot-and-mouth disease virus antibodies suitable for mass serology ». *Journal of virological methods* 107 (1): 89–98.

Chisembele, C. 2005. « Knowledge and disease management skills of cattle owners on East Coast Fever and Foot and Mouth Disease in Kazungula and Livingstone Districts of Zambia ». *Tropicultura* 23: 21–27.

Clarke, B. E., A. L. Brown, K. M. Currey, S. E. Newton, D. J. Rowlands, et A. R. Carroll. 1987. « Potential secondary and tertiary structure in the genomic RNA of foot and mouth disease virus ». *Nucleic Acids Research* 15 (17): 7067–7079.

Clavijo, A., P. Wright, et P. Kitching. 2004. « Developments in diagnostic techniques for differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease ». *The Veterinary Journal* 167 (1): 9–22.

CNAR. 2007. « Carte bioclimatique du Tchad ». N'Djamena, Tchad: CNAR.

Coetzer, J. A. W., G. R. Thomson, et R. C. Tustin. 1994. « Infectious disease of livestock with special reference to Southern Africa ». In *African horsesickness*, 460–475. Oxford University Press Oxford, United Kingdom.

Condy, J. B., R. S. Hedger, C. Hamblin, et I. T. R. Barnett. 1985. « The duration of the foot-and-mouth disease virus carrier state in African buffalo (i) in the individual animal and (ii) in a free-living herd ». *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases* 8 (3-4): 259–265.

Cottam, Eleanor M., Daniel T. Haydon, David J. Paton, John Gloster, John W. Wilesmith, Nigel P. Ferris, Geoff H. Hutchings, et Donald P. King. 2006. « Molecular epidemiology of the foot-and-mouth disease virus outbreak in the United Kingdom in 2001 ». *Journal of Virology* 80 (22): 11274–11282.

Cottam, Eleanor M., Jemma Wadsworth, Andrew E. Shaw, Rebecca J. Rowlands, Lynnette Goatley, Sushila Maan, Narender S. Maan, Peter PC Mertens, Katja Ebert, et Yanmin Li. 2008. « Transmission pathways of foot-and-mouth disease virus in the United Kingdom in 2007 ». *PLoS Pathogens* 4 (4): e1000050.

Couacy-Hymann, E., G. L. Aplogan, O. Sangaré, Z. Compaoré, J. Karimu, K. A. Awoueme, A. Seini, V. Martin, et J. F. Valarcher. 2006. « Étude rétrospective de la fièvre aphteuse en Afrique de l'Ouest de 1970 à 2003 ». *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz* 25 (3): 1013–1024.

Dean, Anna S., Guillaume Fournié, Abalo E. Kulo, G. Aboudou Boukaya, Esther Schelling, et Bassirou Bonfoh. 2013. « Potential risk of regional disease spread in West Africa through cross-border cattle trade ». *PloS one* 8 (10): e75570.

Dhanda, M. R., V. R. Gopalakrishnan, et H. S. Dhillon. 1957. « Note on the occurrence of atypical strains of foot-and-mouth diseases virus in India ». *Ind J Vet Sci* 27: 79–84.

Dhikusooka, Moses Tefula, Chrisostom Ayebazibwe, Alice Namatovu, Graham J. Belsham, Hans Redlef Siegismund, Sabenzia Nabalayo Wekesa, Sheila Nina Balinda, Vincent B. Muwanika, et Kirsten Tjørnehøj. 2016. « Unrecognized circulation of SAT 1 foot-and-mouth disease virus in cattle herds around Queen Elizabeth National Park in Uganda ». *BMC veterinary research* 12 (1): 5.

Di Nardo, A., N. J. Knowles, et D. J. Paton. 2011. « Combining livestock trade patterns with phylogenetics to help understand the spread of foot and mouth disease in sub-Saharan Africa, the Middle East and Southeast Asia ». *Revue Scientifique et Technique-OIE* 30 (1): 63.

Di Nardo, Antonello, Geneviève Libeau, Bertrand Chardonnet, Philippe Chardonnet, Richard A. Kock, Krupali Parekh, Pip Hamblin, Yanmin Li, Satya Parida, et Keith J. Sumption. 2015. « Serological Profile of Foot-and-Mouth Disease in Wildlife Populations of West and Central Africa with Special Reference to Syncerus Caffer Subspecies ». *Veterinary Research* 46 (juillet): 77. https://doi.org/10.1186/s13567-015-0213-0.

Doel, T. R. 1996. « Natural and vaccine-induced immunity to foot and mouth disease: the prospects for improved vaccines ». *Revue scientifique et technique-Office international des épizooties* 15: 883–991.

———. 2005. « Natural and vaccine induced immunity to FMD ». In *Foot-and-mouth disease virus*, 103–131. Springer.

Domenech, Joseph. 2011. « Mise en oeuvre d'une stratégie mondiale pour le contrôle de la fièvre aphteuse ». OIE. http://oie.int/doc/ged/D10456.PDF.

Domingo, E., C. Escarmís, E. Baranowski, C. M. Ruiz-Jarabo, E. Carrillo, J. I. Núñez, et F. Sobrino. 2003. « Evolution of foot-and-mouth disease virus ». *Virus research* 91 (1): 47–63.

Domingo, Esteban, Mauricio G. Mateu, Miguel A. Martínez, Joaquín Dopazo, Andrés Moya, et Francisco Sobrino. 1990. « Genetic variability and antigenic diversity of foot-and-

mouth disease virus ». In *Virus variability, epidemiology and control*, 233–266. Springer.

Donaldson, A. I. 1987. « Investigations to determine the minimum aerosol doses of foot-and-mouth disease virus to infect sheep and cattle. »

Donaldson, A. I., C. F. Gibson, R. Oliver, C. Hamblin, et R. P. Kitching. 1987. « Infection of cattle by airborne foot-and-mouth disease virus: minimal doses with O1 and SAT 2 strains. » *Research in veterinary science* 43 (3): 339–346.

Donnelly, M. L., David Gani, Mike Flint, Susan Monaghan, et Martin D. Ryan. 1997. « The cleavage activities of aphthovirus and cardiovirus 2A proteins. » *Journal of General Virology* 78 (1): 13–21.

Dufour, Barbara, et Pascal Hendrickx. 2011. *Surveillance épidémiologique en santé animale: 3e édition*. Éditions Qu\a e.

Edgington, Stephen M. 1995. « Using viral genes to fight disease ». *Nature Biotechnology* 13 (10): 1050.

Ehizibolo, D. O., A. M. Perez, C. Carrillo, S. Pauszek, M. AlKhamis, I. Ajogi, J. U. Umoh, H. M. Kazeem, P. O. Ehizibolo, et A. Fabian. 2014. « Epidemiological Analysis, Serological Prevalence and Genotypic Analysis of Foot-and-Mouth Disease in Nigeria 2008–2009 ». *Transboundary and emerging diseases* 61 (6): 500–510.

Eisa, M., et M. M. Rweyemamu. 1977. « note on the epizootiology of foot and mouth disease in the Sudan ». *Bulletin of animal health and production in Africa*.

Elhaig, Mahmoud Mohey, et Mohamed Nagi Elsheery. 2014. « Molecular investigation of foot-and-mouth disease virus in domestic bovids from Gharbia, Egypt ». *Tropical animal health and production* 46 (8): 1455–1462.

El-Shehawy, Laila I., Hany I. Abu-Elnaga, Sonia A. Rizk, Ahmed S. Abd El-Kreem, A. A. Mohamed, et Hossam G. Fawzy. 2014. « Molecular differentiation and phylogenetic analysis of the Egyptian foot-and-mouth disease virus SAT2 ». *Archives of virology* 159 (3): 437–443.

Falk, M. M., F. Sobrino, et E. Beck. 1992. « VPg gene amplification correlates with infective particle formation in foot-and-mouth disease virus. » *Journal of virology* 66 (4): 2251–2260.

Fao. 2017. « Global Foot-and-Mouth Disease Situation ». FAO/EuFMD. http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/remesa/library/EuFMD%20Global%20Monthly%20Report%20FMD%20July%202017.pdf.

Fasina, Folorunso O., Dana R. Connell, Oladele A. Talabi, David D. Lazarus, Gabriel A. Adeleke, Taiwo P. Olusanya, et Jorge A. Hernandez. 2013. « Foot-and-mouth disease virus strains and examination of exposure factors associated with seropositivity of cattle herds in Nigeria during 2007–2009 ». *Preventive Veterinary Medicine* 109 (3–4): 334-42. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.10.004.

Ferris, N. P., et A. I. Donaldson. 1992. « The World Reference Laboratory for Foot and Mouth Disease: a review of thirty-three years of activity (1958-1991) ». *REVUE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE-OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES* 11: 657–657.

Fontaine, J., C. Mackowiak, et M. Roumiantzeff. 1968. « Types, soustypes et variantes du virus aphteux. Etude des variantes ». In *International Symposium on foot-and-mouth diseases: Immunological Standardization*, 8:13–64.

Forman, S., F. Le Gall, D. Belton, B. Evans, J. L. François, G. Murray, D. Sheesley, A. Vandersmissen, et S. Yoshimura. 2009. « Moving towards the global control of foot and mouth disease: an opportunity for donors ». *Revue scientifique et technique* 28 (3): 883.

Forss, S., K. Strebel, E. Beck, et H. Schaller. 1984. « Nucleotide sequence and genome organization of foot-and-mouth disease virus ». *Nucleic Acids Research* 12 (16): 6587–6601.

Fracastorius, H. 1546. « De contagione et contagiosis morbis et eurum curatione De sympathia et antipathia rerum liber unus. Vol. Liber I. Venecia- Italia ».

Frenkel, H. S. 1947. « La culture du virus de la fièvre aphteuse sur l'épithelium de la langue des bovidés ». *Bull. Off. Int. Epiz* 28: 155–162.

Garner, M. G., et R. M. Cannon. 1995. « Potential for wind-borne spread of foot-and-mouth disease virus in Australia ». *A report prepared for the Australian Meat Research Corporation, Bureau of Resource Sciences, Canberra*, 88.

Gebauer, F., J. C. De La Torre, I. Gomes, M. G. Mateu, H. Barahona, B. Tiraboschi, I. Bergmann, P. Auge De Mello, et E. Domingo. 1988. « Rapid selection of genetic and antigenic variants of foot-and-mouth disease virus during persistence in cattle. » *Journal of virology* 62 (6): 2041–2049.

Geering, W. A., M. L. Penrith, et D. Nyakahuma. 2013. *Manual on procedures for disease eradication by stamping out, FAO Animal Health Manual 12*. Food and Agriculture

Organization of the United Nations Corporate Document Repository. Available at: www. fao. org/docrep/004/Y0660E/Y0660E00. HTM# TOC. Accessed online.

Golding, Susan M., R. S. Hedger, et P. Talbot. 1976. « Radial immuno-diffusion and serum-neutralisation techniques for the assay of antibodies to swine vesicular disease. » *Research in Veterinary Science* 20 (2): 142–147.

Goodwin, Stewart, Tobias J. Tuthill, Armando Arias, Richard A. Killington, et David J. Rowlands. 2009. « Foot-and-mouth disease virus assembly: processing of recombinant capsid precursor by exogenous protease induces self-assembly of pentamers in vitro in a myristoylation-dependent manner ». *Journal of virology* 83 (21): 11275–11282.

Goris, N., et K. De Clercq. 2005. « Quality assurance/quality control of foot and mouth disease solid phase competition enzyme-linked immunosorbent assay-Part II. Quality control: comparison of two charting methods to monitor assay performance ». *Revue scientifique et technique-Office international des épizooties* 24 (3): 1005.

Grigera, P., C. Vasquez, et A. Palmenberg. 1985. « Foot-and-mouth disease virus capsid proteins VP0, VP1 and VP3 synthesized by" in vitro" translation are the major components of 14S particles. » *Acta virologica* 29 (6): 449–454.

Grubman, Marvin J., et Barry Baxt. 2004. « Foot-and-mouth disease ». *Clinical microbiology reviews* 17 (2): 465–493.

Gueme, A., et K. Bidjeh. 1998. « Contribution au sérotypage du virus aphteux dans quelques régions du Tchad. » Mémoire de fin d'études, Adjoint technique d'élevage. Bibliothèque de LRVZ-N'Djamena (Tchad).

Guibert, B., et C. N'garoussa Hamat. 2013. « Appui à la gestion de points d'eau créés sur les axes de commercialisation du bétail ». IRAM.

Habiela, M., M.A.G Alamin, Y. A. Raouf, et Y. H. Ali. 2010. « Epizootiological study of foot and mouth disease in the Sudan: the situation after two decades ». *Veterinarski arhiv* 80 (1): 11–26.

Hamblin, C., I. T. R. Barnett, et R. S. Hedger. 1986. « A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus I. Development and method of ELISA ». *Journal of immunological methods* 93 (1): 115–121.

Harada, Y. U., Porntippa Lekcharoensuk, Taro Furuta, et Tooru Taniguchi. 2015. « Inactivation of foot-and-mouth disease virus by commercially available disinfectants and cleaners ». *Biocontrol science* 20 (3): 205–208.

Hargreaves, S. K., C. M. Foggin, E. C. Anderson, A. D. S. Bastos, G. R. Thomson, N. P. Ferris, et N. J. Knowles. 2004. « An investigation into the source and spread of foot and mouth disease virus from a wildlife conservancy in Zimbabwe ». *Rev Sci Tech* 23 (3): 783–790.

Hecke, F. 1930. « Zuechtungsversuche des Maul-und-Klauenseuchevirus in Gewebekulturen ». *Zentralbl. f. Bakt. Abt. I., Orig* 116: 386–414.

———. 1931. « Weitere Mitteilungen ueber die kuenstliche Vermehrung des Maul-und Klauenseuchevirus in Gewebekulturen ». *ZentBl. Bakt. Parasitkde I* 119: 385–397.

Henderson, W. M., et Ian A. Galloway. 1953. « The Use of Culture Virus in the Preparation of Foot-and-Mouth Disease Vaccine ». *Epidemiology & Infection* 51 (4): 546-58. https://doi.org/10.1017/S0022172400036834.

Highfield, Linda D., Michael P. Ward, Shawn W. Laffan, Bo Norby, et Gale Wagner. 2009. « The impact of seasonal variability in wildlife populations on the predicted spread of foot and mouth disease ». *Veterinary research* 40 (3): 1–15.

Highfield, Linda, Michael P. Ward, et Shawn W. Laffan. 2008. « Representation of animal distributions in space: how geostatistical estimates impact simulation modeling of foot-and-mouth disease spread ». *Veterinary research* 39 (2): 1–14.

Holland, John, Katherine Spindler, Frank Horodyski, Elizabeth Grabau, Stuart Nichol, et Scott VandePol. 1982. « Rapid evolution of RNA genomes ». *Science* 215 (4540): 1577–1585.

Holveck, Thierry. 2002. « La fièvre aphteuse ». PhD Thesis.

Hong, Jang-Kwan, Kwang-Nyeong Lee, Su-Hwa You, Su-Mi Kim, Dongseob Tark, Hyang-Sim Lee, Young-Joon Ko, Min-Goo Seo, Jong-Hyeon Park, et Byounghan Kim. 2015. « Inactivation of foot-and-mouth disease virus by citric acid and sodium carbonate with deicers ». *Applied and environmental microbiology*, AEM–01673.

House, C., et J.A. House. 1989. « Evaluation of techniques to demonstrate foot-and-mouth disease virus in bovine tongue epithelium: comparison of the sensitivity of cattle, mice, primary cell cultures, cryopreserved cell cultures and established cell lines ». *Veterinary microbiology* 20 (2): 99–109.

Hutber, A. M., et R. P. Kitching. 2000. « The role of management segregations in controlling intra-herd foot-and-mouth disease ». *Tropical animal health and production* 32 (5): 285–294.

IEMVT. 1963. « Rapport annuel 1963 N'Djamena : Laboratoire de Farcha, 322 p. Document institutionnel ». CIRAD-IEMVT.

———. 1973. « Rapport annuel 1973 [Tchad]. N'Djamena : Laboratoire de Farcha, Service de virologie, P49-114. »

INSEED. 2008. « Carte de division administrative du Tchad ». N'Djamena, Tchad.

———. 2018. « Estimation de la population du Tchad ». http://www.inseed-td.net/index.php/blog-with-right-sidebar/tchadbref/91-chomage.

Jamal, Syed M., et Graham J. Belsham. 2013. « Foot-and-mouth disease: past, present and future ». *Veterinary research* 44 (1): 116.

———. 2018. « Molecular Epidemiology, Evolution and Phylogeny of Foot-and-Mouth Disease Virus ». *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 59 (avril): 84-98. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.01.020.

James, Andrew D., et J. Rushton. 2002. « The economics of foot and mouth disease ». *Revue scientifique et technique-office international des epizooties* 21 (3): 637–641.

Jori, F., A. Caron, P. N. Thompson, R. Dwarka, C. Foggin, M. de Garine-Wichatitsky, Markus Hofmeyr, J. Van Heerden, et L. Heath. 2016. « Characteristics of foot-and-mouth disease viral strains circulating at the Wildlife/livestock Interface of the Great Limpopo Transfrontier Conservation Area ». *Transboundary and emerging diseases* 63 (1): e58–e70.

Jori, F., W. Vosloo, B. Du Plessis, R. G. Bengis, D. P. Brahmbhatt, B. Gummow, et G. R. Thomson. 2009. « A qualitative risk assessment of factors contributing to foot and mouth disease outbreaks in cattle along the western boundary of the Kruger National Park ». *Revue scientifique et technique-Office international des épizooties* 28 (3): 917–931.

Kim, Y. J., et M. Remond. 2000. « Le virus de la fièvre aphteuse ». *Virologie* 4 (5): 393–404.

King, A.M.Q, E. J. Lefkowitz, A. R. Mushegian, M. J. Adams, B. E. Dutilh, Alexander E. Gorbalenya, Balázs Harrach, Robert L. Harrison, Sandra Junglen, et Nick J. Knowles. 2018. « Changes to taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2018) ». *Archives of virology*, 1–31.

Kitching, Paul, Jef Hammond, Martyn Jeggo, Bryan Charleston, David Paton, Luis Rodriguez, et Robert Heckert. 2007. « Global FMD control—is it an option? » *Vaccine* 25 (30): 5660–5664.

Kitching, R. P., et G. J. Hughes. 2002. « Clinical variation in foot and mouth disease: sheep and goats ». *Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties* 21 (3): 505–510.

Kitching, R. P., A. M. Hutber, et M. V. Thrusfield. 2005. « A review of foot-and-mouth disease with special consideration for the clinical and epidemiological factors relevant to predictive modelling of the disease ». *The Veterinary Journal* 169 (2): 197–209.

Kitching, R. P., N. J. Knowles, A. R. Samuel, et A. I. Donaldson. 1989. « Development of foot-and-mouth disease virus strain characterisation—a review ». *Tropical animal health and production* 21 (3): 153–166.

Kitching, R.P. 2002. « Clinical variation in foot and mouth disease: cattle ». *Revue scientifique et technique-Office international des epizooties* 21 (3): 499–502.

Kitching, R.P, et S. Alexandersen. 2002. « Clinical variation in foot and mouth disease: pigs ». *Revue scientifique et technique-Office international des épizooties* 21 (3): 513–516.

Knight-Jones, T. J. D., et J. Rushton. 2013. « The economic impacts of foot and mouth disease–What are they, how big are they and where do they occur? » *Preventive veterinary medicine* 112 (3-4): 161–173.

Knowles, N. J, et A. R Samuel. 2003. « Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus ». *Virus Research*, Foot-and-Mouth Disease, 91 (1): 65-80. https://doi.org/10.1016/S0168-1702(02)00260-5.

Knowles, N. J., A. R. Samuel, P. R. Davies, R. P. Kitching, et A. I. Donaldson. 2001. « Outbreak of foot-and-mouth disease virus serotype O in the UK caused by a pandemic strain. » *The Veterinary Record* 148 (9): 258–259.

Knowles, N. J., Alan R. Samuel, Paul R. Davies, Rebecca J. Midgley, et Jean-François Valarcher. 2005. « Pandemic strain of foot-and-mouth disease virus serotype O ». *Emerging infectious diseases* 11 (12): 1887.

Knowles, N. J., J. Wadsworth, K. Bachanek-Bankowska, et D. P. King. 2016. « VP1 sequencing protocol for foot and mouth disease virus molecular epidemiology ». *Rev Sci Tech* 35 (3): 741–755.

Kouato, B. Souley, F. M. Elliot, D. P. King, J. Hyera, N. J. Knowles, A. B. Ludi, V. Mioulet, et al. 2018. « Outbreak Investigations and Molecular Characterization of Foot-and-Mouth Disease Viruses Circulating in South-West Niger ». *Transboundary and Emerging Diseases* 65 (1): 146-57. https://doi.org/10.1111/tbed.12642.

Kouato, B. Souley, E. Thys, V. Renault, E. Abatih, H. Marichatou, S. Issa, et C. Saegerman. 2018. « Spatio-Temporal Patterns of Foot-and-Mouth Disease Transmission in Cattle between 2007 and 2015 and Quantitative Assessment of the Economic Impact of the Disease in Niger ». *Transboundary and Emerging Diseases* 65 (4): 1049-66. https://doi.org/10.1111/tbed.12845.

Languille, J., H. Sadones, J. Poirot, F. Moutou, S. Zientara, et L. Bakkali Kassimi. 2011. « Fièvre aphteuse en Bulgarie ». *Bulletin Epidémiologique, N°42, ANSES*, 2011.

Laor, O., H. Torgersen, H. Yadin, et Y. Becker. 1992. « Detection of FMDV RNA amplified by the polymerase chain reaction (PCR) ». *Journal of virological methods* 36 (3): 197–207.

Leforban, Y. 2002. « L'épisode de la fièvre aphteuse en Europe en 2001 était-elle prévisible? La vaccination constitue-t-elle une solution? » *Revue Scientifique et Technique de l'OIE (France)*.

Loeffler, F., et P. Frosch. 1898. « Report of the Commission for Research on the Foot-and-Mouth Disease ». *Zentralblatt Für Bakteriologie, Parasitenkunde Und Infektionskrank-Beiten.* 23 (1): 371-91.

Logan, Derek, Robin Abu-Ghazaleh, Wendy Blakemore, Stephen Curry, Terry Jackson, Andrew King, Susan Lea, Richard Lewis, John Newman, et Nigel Parry. 1993. « Structure of a major immunogenic site on foot-and-mouth disease virus ». *Nature* 362 (6420): 566.

Logténé, Y. Mopaté, M. O. Koussou, et C. Y. Kaboré-Zoungrana. 2006. « L'élevage porcin au Tchad: Bilan de l'introduction, de l'amélioration et de la diffusion des races exotiques ». *Animal Genetic Resources/Resources génétiques animales/Recursos genéticos animales* 38: 87–98.

LRVZ. 2003. « Rapport national sur les ressources zootechniques du Tchad ».

Ludi, Anna, Zaheer Ahmed, L. W. Pomeroy, S. J. Pauszek, G. R. Smoliga, Matthijs Moritz, Simon Dickmu, S. Abdoulkadiri, Jonathan Arzt, et Rebecca Garabed. 2016. « Serotype diversity of foot-and-mouth-disease virus in livestock without history of

vaccination in the far north region of Cameroon ». *Transboundary and emerging diseases* 63 (1): e27–e38.

Mackay, D.K.J., A. N. Bulut, T. Rendle, F. Davidson, et N. P. Ferris. 2001. « A solid-phase competition ELISA for measuring antibody to foot-and-mouth disease virus ». *Journal of virological methods* 97 (1-2): 33–48.

Mahy, B.W.J. 2004. *Foot-and-mouth disease virus*. Vol. 288. Springer Science & Business Media.

Maitland, M. C., et H. B. Maitland. 1931. « Cultivation of foot-and-mouth disease virus ». *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics* 44: 106–113.

Mansley, L. M., P. J. Dunlop, S. M. Whiteside, et R. G. H. Smith. 2003. « Early dissemination of foot-and-mouth ». *The Veterinary Record* 153: 43–50.

Maree, F. F., C. J. Kasanga, K. A. Scott, P. A. Opperman, M. Chitray, A. Sangula, Raphael Sallu, Yona Sinkala, P. Wambura, et Donald P. King. 2014. « Challenges and prospects for the control of foot-and-mouth disease: an African perspective ». *J Vet Med Res Rep* 5: 119–138.

Martínez, M. A., N. Verdaguer, M. G. Mateu, et E. Domingo. 1997. « Evolution subverting essentiality: dispensability of the cell attachment Arg-Gly-Asp motif in multiply passaged foot-and-mouth disease virus ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94 (13): 6798–6802.

Martinez, Miguel Angel, Consuelo Carrillo, Joan Plana, Ricard Mascardla, Josep Bergada, Eduarde L. Palma, Esteban Domingo, et Francisco Sobrino. 1988. « Genetic and immunogenic variations among closely related isolates of foot-and-mouth disease virus ». *Gene* 62 (1): 75–84.

Mason, P. W., J. M. Pacheco, Q.-Z. Zhao, et N. J. Knowles. 2003. « Comparisons of the complete genomes of Asian, African and European isolates of a recent foot-and-mouth disease virus type O pandemic strain (PanAsia) ». *Journal of general virology* 84 (6): 1583–1593.

Mateu, M. G. 1995. « Antibody recognition of picornaviruses and escape from neutralization: a structural view ». *Virus research* 38 (1): 1–24.

McKercher, P. D., et J. J. Callis. 1983. « Residual viruses in fresh and cured meat ». In *Official Proceedings: Annual Meeting-Livestock Conservation Institute (USA)*.

M.E. 2015. « Statistiques du Ministère de l'Elevage du Tchad ». Ministère de l'Elevage.

———. 2016. « Etat des lieux du Développement Pastoral ». Ministère de l'Elevage du Tchad. http://www.plateforme-pastorale-tchad.org/classified/Etat_des_lieux_Tome2_SNDP_VD.pdf.

Melnick, Joseph L. 1983. « Portraits of viruses: the picornaviruses ». *Intervirology* 20 (2-3): 61–100.

Mian Oudanang, K., et G. Duteurtre. 2002. « Diagnostic et propositions en vue de moderniser le commerce et la transformation des produits de l'élevage au Tchad: rapport de mission d'appui au PASEP ». http://agritrop.cirad.fr/511178/.

Moonen, P., et R. Schrijver. 2000. « Carriers of foot-and-mouth disease virus: A review ». *Veterinary Quarterly* 22 (4): 193–197.

Morgan, K. L., I. G. Handel, V. N. Tanya, S. M. Hamman, C. Nfon, Ingrid E. Bergman, Viviana Malirat, Karl J. Sorensen, et Barend M. de C. Bronsvoort. 2014. « Accuracy of herdsmen reporting versus serologic testing for estimating foot-and-mouth disease prevalence ». *Emerging infectious diseases* 20 (12): 2048.

Murphy, Frederick A., E. Paul J. Gibbs, Marian C. Horzinek, et Michael J. Studdert. 1999. *Veterinary virology*. Elsevier.

Namatovu, A., K. Tjørnehøj, G. J. Belsham, M. T. Dhikusooka, S. N. Wekesa, Vincent B. Muwanika, Hans R. Siegismund, et Chrisostom Ayebazibwe. 2015. « Characterization of Foot-And-Mouth Disease Viruses (FMDVs) from Ugandan Cattle Outbreaks during 2012-2013: Evidence for Circulation of Multiple Serotypes ». *PLoS ONE* 10 (2): e0114811. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114811.

Namatovu, A., Sabenzia Nabalayo Wekesa, Kirsten Tjørnehøj, Moses Tefula Dhikusooka, Vincent B. Muwanika, Hans Redlef Siegsmund, et Chrisostom Ayebazibwe. 2013. « Laboratory capacity for diagnosis of foot-and-mouth disease in Eastern Africa: implications for the progressive control pathway ». *BMC veterinary research* 9 (1): 19.

Newman, J. F. E., D. J. Rowlands, et F. Brown. 1973. « A physico-chemical sub-grouping of the mammalian picornaviruses ». *Journal of General Virology* 18 (2): 171–180.

Nicholls, M. J., M. M. Rweyemamu, E. N. Okeke, N. N. Shidali, et A. G. Lamorde. 1983. « control of foot-and-mouth disease by vaccination. Considerations for Nigeria ». *Revue scientifique et technique*.

Officer, Kirsty, Nguyen Thi Lan, Leanne Wicker, Nguyen Thi Hoa, Annemarie Weegenaar, Jill Robinson, Yamaguchi Ryoji, et Panayiotis Loukopoulos. 2014. « Foot-and-mouth

disease in Asiatic black bears (Ursus thibetanus) ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 26 (5): 705–713.

Ohlmann, T., et R. J. Jackson. 1999. « The properties of chimeric picornavirus IRESes show that discrimination between internal translation initiation sites is influenced by the identity of the IRES and not just the context of the AUG codon ». *Rna* 5 (6): 764–778.

OIE. 2008. « Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres ». 2008. http://www.test.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/Volume1_Manuel2008_fr.pdf.

———. 2015. « Liste des pays membres indemnes de Fièvre Aphteuse ». OIE. http://www.oie.int/fr/sante-animale-dans-le-monde/statuts-officiels-des-maladies/fievre-aphteuse/liste-des-membres-indemnes-de-fievre-aphteuse/.

———. 2016. « Mesures de lutte contre les maladies animales. » OIE. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseasecontrol/measures.

———. 2017. « Foot and mouth disease: Chapitre 2.1.8. du Manuel Terrestre OIE. » 2017. http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.01.08_FMD.pdf.

Ouagal, M. 2014. « Contribution à l'amélioration de l'épidémiosurveillance des maladies animales en Afrique francophone de l'Ouest et du Centre ». Thèse de doctorat unique, Liège, Belgique: Université de Liège. http://orbi.ulg.be/handle/2268/163029.

Ouagal, M., E Brocchi, S. Grazioli, B.Y Ade, S. Keith, D. Kiram, A. Oussiguéré, P. Hendrikx, D. Berkvens, et C Saegerman. 2018. « Study on seroprevalence and serotyping of foot and mouth disease in Chad ». *Re vue scientifique et technique de l'OIE* 37 (3).

Ouagal, M., P. Hendrikx, D. Berkvens, A. Ncharé, B. Cissé, P. Y. Akpeli, K. Sory, et C. Saegerman. 2008. « Epidemiological surveillance networks for animal diseases in French-speaking West and Central Africa ». *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* 27 (3): 689–702.

Ouagal, M., P. Hendrikx, C. Saegerman, et D. Berkvens. 2010. « Comparison between active and passive surveillance within the network of epidemiological surveillance of animal diseases in Chad ». *Acta tropica* 116 (2): 147–151.

Ouagal, Mahamat, Dirk Berkvens, et Pascal Hendrikx. 2004. « Élaboration d'indicateurs de performance du fonctionnement du réseau tchadien d'épidémiosurveillance des maladies animales: le REPIMAT ».

Ouagal, Mahamat, Emiliana Brocchi, Santina Grazioli, Adel Ben Youssef, Keith Sumption, Pascal Hendrikx, Dirk Berkvens, et Claude Saegerman. 2017. « Evaluation de la sensibilité du réseau d'épidémiosurveillance des maladies animales au Tchad pour la surveillance de la fièvre aphteuse ». *Epidémiologie et Santé Animale* 72: 5–14.

Paiba, G. A., J. Anderson, D. J. Paton, A. W. Soldan, Soren Alexandersen, M. Corteyn, G. Wilsden, P. Hamblin, D. K. J. MacKay, et A. I. Donaldson. 2004. « Validation of a foot-and-mouth disease antibody screening solid-phase competition ELISA (SPCE) ». *Journal of virological methods* 115 (2): 145–158.

Paton, David J., Keith J. Sumption, et Bryan Charleston. 2009. « Options for control of foot-and-mouth disease: knowledge, capability and policy ». *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 364 (1530): 2657–2667.

Pereira, H. G. 1976. « Subtyping of foot-and-mouth disease virus. » *Developments in Biological Standardization* 35: 167.

———. 1981. « Foot-and-mouth disease ». *Virus diseases of food animals*, 333–363.

Phologane, B. S., Rahana M. Dwarka, Daniel Thomas Haydon, L. J. Gerber, et Wilna Vosloo. 2008. « Molecular characterization of SAT-2 foot-and-mouth disease virus isolates obtained from cattle during a four-month period in 2001 in Limpopo Province, South Africa ». *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 75 (4): 267–277.

Porter, ALAN G. 1993. « Picornavirus nonstructural proteins: emerging roles in virus replication and inhibition of host cell functions. » *Journal of virology* 67 (12): 6917.

Radostits, Otto M., Clive C. Gay, Kenneth W. Hinchcliff, et Peter D. Constable. 2006. *Veterinary Medicine E-Book: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Elsevier Health Sciences.

Rasmussen, T. B., A. Uttenthal, K. De Stricker, S. Belak, et T. Storgaard. 2003. « Development of a novel quantitative real-time RT-PCR assay for the simultaneous detection of all serotypes of foot-and-mouth disease virus ». *Archives of virology* 148 (10): 2005–2021.

Reid, S. M., N. P Ferris, G. H Hutchings, Z. Zhang, G. J Belsham, et S. Alexandersen. 2002. « Detection of all seven serotypes of foot-and-mouth disease virus by real-time, fluorogenic reverse transcription polymerase chain reaction assay ». *Journal of Virological Methods* 105 (1): 67-80. https://doi.org/10.1016/S0166-0934(02)00081-2.

Reid, S. M., N. P. Ferris, Geoffrey H. Hutchings, Alan R. Samuel, et Nick J. Knowles. 2000. « Primary diagnosis of foot-and-mouth disease by reverse transcription polymerase chain reaction ». *Journal of Virological Methods* 89 (1-2): 167–176.

Relmy, A., A. Romey, K. Gorna, S. Blaise-Boisseau, È. Laloy, Deodass Meenowa, Karen Samoisy, et al. 2017. « Crise sanitaire dans l'Océan Indien : virus de la fièvre aphteuse aux Îles Maurice et Rodrigues en 2016 ». *Épidémiol. et santé anim.*, nº 71: 117-27.

Réounodji, F., W. Tchaouna, et M. Banzhaf. 2005. « Vers la sécurisation des systèmes pastoraux au Tchad: enjeux et éléments de réponse ». *Projet PSSP*.

Rieder, E., T. Bunch, F. Brown, et P. W. Mason. 1993. « Genetically Engineered Foot-and-Mouth Disease Viruses with Poly(C) Tracts of Two Nucleotides Are Virulent in Mice. » *Journal of Virology* 67 (9): 5139-45.

Ringa, N., et C. T. Bauch. 2014. « Dynamics and control of foot-and-mouth disease in endemic countries: A pair approximation model ». *Journal of theoretical biology* 357: 150–159.

Röhrer, Heinz. 1969. *Traite des maladies a virus des animaux*. Vigot.

Rueckert, R. R. 1996. « Picornaviridae: the viruses and their replication ». *Fields virology* 1: 609–654.

Rweyemamu, M. M. 1984. « Antigenic variation in foot-and-mouth disease: studies based on the virus neutralization reaction ». *Journal of biological standardization* 13 (3): 323–337.

Rweyemamu, M., P. Roeder, D. Mackay, K. Sumption, J. Brownlie, Y. Leforban, J.-F. Valarcher, N. J. Knowles, et V. Saraiva. 2008. « Epidemiological patterns of foot-and-mouth disease worldwide ». *Transboundary and emerging diseases* 55 (1): 57–72.

Sahle, M., Rahana M. Dwarka, Estelle Hildegard Venter, et Wilna Vosloo. 2007. « Study of the genetic heterogeneity of SAT-2 foot-and-mouth disease virus in sub-Saharan Africa with specific focus on East Africa ». *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 74 (4): 289–299.

Salt, J. S. 1993. « The carrier state in foot and mouth disease—an immunological review ». *British Veterinary Journal* 149 (3): 207–223.

Salt, J. S., A. R. Samuel, et R. P. Kitching. 1996. « Antigenic analysis of type O foot-and-mouth disease virus in the persistently infected bovine ». *Archives of virology* 141 (8): 1407–1421.

Samuel, Alan R., et Nick J. Knowles. 2001. « Foot-and-mouth disease virus: cause of the recent crisis for the UK livestock industry ». *Trends in Genetics* 17 (8): 421–424.

Sangar, D. V., R. P. Clark, A. R. Carroll, D. J. Rowlands, et B. E. Clarke. 1988. « Modification of the leader protein (Lb) of foot-and-mouth disease virus ». *Journal of general virology* 69 (9): 2327–2333.

Sangare, O., A. D. S. Bastos, E. H. Venter, et W. Vosloo. 2004. « A first molecular epidemiological study of SAT-2 type foot-and-mouth disease viruses in West Africa ». *Epidemiology & Infection* 132 (3): 525–532.

Sangare, O., Armanda DS Bastos, Otfried Marquardt, Estelle H. Venter, Wilna Vosloo, et Gavin R. Thomson. 2001. « Molecular epidemiology of serotype O foot-and-mouth disease virus with emphasis on West and South Africa ». *Virus Genes* 22 (3): 345–351.

Sangula, A. K., H. R. Siegismund, G. J. Belsham, S. N. Balinda, Charles Masembe, et V. B. Muwanika. 2011. « Low diversity of foot-and-mouth disease serotype C virus in Kenya: evidence for probable vaccine strain re-introductions in the field ». *Epidemiology & Infection* 139 (2): 189–196.

Schmidt, S. 1936. « Immunisierung des meerschuoinchons gegen drei verschiedene typen von maul-und-klauensechevirus vermittels eines trivalent aluminum-hydroxydadsorbates ». *Z. Immunitatforsch* 88: 91.

Sellers, R. F., J. Lacey, et A. I. Donaldson. 1983. « Quantitative Data on Airborne Foot-And-Mouth Disease Virus: Its Production, Carriage and Deposition: Discussion ». *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B* 302: 534.

Sellers, Robert F., A. I. Donaldson, et K. A. J. Herniman. 1970. « Inhalation, persistence and dispersal of foot-and-mouth disease virus by man ». *Epidemiology & Infection* 68 (4): 565–573.

Simmons, Norman, et Roger Feldman. 2001. « If foot and mouth disease were a disease of human beings ». *The Lancet Infectious Diseases* 1 (2): 75–76.

Sinkala, Y., M. Simuunza, J. B. Muma, D. U. Pfeiffe, C. J. Kasanga, et A. Mweene. 2014. « Foot and mouth disease in Zambia: Spatial and temporal distributions of outbreaks, assessment of clusters and implications for control ». *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 81 (2): 1–6.

Sobrino, F., E. L. Palma, E. Beck, M. Davila, J. C. De La Torre, P. Negro, N. Villanueva, J. Ortin, et E. Domingo. 1986. « Fixation of mutations in the viral genome during an

outbreak of foot-and-mouth disease: heterogeneity and rate variations ». *Gene* 50 (1): 149–159.

Sobrino, F., Margarita Sáiz, Miguel A. Jiménez-Clavero, Jose I. Núñez, María F. Rosas, Eric Baranowski, et Victoria Ley. 2001. « Foot-and-mouth disease virus: a long known virus, but a current threat ». *Veterinary research* 32 (1): 1–30.

Sørensen, K. J., K. G. Madsen, E. S. Madsen, J. S. Salt, J. Nqindi, et D. K. J. Mackay. 1998. « Differentiation of infection from vaccination in foot-and-mouth disease by the detection of antibodies to the non-structural proteins 3D, 3AB and 3ABC in ELISA using antigens expressed in baculovirus ». *Archives of virology* 143 (8): 1461–1476.

Souley Kouato, B. 2017. « Contribution à la connaissance de l'épidémiologie de la fièvre aphteuse au Niger ». PhD Thesis, Université de Liège, Liège, Belgique.

Spall, Valerie E., M. Shanks, et G. P. Lomonossoff. 1997. « Polyprotein processing as a strategy for gene expression in RNA viruses ». In *Seminars in virology*, 8:15–23. Elsevier.

Stenfeldt, Carolina, Michael Eschbaumer, Juan M. Pacheco, Steven I. Rekant, Luis L. Rodriguez, et Jonathan Arzt. 2015. « Pathogenesis of primary foot-and-mouth disease virus infection in the nasopharynx of vaccinated and non-vaccinated cattle ». *PLoS One* 10 (11): e0143666.

Stephen, Craig, Harvey Artsob, William R. Bowie, Michael Drebot, Erin Fraser, Ted Leighton, Muhammad Morshed, Corinne Ong, et David Patrick. 2005. « Perspectives on emerging zoonotic disease research and capacity building in Canada. » *The Canadian Veterinary Journal* 46 (1): 65.

Sumption, K., J. Domenech, et G. Ferrari. 2012. « Progressive control of FMD on a global scale ». *The Veterinary Record* 170 (25): 637.

Sumption, K., J. Pinto, J. Lubroth, S. Morzaria, T. Murray, S. De La Rocque, et F. Njeumi. 2007. « Foot-and-Mouth disease situation worldwide and major epidemiological events in 2005-2006 ». *FAO EMPRES (Emergency Prevention System) Focus-On* 1: 1–11.

Sutmoller, P., et J. W. McVicar. 1972. « The epizootiological importance of foot-and-mouth disease carriers ». *Archiv für die gesamte Virusforschung* 37 (1): 78–84.

Sutmoller, P., et R. Casas Olascoaga. 2002. « Unapparent foot and mouth disease infection (sub-clinical infections and carriers): implications for control ». *Revue scientifique et technique-Office international des épizooties* 21 (3): 519–524.

Sutmoller, Paul, John W. McVicar, et George E. Cottral. 1968. « The epizootiological importance of foot-and-mouth disease carriers ». *Archives of Virology* 23 (3): 227–235.

Tanya, V. N., R. P. Kitching, C. Nfon, S. M. Hamman, et K. L. Morgan. 2003. « Foot and mouth disease and livestock husbandry practices in the Adamawa Province of Cameroon ». *Tropical animal health and production* 35 (6): 491–507.

Tekleghiorghis, T. 2014. « Foot-and-mouth disease sero-surveillance in Africa and vaccine matching ». PhD Thesis, Utrecht University.

Tekleghiorghis, T., R. J.M Moormann, K. Weerdmeester, et A. Dekker. 2016. « Foot-and-mouth disease transmission in Africa: implications for control, a review ». *Transboundary and emerging diseases* 63 (2): 136–151.

Thiry, E., E. Baranowski, et E. Domingo. 2001. « Epidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse ». *Epidémiol. Santé Anim* 39: 59–67.

Thompson, D., P. Muriel, D. Russell, P. Osborne, A. Bromley, M. Rowland, S. Creigh-Tyte, et C. Brown. 2002. « Economic costs of the foot and mouth disease outbreak in the United Kingdom in 2001. » *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* 21 (3): 675–687.

Thomson, G. R. 1995. « Overview of foot and mouth disease in southern Africa ». *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties* 14 (3): 503–520.

———. 1996. « The role of carrier animals in the transmission of foot and mouth disease ». In *OIE comprehensive reports on technical items presented to the International Committee or to Regional Commissions*, 87–103.

Thomson, G. R., et A. D. S. Bastos. 1994. « Foot-and-mouth disease ». *Infectious diseases of livestock with special reference to southern Africa* 2: 825–852.

Thomson, G. R., M.-L. Penrith, M. W. Atkinson, S. J. Atkinson, D. Cassidy, et S. A. Osofsky. 2013. « Balancing livestock production and wildlife conservation in and around southern Africa's transfrontier conservation areas ». *Transboundary and emerging diseases* 60 (6): 492–506.

Thomson, G. R., W. Vosloo, et A. D. S. Bastos. 2003. « Foot and mouth disease in wildlife ». *Virus research* 91 (1): 145–161.

Thrusfield, Michael, et Robert Christley. 2005. *Veterinary epidemiology*. Vol. 9600. Wiley Online Library.

Toma, B. 2003. « De la cocotte à la ménace de la fièvre aphteuse ». *Bull. soc. fr. hist. méd. sci. vét* 2 (2): 2.

Toma, B., B. Dufour, et J. Rivière. 2018. « La fièvre aphteuse,Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises », 67.

Touré, I., A. Ickowicz, V. Ancey, L. E. Akpo, A. Ba, A. Bah, C. Corniau, A. T. Diop, I. Diop Gaye, et I. Garba. 2009. « Système d'information sur le pastoralisme au Sahel, phase 2 ». *Rapport Final, CIRAD, 53p*.

Touré, I., A. Ickowicz, A. Wane, I. Garba, P. Gerber, I. Atte, J. D. Cesaro, A. T. Diop, S. Djibo, et F. Ham. 2012. *Atlas des évolutions des systèmes pastoraux au Sahel: 1970-2012*. CIRAD&FAO.

Toutain, B., et O. Touré. 2000. « Etude prospective de la stratégie nationale de gestion des ressources pastorales au Tchad (du 29 novembre au 20 décembre 1999): rapport final ».

Ularamu, H. G., J. O. Ibu, B. A. Wood, J. N. Abenga, D. D. Lazarus, Y. S. Wungak, N. J. Knowles, et al. 2016. « Characterization of Foot-and-Mouth Disease Viruses Collected in Nigeria Between 2007 and 2014: Evidence for Epidemiological Links Between West and East Africa ». *Transboundary and Emerging Diseases*. http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tbed.12584/full.

Valarcher, Jean-Francois, Nick J. Knowles, Valery Zakharov, Alexey Scherbakov, Zhidong Zhang, You-Jun Shang, Zai-Xin Liu, Xiang-Tao Liu, Aniket Sanyal, et Divakar Hemadri. 2009. « Multiple origins of foot-and-mouth disease virus serotype Asia 1 outbreaks, 2003–2007 ». *Emerging infectious diseases* 15 (7): 1046.

Valdazo-González, Begoña, Nick J. Knowles, Jef Hammond, et Donald P. King. 2012. « Genome sequences of SAT 2 foot-and-mouth disease viruses from Egypt and Palestinian Autonomous Territories (Gaza Strip) ». *Journal of virology* 86 (16): 8901–8902.

Valdazo-González, Begoña, Nick J. Knowles, et Donald P. King. 2014. « Genome sequences of foot-and-mouth disease virus O/ME-SA/Ind-2001 lineage from outbreaks in Libya, Saudi Arabia, and Bhutan during 2013 ». *Genome announcements* 2 (2): e00242–14.

Vallée, H., et H. Carré. 1922. « Sur la pluralité du virus aphteux ». *CR Acad. Sci. Paris* 174: 1498–1500.

Vallée, H., H. Carré, et P. Rinjard. 1926. « Sur l'immunisation anti-aphteuse par le virus formolé ». *Rev. gén. Méd. vét* 35: 129–134.

Vangrysperre, W., et K. De Clercq. 1996. « Rapid and sensitive polymerase chain reaction based detection and typing of foot-and-mouth disease virus in clinical samples and cell culture isolates, combined with a simultaneous differentiation with other genomically and/or symptomatically related viruses ». *Archives of virology* 141 (2): 331–344.

Villon, A. 1973. *Epizootologie de la fièvre aphteuse en Ethiopie: identification des types de virus*. Ecole nationale vétérinaire de Lyon.

ViralZone. 2008. « Structure de la capside icosaédrique du virus. Institut suisse de bio-informatique »,. http://viralzone.expasy.org/all_by_species/33.html.

Vosloo, W., A. D. Bastos, E. Kirkbride, J. J. Esterhuysen, D. Janse van Rensburg, R. G. Bengis, D. W. Keet, et G. R. Thomson. 1996. « Persistent infection of African buffalo (Syncerus caffer) with SAT-type foot-and-mouth disease viruses: rate of fixation of mutations, antigenic change and interspecies transmission ». *Journal of General Virology* 77 (7): 1457–1467.

Vosloo, W., A. D. S. Bastos, O. Sangare, S. K. Hargreaves, et G. R. Thomson. 2002. « Review of the status and control of foot and mouth disease in sub-Saharan Africa ». *Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties* 21 (3): 437–445.

Vosloo, W., P. N. Thompson, B. Botha, R. G. Bengis, et G. R. Thomson. 2009. « Longitudinal study to investigate the role of impala (Aepyceros melampus) in foot-and-mouth disease maintenance in the Kruger National Park, South Africa ». *Transboundary and Emerging Diseases* 56 (1-2): 18–30.

Waldman, O., et K. Köbe. 1938. « Die aktive Immunisierung des Rindes gegen Maul-und-Klauenseuche ». *Berl. tierärztl. Wschr* 46: 317.

Waldmann, O., et J. Pape. 1920. « Die künstliche Übertragung der Maul-und Klauenseuche auf das Meerschweinchen ». *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 36: 519–520.

Waldmann, O., et K. Trautwein. 1926. « Experimentelle Untersuchungen über die Pluralität des Maul-und Klauenseuchevirus ». *Berl. Tierärztl. Wschr* 42 (35): 569–571.

Ward, Michael P., Shawn W. Laffan, et Linda D. Highfield. 2007. « The potential role of wild and feral animals as reservoirs of foot-and-mouth disease ». *Preventive Veterinary Medicine* 80 (1): 9–23.

Weaver, Genevieve V., Joseph Domenech, Alex R. Thiermann, et William B. Karesh. 2013. « Foot and mouth disease: a look from the wild side ». *Journal of Wildlife Diseases* 49 (4): 759–785.

Wekesa, S. N., A.K Sangula, G. J. Belsham, K. Tjornehoj, V. B. Muwanika, Francis Gakuya, Dominic Mijele, et Hans Redlef Siegismund. 2015. « Characterisation of recent foot-and-mouth disease viruses from African buffalo (Syncerus caffer) and cattle in Kenya is consistent with independent virus populations ». *BMC Veterinary Research* 11: 17. https://doi.org/10.1186/s12917-015-0333-9.

Woodbury, E. L. 1995. « A review of the possible mechanisms for the persistence of foot-and-mouth disease virus ». *Epidemiology & Infection* 114 (1): 1–13.

WRL-FMD. 2016. « Molecular epidemiology/genotyping, OIE/FAO FMD reference laboratory network reports 2003–2015 ».

Zell, R., E. Delwart, A. E. Gorbalenya, T. Hovi, A. M. Q. King, N. J. Knowles, A. Michael Lindberg, M. A. Pallansch, A. C. Palmenberg, et G. Reuter. 2017. « ICTV virus taxonomy profile: picornaviridae ». *Journal of General Virology* 98 (10): 2421–2422.

Zhang, Zhidong, et Soren Alexandersen. 2004. « Quantitative analysis of foot-and-mouth disease virus RNA loads in bovine tissues: implications for the site of viral persistence ». *Journal of General Virology* 85 (9): 2567–2575.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Analayse phylogénétique

Analysis method

Analysis ---------- Phylogeny Reconstruction
Scope ---------- All Selected Taxa
Statistical Method ---------- Neighbor-joining
Phylogeny Test
Test of Phylogeny ---------- Bootstrap method
No. of Bootstrap Replications ------- 1000
Substitution Model
Substitutions Type ---------- Nucleotide
Model/Method ---------- Tamura-Nei model
Substitutions to Include ---------- d: Transitions + Transversions
Rates and Patterns
Rates among Sites ---------- Gamma Distributed (G)
Gamma Parameter ---------- 0,26
Pattern among Lineages ---------- Same (Homogeneous)
Data Subset to Use
Gaps/Missing Data Treatment --------- Pairwise deletion
Codons Included ---------- 1st+2nd+3rd+Non-Coding
No. of Sites : 645
No. of Bootstrap Reps = 1000
Only bootstrap values of 70% and above are shown

Zoom sur CHA/7/2016

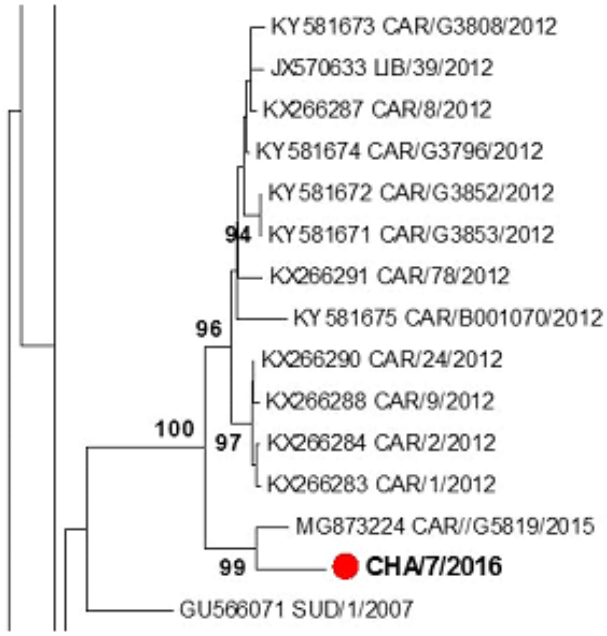


Figure. Evolutionary relationships of taxa

The evolutionary history was inferred using the Neighbor-Joining method [1]. The optimal tree with the sum of branch length = 3.50616597 is shown. The percentage of replicate trees

in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1000 replicates) are shown next to the branches [2]. The tree is drawn to scale, with branch lengths in the same units as those of the evolutionary distances used to infer the phylogenetic tree. The evolutionary distances were computed using the Tamura-Nei method [3] and are in the units of the number of base substitutions per site. The analysis involved 142 nucleotide sequences. Codon positions included were 1st+2nd+3rd+Noncoding. All ambiguous positions were removed for each sequence pair. There were a total of 645 positions in the final dataset. Evolutionary analyses were conducted in MEGA6 [4].

References :

1. Saitou N. and Nei M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution 4:406-425.

2. Felsenstein J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution 39:783-791.

3. Tamura K. and Nei M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Molecular Biology and Evolution 10:512-526.

4. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., and Kumar S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution30: 2725-2729.

Highest Homologies with CHA/7

	% Homologie	
Isolat	**Nucl**	**Ac Am**
MG873224 CAR//G5819/2015	97.51	98.60
KY581674 CAR/G3796/2012	95.95	97.21
KY581672 CAR/G3852/2012	95.95	96.74
KY581671 CAR/G3853/2012	95.95	96.74
KX266287 CAR/8/2012	95.95	97.21
JX570633 LIB/39/2012	95.79	96.75
KY581673 CAR/G3808/2012	95.79	96.74
KX266291 CAR/78/2012	95.48	96.75
KX266290 CAR/24/2012	95.48	96.28
KX266288 CAR/9/2012	95.33	96.28
KX266284 CAR/2/2012	95.33	96.28
KX266283 CAR/1/2012	95.17	96.28
KY581675 CAR/B001070/2012	95.02	96.74

ANNEXE 2 :

Questionnaire de l'enquête mobilité animale (origine/ destination)

Date de l'enquête : ……..

Région : ……..…… Département: ……. Commune: ……

Mode d'élevage ***E**: Extensif* ***I** : Intensif* ***S** :Semi-intensif* ***A** : Autres*	**Type Origine/Destination** ***M** : Marché* ***E** : Elevage* ***AT** : Abattoirs –tueries* ***A** : Autres (à préciser)*			**Espèce animale** ***Bov** : Bovin* ***Ov** : Ovin* ***Cap** : Caprin* ***Cam** : Camelin*	**Mode de déplacement** ***C** : Camion* ***P** : à pied*	**Période de déplacement** ***FR** : Fête de fin de Ramadan* ***FT** : Fête de Tabaski* ***FA** : Fête de fin d'année* ***FN** : Fête de Noel* Ou bien ***Date** : jj/mm/aa ou mm/aa*	**Fréquence** ***Q** : Quotidien* ***H** : Hebdomadaire* ***M** : Mensuel* ***A** : Annuel*	**Coordonnées géographiques ou Nom de la localité**	
Mode de l'élevage	**Origine**	**Nombre**	**Destination**	**Espèce**	**Type de transport**	**Date ou période**	**Fréquence**	**Origine**	**Destination**

Title : Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease in Subsaharian Africa : the case of Chad

Keywords : foot-and-mouth-disease, molecular epidemiology, Chad, Africa

Abstract :

Foot-and-mouth-disease (FMD) is a highly contagious disease that affects domestic and wild artiodactyles. It is endemic in Chad. However, there is very little research on FMD, as the prevalence and risk factors associated with the disease and all circulating serotypes are not well known. My thesis aims to contribute to a better understanding of the epidemiology of this disease, to determine areas at risk, to estimate seroprevalence in three major breeding regions (Batha, Wadi Fira and West Ennedi) and to carry out an initial molecular characterization of the serotypes of the FMDV circulating in Chad.

A literature review was carried out to collect data on animal mobility and the current epidemiological situation of FMD in Chad and neighbouring countries. The objective of this work was to establish a risk map based on the occurrence of the disease in relation to animal movements. The results were used to estimate the risk of introduction and spread of FMD and to represent areas at risk using the new risk mapping approach. Thus, 12/347 Chadian communes located at the borders have a "very high" risk of introduction of the FMDV. For the risk of spread, 54 and 78 communes were characterized by a "very high" and "high" risk respectively.

In addition, a cross-sectional survey was conducted between October and 2016 to determine the seroprevalence of the disease in domestic ruminants and characterize circulating viral strains. A total of 1520 sera samples (928 cattle, 216 goats, 254 sheep and 122 dromedaries) were collected for serological analysis and nine epithelial tissues from cattle showing clinical signs for virological analysis. Serological results showed an overall seroprevalence of 40% and seroprevalences of 84%, 78% and 84% in cattle over 5 years of age in East Batha, West Batha and Wadi Fira respectively. Among cattle under one year of age, seroprevalence was estimated at 67% in Wadi Fira, 64% in East Batha and 59% in West Batha. In small ruminants over 5 years of age, seroprevalence of 63%, 45%, 34% and 10% have been estimated respectively in West Batha, East Batha, Wadi Fira and West Ennedi. In small ruminants under one year of age, seroprevalence has been estimated at Wadi Fira (50%), East Batha (32%), West Batha (18%), and Ennedi West (11%). Serotyping results from sera of animals less than one year old showed that serotypes O, A, SAT1 and SAT2 circulated in 2015 in Chad. However, serotype SAT2 dominated with an overall seroprevalence of 43.3% and was present in all areas studied. It is followed by serotypes O (29.9%) present in West Batha and Wadi Fira, A (22.4%) present in East Batha and West Batha and SAT1 (4.5%) present only in Wadi Fira. Virological analyses have made it possible to characterize the serotype SAT2 of the FMDV. Phylogenetic analyses of the coding sequence for the VP1 protein made it possible to determine the SAT2 topotype VII serotype, close to the viral strains found in Cameroon in 2015 with a similarity of 98.60%.

In conclusion, the serological results confirm that the disease is endemic. Furthermore, the results of molecular characterization prove the cross-border nature of the disease through uncontrolled movements of animals. All these results show that it is important for Chadian veterinary services and researchers to continue research on the molecular epidemiology of FMD throughout the country in order to characterize all serotypes circulating and then develop and implement a surveillance protocol and a risk-based control plan.

Titre : Epidémiologie moléculaire de la fièvre aphteuse en Afrique Subsaharienne : cas du Tchad
Mots-clés : fièvre aphteuse, épidémiologie moléculaire, Tchad, Afrique
Résumé :
La fièvre aphteuse (FA) est une maladie hautement contagieuse qui touche les artiodactyles domestiques et sauvages. Elle est enzootique au Tchad. Cependant, il y a très peu de recherches sur la FA, car la séroprévalence et les facteurs de risque associés à la maladie et tous les sérotypes circulants ne sont pas bien connus. Les travaux de ma thèse visent à contribuer à une meilleure compréhension de l'épidémiologie de cette maladie, à déterminer les zones à risque, à estimer la séroprévalence dans trois grandes régions d'élevage (Batha, Wadi Fira et Ennedi Ouest) et à réaliser une première caractérisation moléculaire des sérotypes du virus de la FA circulant au Tchad.

Une revue bibliographique a été effectuée pour collecter des données sur la mobilité animale et la situation épidémiologique actuelle de la FA au Tchad et dans les pays voisins. L'objectif de ce travail était d'établir une cartographie du risque basée sur l'occurrence de la maladie en relation avec les mouvements des animaux. Les résultats ont permis d'estimer le risque d'introduction et de propagation de la fièvre aphteuse et de représenter les zones à risque grâce à la nouvelle approche de cartographie du risque. Ainsi, 12/347 communes tchadiennes, situées aux frontières ont un risque « très élevé » d'introduction du virus de la FA aphteuse. Pour le risque de propagation, 54 et 78 communes étaient caractérisées respectivement par un risque « très élevé » et « élevé ».

Par ailleurs, une enquête transversale a été menée entre octobre et nombre 2016 pour déterminer la séroprévalence de la maladie chez les ruminants domestiques et caractériser les souches virales qui circulent. Au total, 1520 échantillons de sérums (928 bovins, 216 caprins, 254 ovins et 122 dromadaires) ont été prélevés pour les analyses sérologiques et 9 tissus épithéliaux chez les bovins présentant des signes cliniques pour les analyses virologiques. Les résultats sérologiques ont montré une séroprévalence globale de 40% et des séroprévalences de 84%, 78% et 84% chez les bovins de plus de 5 ans respectivement au Batha Est, Batha Ouest et Wadi Fira. Chez les bovins de moins d'un an, la séroprévalence était estimée à 67 % au Wadi Fira, à 64 % au Batha Est et à 59 % au Batha Ouest. Chez les petits ruminants de plus de 5 ans, des séroprévalences de 63%, 45%, 34% et 10% ont été estimées respectivement au Batha Ouest, Batha Est, Wadi Fira et Ennedi Ouest. Chez les petits ruminants de moins d'un an, des séroprévalences ont été estimées : Wadi Fira (50 %), Batha Est (32 %), Batha Ouest (18 %), et Ennedi Ouest (11 %). Les résultats du sérotypage à partir des sérums d'animaux âgés de moins d'un an ont montré que les sérotypes O, A, SAT1 et SAT2 ont circulé en 2015 au Tchad. Cependant, le sérotype SAT2 dominait avec une séroprévalence globale de 43,3 % et il était présent dans toutes les zones étudiées. Il est suivi des sérotypes O (29,9%) présent aux Batha Ouest et Wadi Fira, A (22,4%) présent aux Batha Est et Batha Ouest et SAT1 (4,5%) présent seulement à Wadi Fira. Les analyses virologiques ont permis de caractériser le sérotype SAT2 du virus de la FA. Les analyses phylogénétiques de la séquence codante pour la protéine VP1 ont permis de déterminer le sérotype SAT2 topotype VII, proche des souches virales trouvées au Cameroun en 2015 avec une similarité de 98,60%.

En conclusion, les résultats sérologiques confirment le caractère enzootique de la maladie. En outre, les résultats de la caractérisation moléculaire prouvent le caractère transfrontalier de la maladie ceci par le biais de mouvements incontrôlés d'animaux. L'ensemble de ces résultats montrent qu'il est important que les services vétérinaires tchadiens et les chercheurs poursuivent les recherches sur l'épidémiologie moléculaire de la FA sur l'ensemble du territoire pour caractériser tous les sérotypes qui circulent, puis élaborer et mettre en place un protocole de surveillance et un plan de lutte basée sur les risques.