

Étude de l'introgession des génotypes de *Toxoplasma gondii* entre la France et l'Afrique de l'Ouest et Centrale, et son impact sur l'épidémiologie de la toxoplasmose dans ces régions



Doctorant:

Lokman GALAL

Vétérinaire

UMR INSERM 1094 NET

Université de Limoges

lokman.galal@etu.unilim.fr

« JOURNÉES RONGEURS » du CBGP
25 septembre 2015

Encadrants:

Philippe VIGNOLES

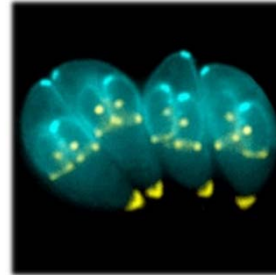
Aurélien MERCIER

Toxoplasma gondii : Présentation

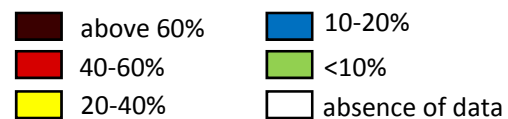
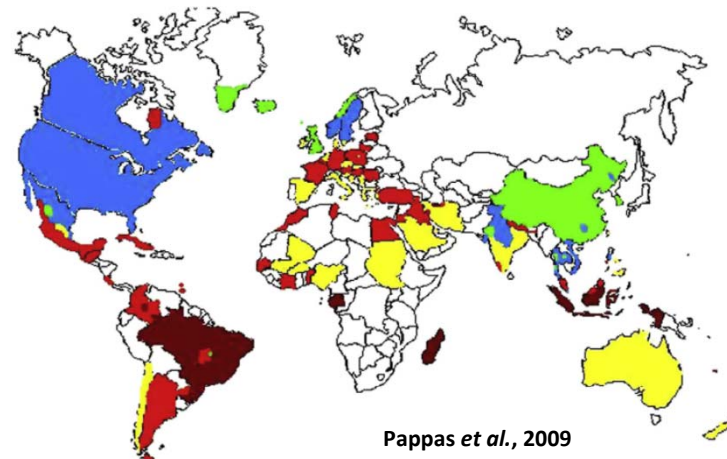
Protozoaire

Apicomplexe

Famille des Coccidae



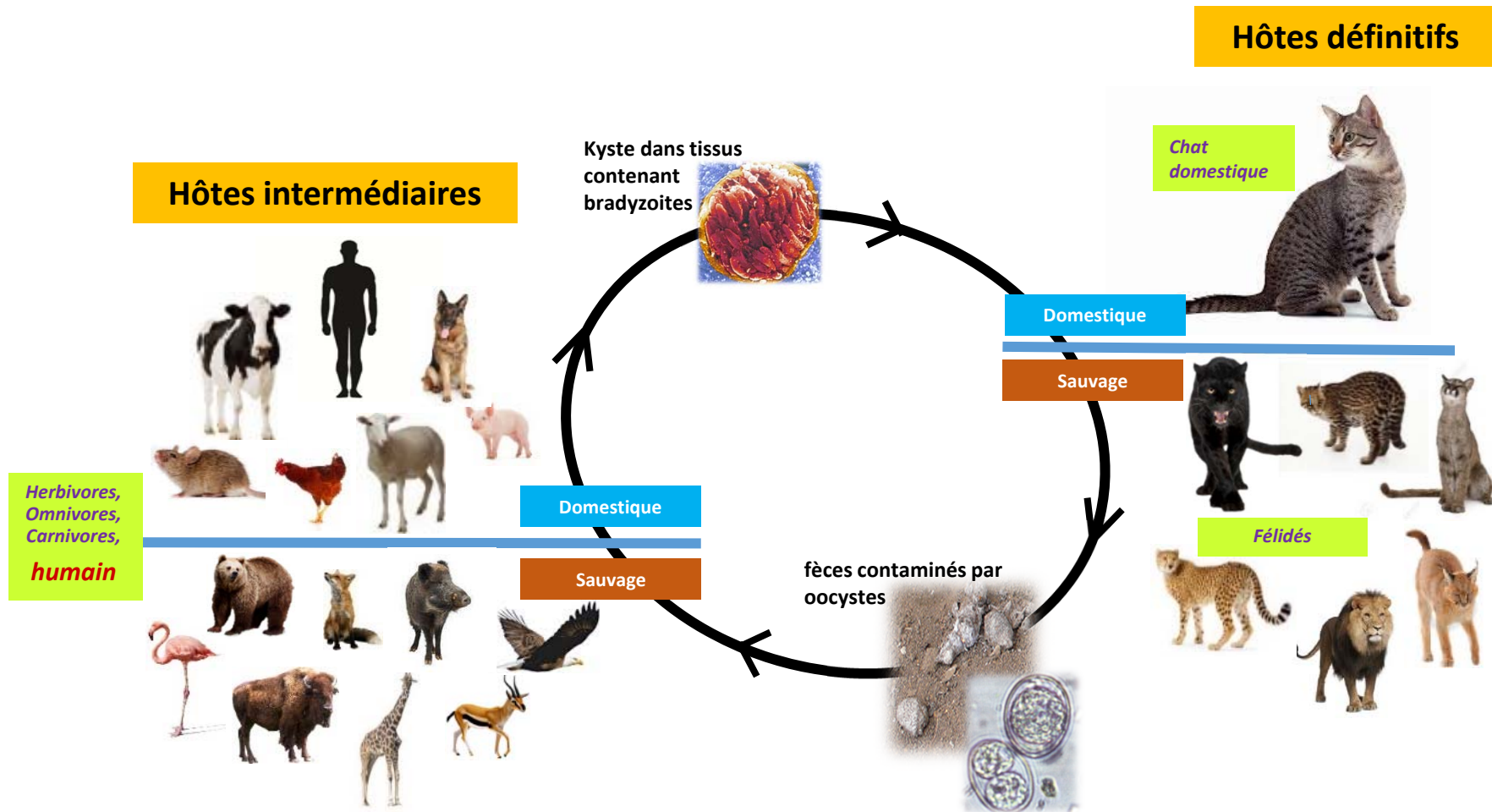
- Parasite ubiquitaire par excellence
- Infecte potentiellement tous les homéothermes (mammifères + oiseaux)
- Environ 25% de la population mondiale infectée



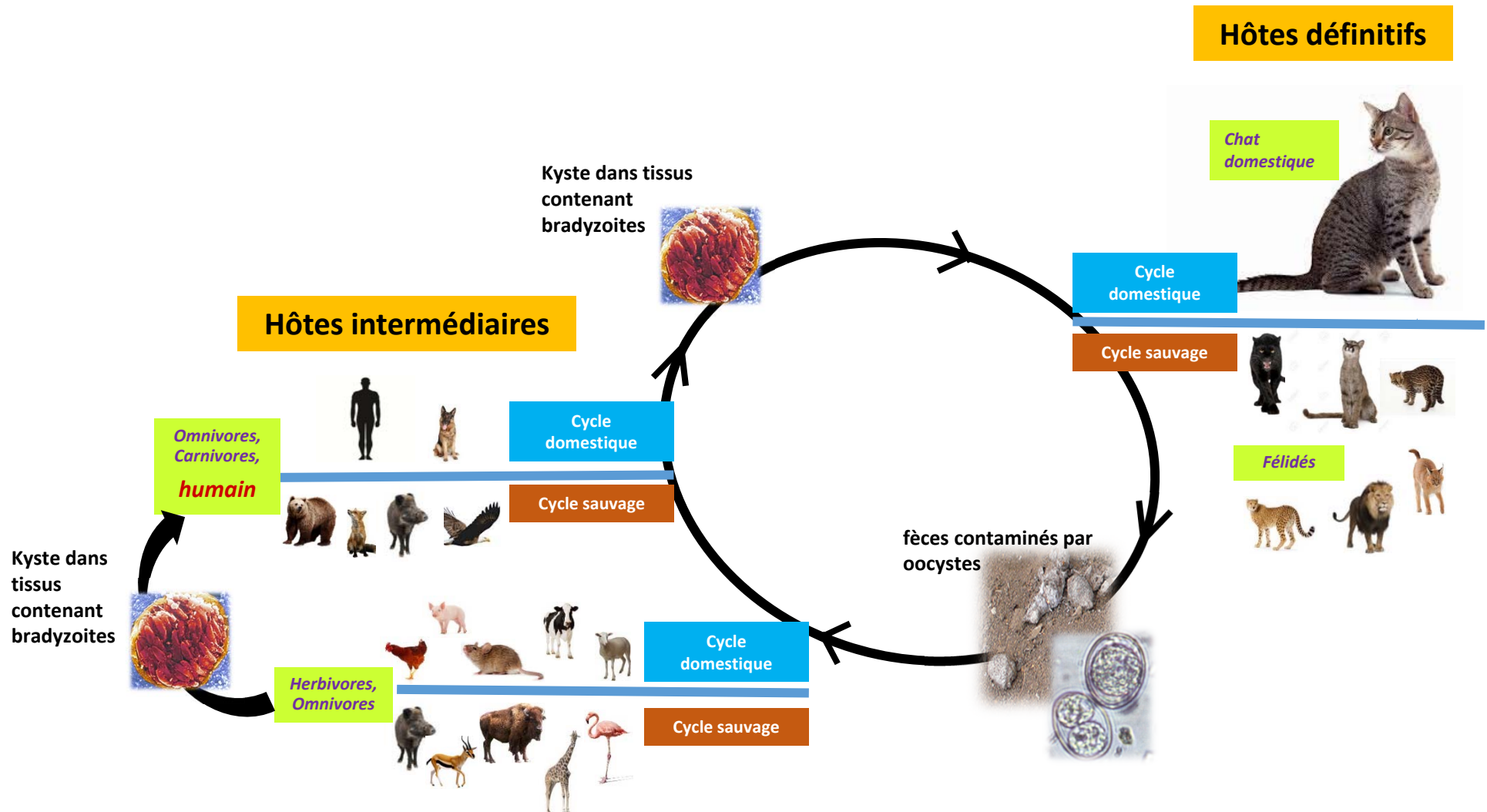
Carte de la séroprévalence de *T. gondii* à travers le monde

Isolé pour la première fois chez *Ctenodactylus gondii* en Tunisie en 1908, par Nicolle et Manceaux

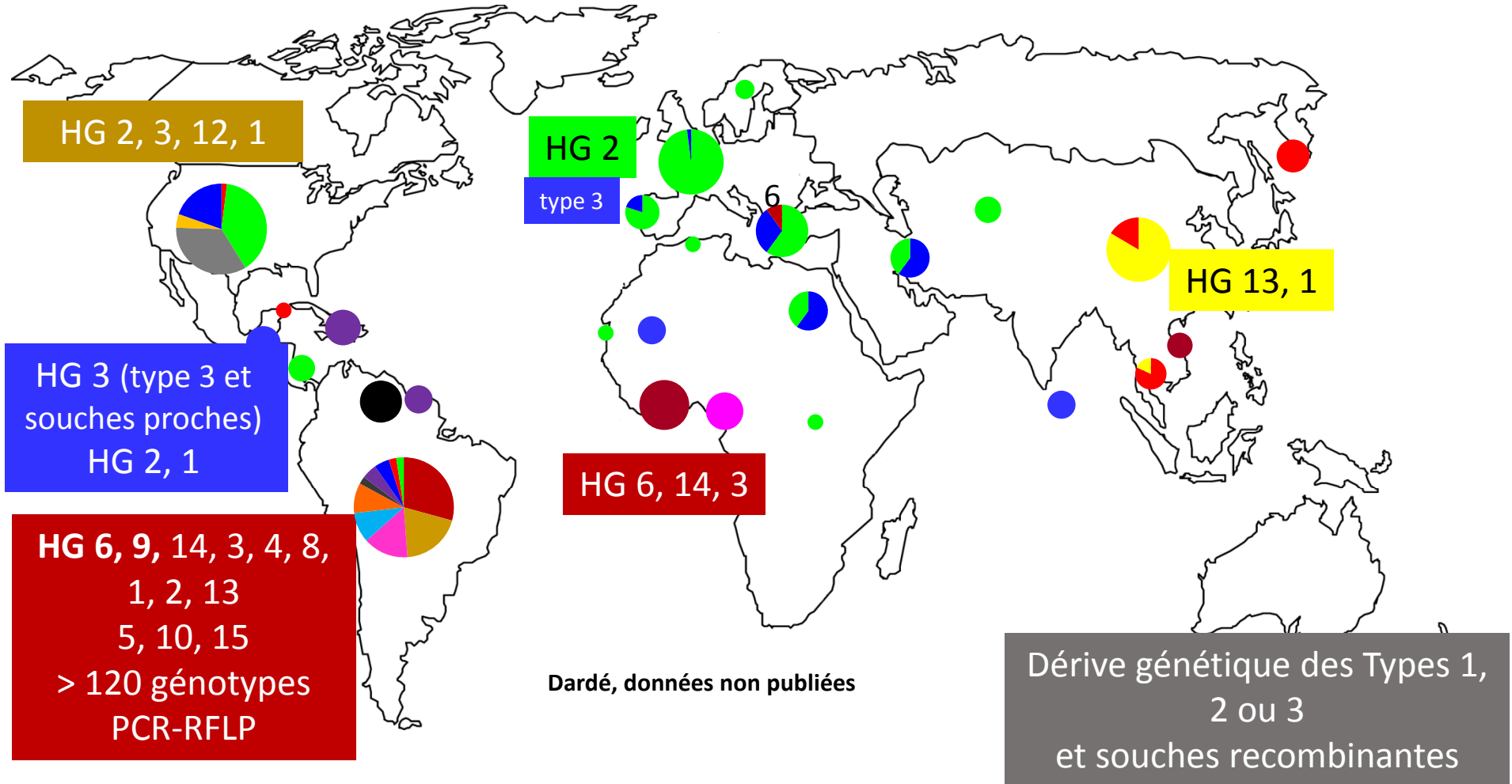
Cycle complexe de *T. gondii*



Cycle de *Toxoplasma gondii*



Structuration spatiale des haplogroupes de *T. gondii*



HAPLOGROUPES

- HG 3 (Type III)
- HG 2 (type II)
- HG 1 (type I)
- HG 14 (Africa 3)
- HG 4 (BrII, BrIV)
- HG 8
- HG 3 (Caribbean)
- HG 12 (type 12, X)
- HG 6 (Africa 1, BrI)
- Amazonien (HG 5-10)
- HG 13 (Chinese 1)
- HG 9 (BrIII)₅

Virulence et diversité des présentations cliniques en fonction des régions

Manifestations cliniques plus diverses et plus sévères décrites dans les pays dits « du Sud » :

Chez des adultes immunocompétents :

- **atteintes oculaires** (Gilbert *et al.*, 1999; Khan *et al.*, 2006) :
 - Europe : de 0.3 % à 1%
 - Brésil : Nord : 2 % / Sud : 25 %
 - Afrique : taux plus élevé de toxoplasmose oculaire chez les patients nés en Afrique par rapport aux patients nés en Grande-Bretagne (incidence x100)
- **atteintes multiviscérales** en Amérique du sud (Carme *et al.*, 2009; Nunura *et al.*, 2010)



Toxoplasmose oculaire
(Shobab, 2013)

Facteurs hôtes ou facteurs parasites?

Manifestations cliniques plus sévères décrites sous les pays dits « du Sud » :

MAJOR ARTICLE

Facteurs hôtes ou facteurs parasites?

Genotype of 88 *Toxoplasma gondii* Isolates Associated with Toxoplasmosis in Immunocompromised Patients and Correlation with Clinical Findings

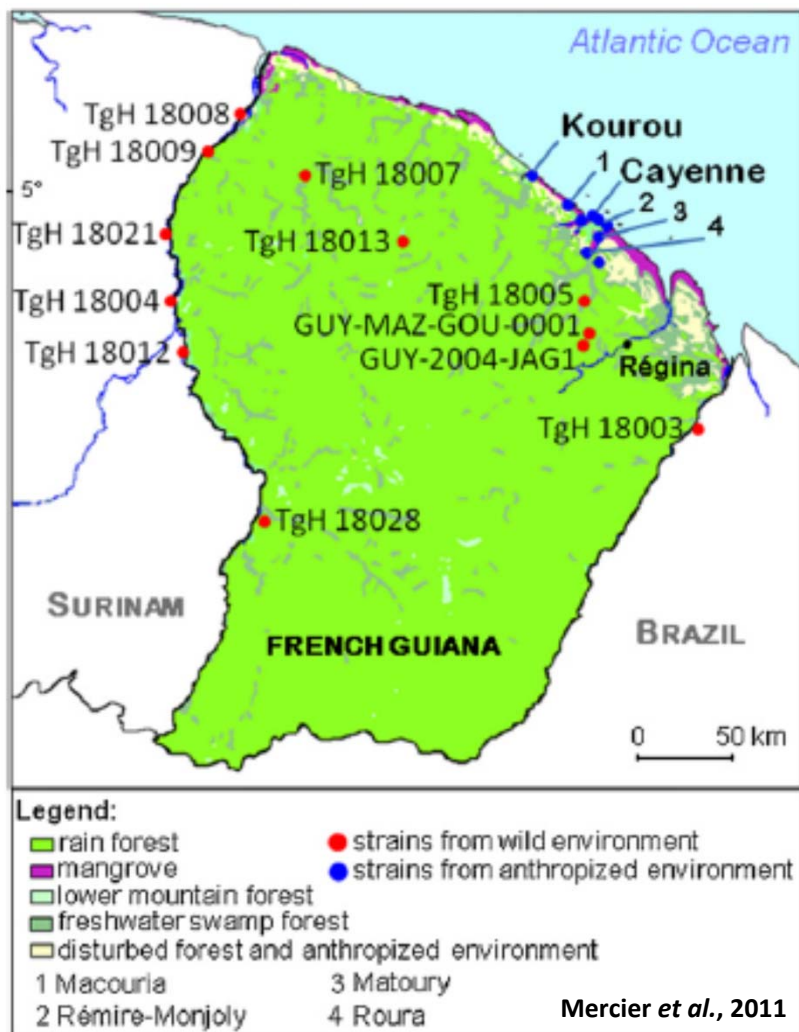
Daniel Ajzenberg,^{8,9} Hélène Yera,¹⁷ Pierre Marty,¹⁵ Luc Paris,¹⁹ Frédéric Dalle,⁵ Jean Menotti,²⁰ Dominique Aubert,²² Jacqueline Franck,¹² Marie-Hélène Bessières,²⁶ Dorothée Quinio,³ Hervé Pelloux,⁶ Laurence Delhaes,⁷ Nicole Desbois,²⁹ Philippe Thulliez,¹⁶ Florence Robert-Gagneux,²³ Catherine Kauffmann-Lacroix,²¹ Sophie Pujol,² Meja Rabodonirina,¹¹ Marie-Elisabeth Bougnoux,¹⁸ Bernadette Cuisenier,⁵ Chantal Duhamel,⁴ Thanh Hai Duong,²⁷ Denis Filisetti,²⁵ Pierre Flori,²⁴ Françoise Gay-Andrieu,¹⁴ Francine Pratlong,¹³ Gilles Nevez,³ Anne Totet,¹ Bernard Carne,²⁸ Henri Bonnabau,¹⁰ Marie-Laure Dardé^{8,9} and Isabelle Villena²²

¹Centre Hospitalier Universitaire, Amiens, ²Centre Hospitalier Universitaire, Bordeaux, ³Centre Hospitalier Universitaire, Brest, ⁴Centre Hospitalier Universitaire, Caen, ⁵Centre Hospitalier Universitaire, Dijon, ⁶Centre Hospitalier Universitaire, Grenoble, ⁷Centre Hospitalier Universitaire, Lille, ⁸Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, EA 3174, Faculté de Médecine, Université de Limoges, and ⁹Centre National de Référence Toxoplasmose, Centre Hospitalier Universitaire, and ¹⁰Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et Biostatistique UFRCB, Centre Hospitalier Universitaire, Limoges, Université de Limoges, Limoges, ¹¹Hospices civils de Lyon, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, ¹²Centre Hospitalier Universitaire, Marseille, ¹³Centre Hospitalier Universitaire, Montpellier, ¹⁴Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, ¹⁵Centre Hospitalier Universitaire, Nice, ¹⁶Institut de Puériculture, ¹⁷Hôpital Cochin and ¹⁸Hôpital Necker-Enfants Malades, ¹⁹Hôpital Pitié-Salpêtrière, and ²⁰Hôpital Saint-Louis, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, ²¹Centre Hospitalier Universitaire, Poitiers, ²²Centre Hospitalier Universitaire, Reims, ²³Centre Hospitalier Universitaire, Rennes, ²⁴Centre Hospitalier Universitaire, Saint-Etienne, ²⁵Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, ²⁶Centre Hospitalier Universitaire, Toulouse, ²⁷Centre Hospitalier Universitaire, Tours, France; ²⁸Centre Hospitalier Général, Cayenne, French Guiana; ²⁹Centre Hospitalier Universitaire, Fort de France, Martinique

Sévérité de l'infection semble dépendre de l'hôte (état immunitaire + génétique) chez les individus immunodéprimés (Ajzenberg, 2009)

Introgressions de *T. gondii* : Travaux précédents

Exemple 1 : Guyane française



Environnement
sauvage

Environnement
anthropisé

Premières implantations françaises
dans la zone de Cayenne dès 1503

Exemple 2 : Continent américain / Europe



Importation de
viandes chevalines

Introgression de
souches atypiques
hautement virulentes

Continent
américain

Europe

Pomares *et al.*, 2011

Aroussi *et al.*, 2015

Objectifs

Étude de l'introggression des géotypes de *Toxoplasma gondii* entre la France et l'Afrique de l'Ouest et Centrale, et son impact sur l'épidémiologie de la toxoplasmose dans ces régions

Objectif principal : étudier l'influence humaine sous diverses formes (commerce, modification de l'environnement, ...) et environnementale (oiseaux migratoires, ...) sur la structuration des populations du toxoplasme.

- Estimer les **possibilités d'introggression** de géotypes d'une origine géographique à l'autre (France / Afrique de l'ouest).
 - 1) Identification des voies d'introggression potentielles
 - 2) Isolement du parasite à partir des réservoirs
 - 3) Analyse des géotypes des parasite isolés
- Analyser les **échanges génétiques** et la persistance de certains gènes dans ces zones.
Microsatellite / Séquençage / NGS
- Caractériser la virulence des souches à l'isolement dans les régions d'études (importation / exportation de souches virulentes).

Possibilités d'introgression de *T. gondii* : Le transport maritime



Hypothèse : régions proches de la côte => zones d'interférence possible entre les génotypes européens et africains (échanges commerciaux et animaux vivants débarqués des bateaux depuis les siècles derniers)

Hypothèse d'introduction de *Rattus rattus* en Afrique de l'Ouest à partir de 1659 (Konecny *et al.*, 2013): date de fondation du port de Saint-Louis, Sénégal (Sinou, 1981)



1659: First European settlement



Konecny *et al.*, 2013



Traite Négrière française (1670-1864)



Voilier breton, 1900



Port de Dakar, Sénégal (fondé en 1866)

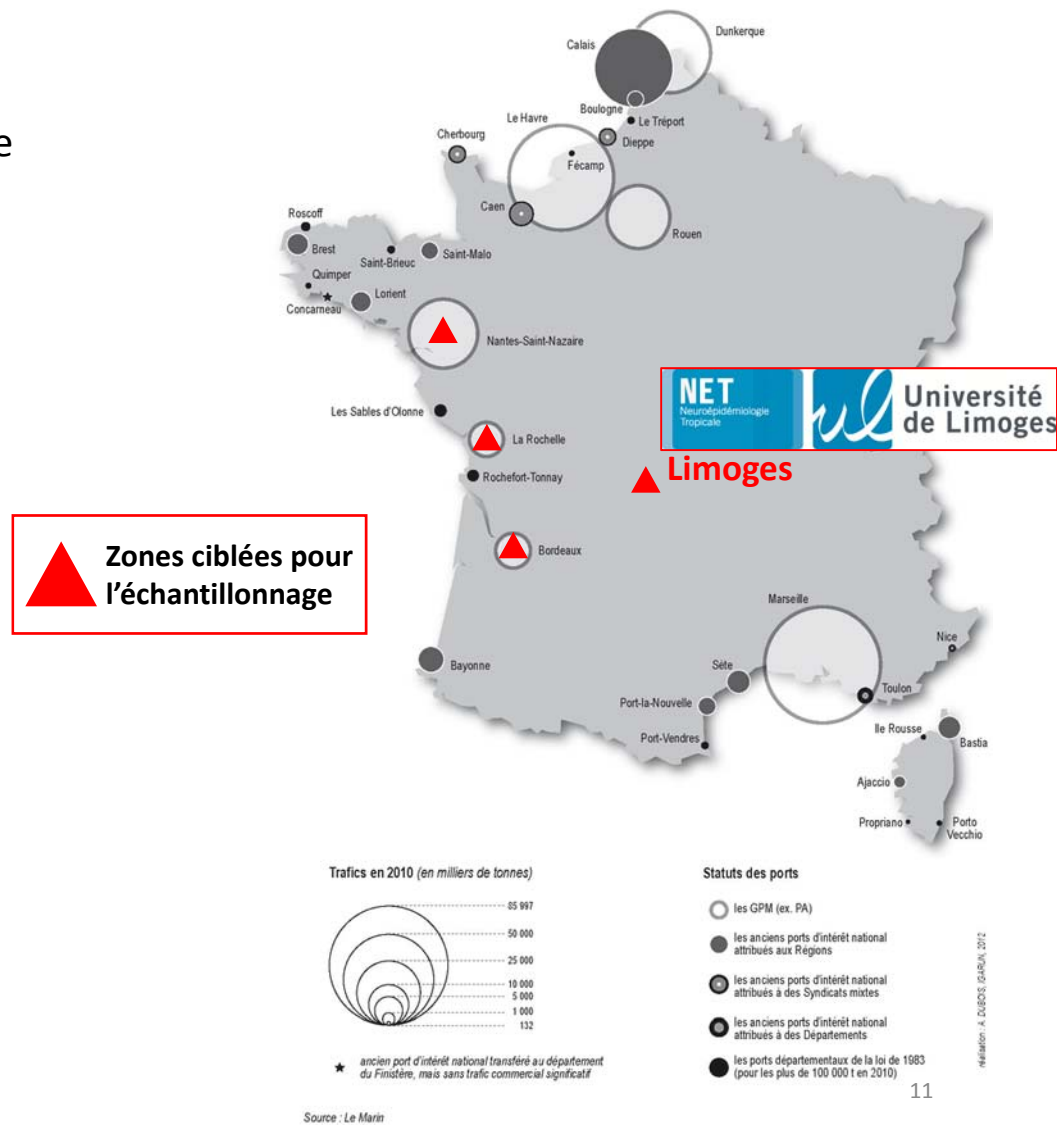
Le transport maritime : Contexte France / Afrique de l'ouest et centrale



Zones d'étude :

la France et l'Afrique de l'Ouest / Centrale

(longue histoire marchande commune)



Possibilités d'introgression de *T. gondii* : L'importation d'animaux de rente



Holstein, **France**



Brune des Alpes, **Suisse**

Importation de vaches pour
la production laitière depuis
plusieurs pays



Jersiaise, **France**



Girolando, **Brésil**



Guzera, **Inde**

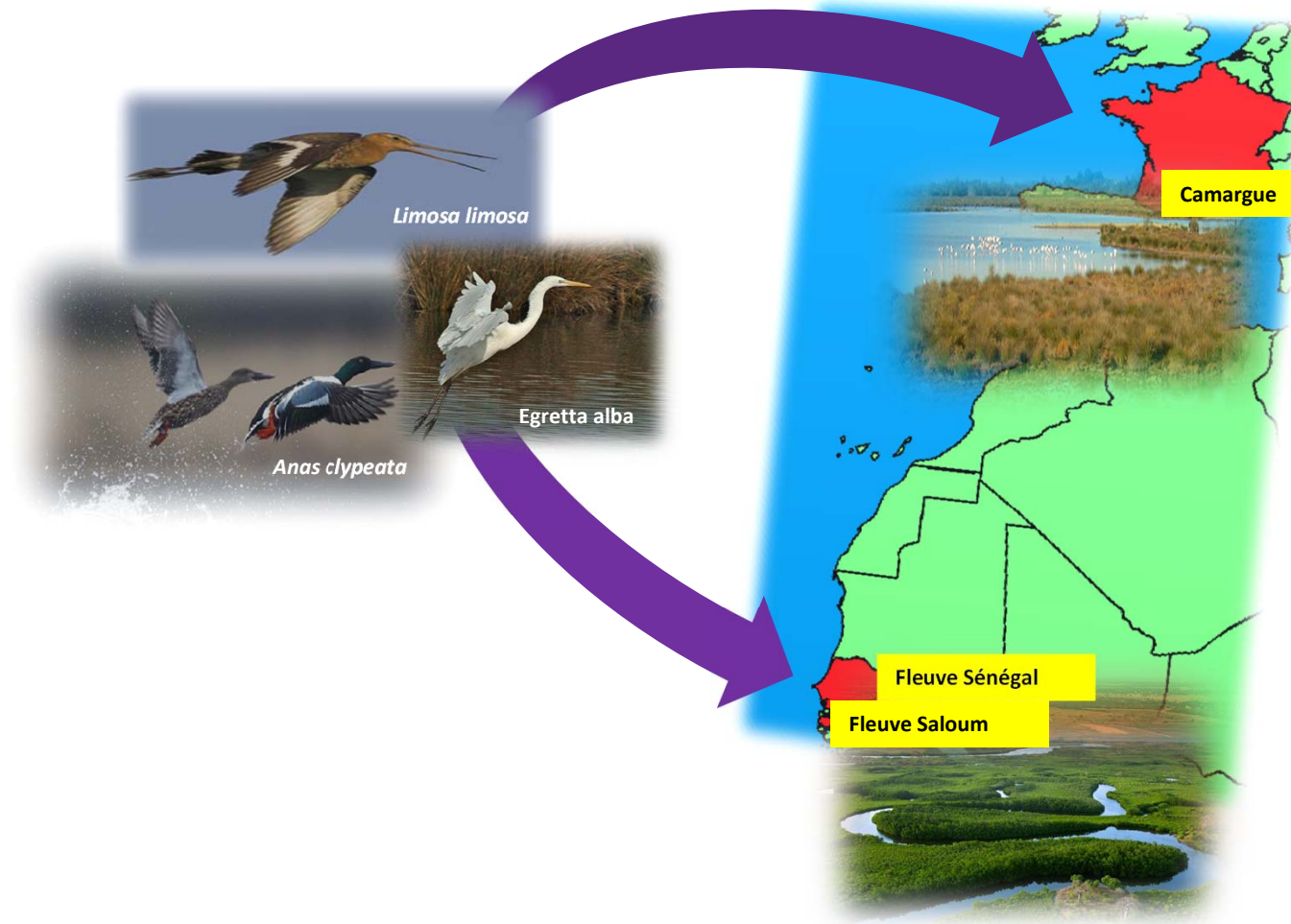


Montbéliarde, **France**



Gir, **Brésil**

Possibilités d'introggression de *T. gondii* : Les oiseaux migrateurs

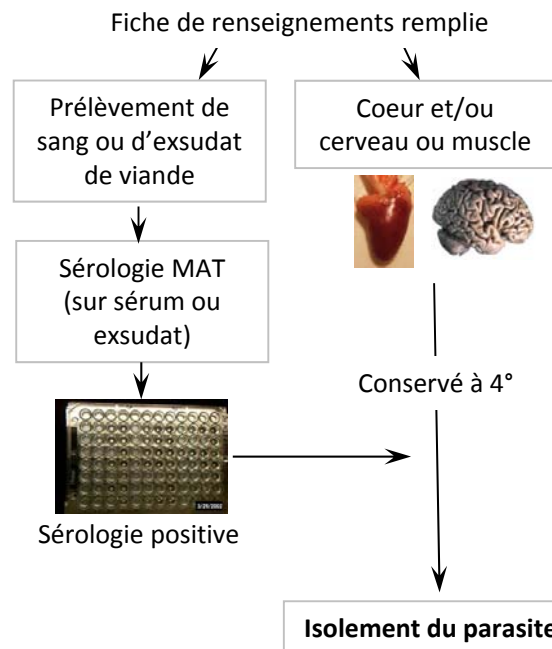


Isolement du parasite

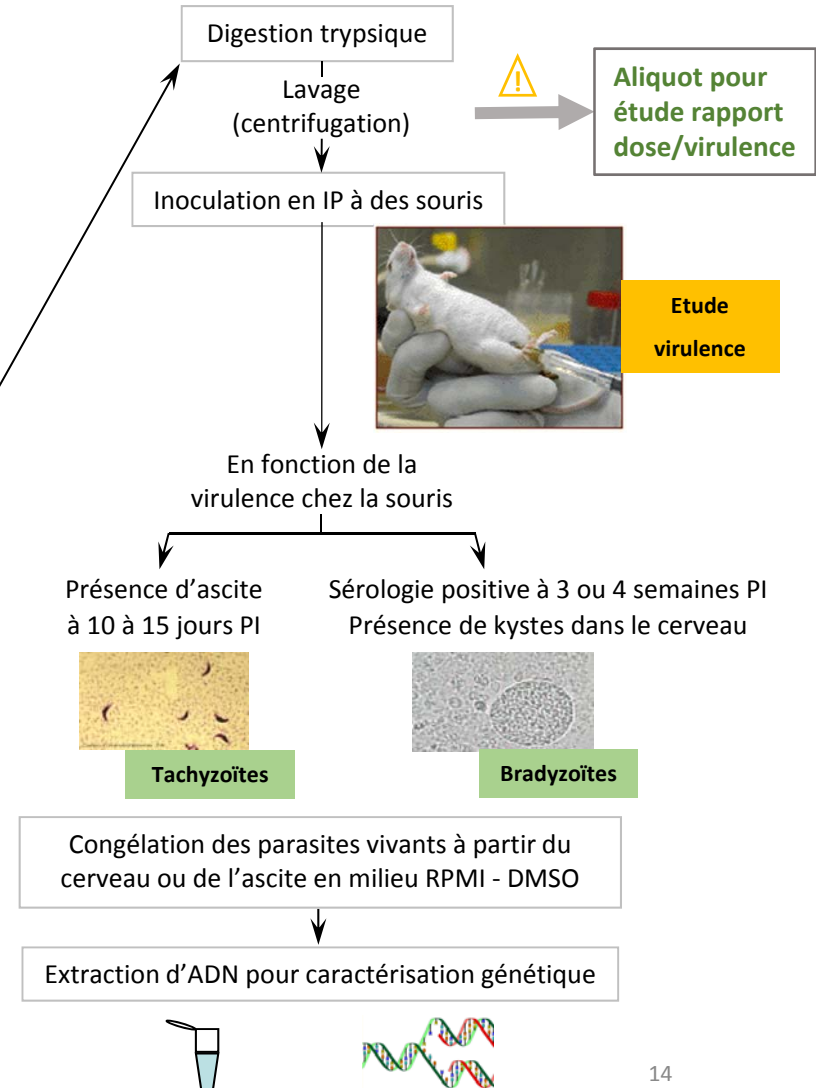
Méthode d'isolement



Échantillons « frais » :



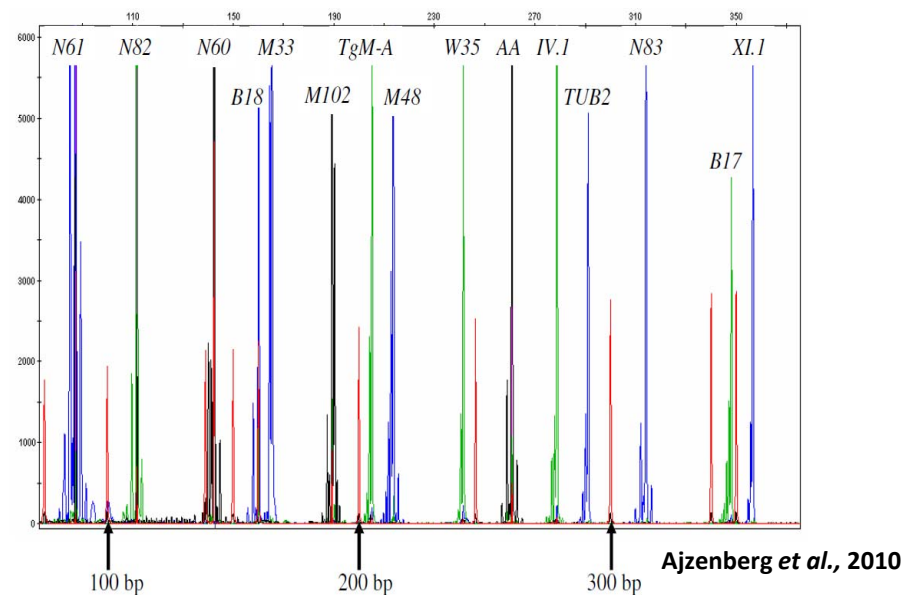
Procédé d'isolement



Analyse des échanges génétiques entre les zones d'études

Diversité génétique du toxoplasme dans les zones d'étude

- échanges génétiques ?
- persistance de certains gènes ?

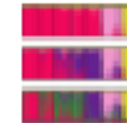


15 marqueurs microsatellites (MS)

situés sur 12 chromosomes

Analyse de la structure
des populations :

STRUCTURE et **DAPC (R)**



Pour aller plus loin...

- Séquençage de gènes :
 - plus résolutif que microsatellites
 - peut apporter données supplémentaires (histoire ancienne de *T. gondii*)
- Comparer avec des souches issues d'autres origines géographiques
- Etudier liens possibles entre génotype et virulence

▪ Diversité et structure génétique

- **Diversité génétique (H_s) et génotypique**



Genetix

- Analyse des différences génétiques entre isolats et populations

• **Arbre de distance** basé sur les MS des isolats et des génotypes
(Neighbor-joining, distance de Cavalli-Sforza et 1000 bootstrap)



MEGA5

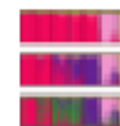
• **Coefficient de différenciation génétique : F_{st}** entre population



Fstat

- Analyse du **déséquilibre de liaison (LD) pour la totalité des échantillons** et pour chaque **population** géographique ou environnementale

- Analyse de la structure des populations : **STRUCTURE** et **DAPC (R)**



STRUCTURE

- Analyse spatiale de la structure des populations : **sPCA (R)**



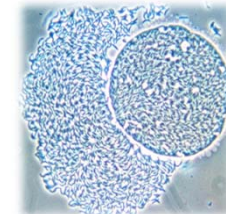
(collaboration avec le LBBE de Lyon)

Caractérisation de la virulence des souches isolées

Eventuelles apparitions de nouveaux génotypes liées
au brassage génétique/recombinaison

Virulence de ces génotypes?

=> **Essai de pathogénicité sur souris**



crédit photo Dardé

Inoculation à
l'isolement

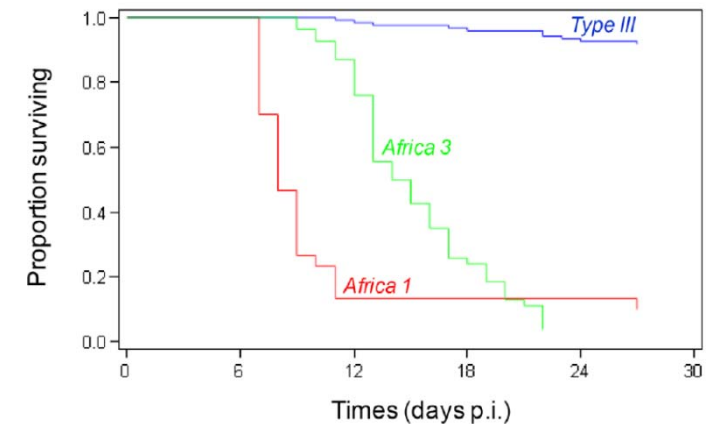


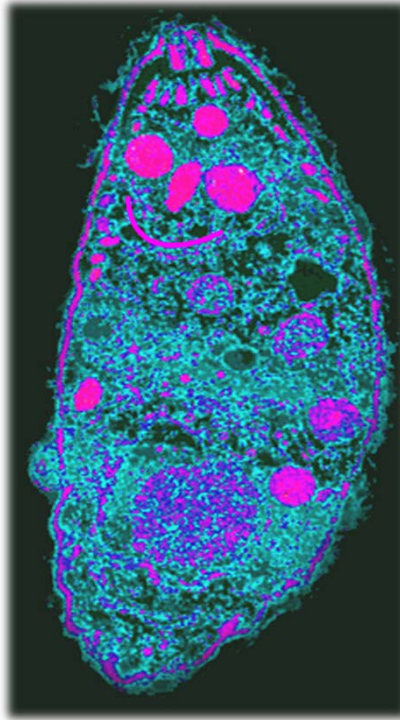
Figure 4. Proportion of surviving mice infected with *T. gondii* haplogroups.

Mercier *et al.*, 2010

Comparer génotypes isolées aux génotypes de *T. gondii* infectants
humains au Sénégal :

Intérêt pour évaluation des **risques en santé humaine**

Merci de votre attention !



by AJ Cann