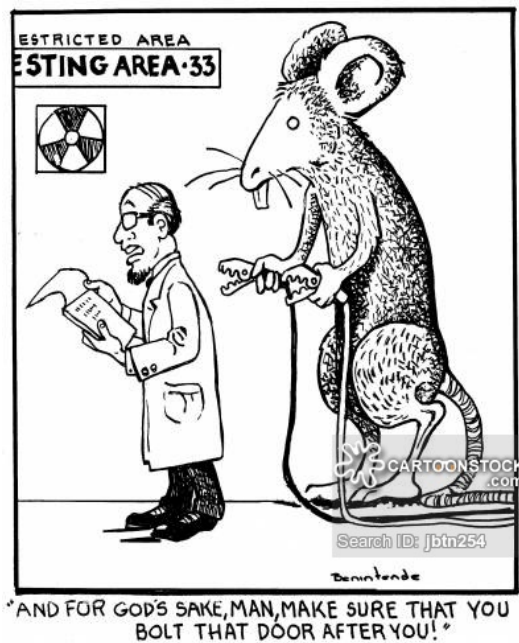


Capture de *Rattus* à Marseille : utopie ou réalité ?





DERNIÈRES AVANCÉES DU PROJET INTROTOX

Phénomènes d'introggression dans la diversité génétique du toxoplasme entre la France et l'Afrique de l'Ouest et Centrale :
des influences humaines et environnementales



Objectifs



Objectif principal étudier l'influence humaine sous diverses formes (commerce maritime, modification de l'environnement etc.) et environnementale (oiseaux migrateurs etc.) sur la structuration des populations du toxoplasme et leur impact sur son épidémiologie



- Caractériser les possibilités d'introgression de génotypes d'une origine géographique à l'autre
 - 1) isolement du parasite à partir des réservoirs
 - 2) Caractérisation des génotypes des parasite isolés
- Analyser les échanges génétiques et la persistance de certains gènes dans ces zones
 - Données microsatellites / Séquençage / NGS
- Caractériser la virulence des souches au isolement dans les régions d'études

Le projet IntroTox

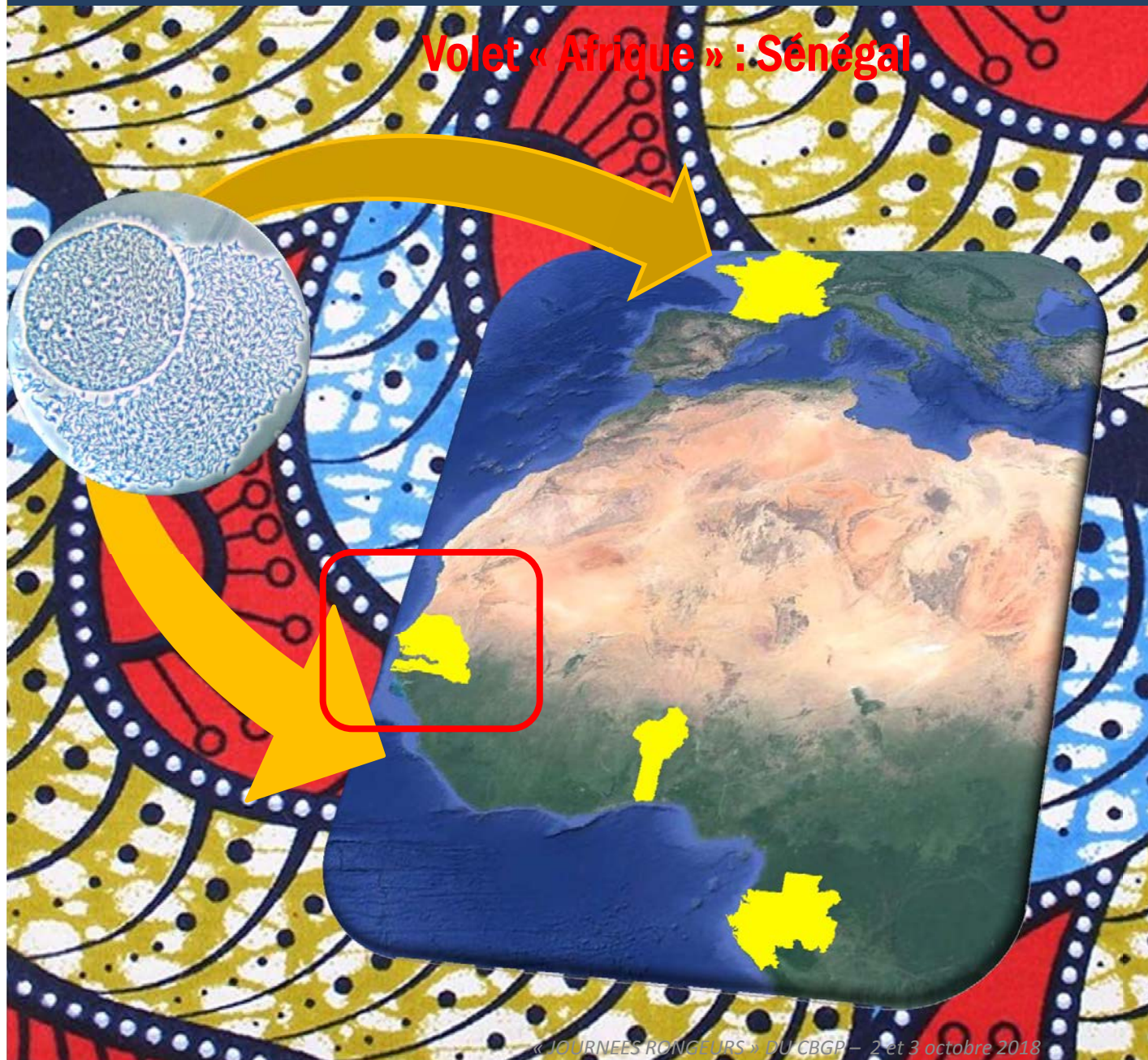
Volet « Afrique » : Sénégal, Bénin et Gabon + Côte d'Ivoire



Le projet Introtox aujourd'hui



Volet « Afrique » : Sénégal







Conséquences des invasions de rongeurs liées aux activités humaines sur l'épidémiologie et la structure des populations de *Toxoplasma gondii* : l'exemple du Sénégal

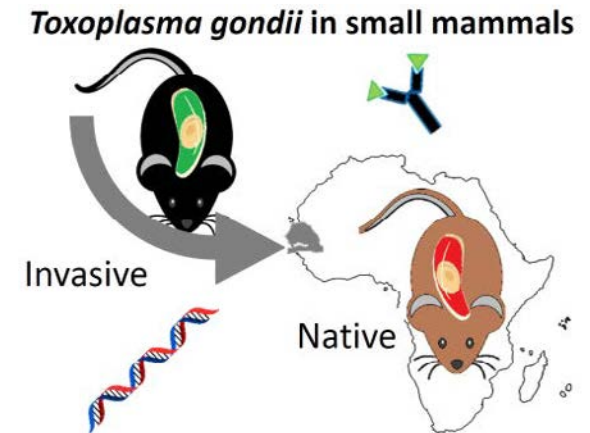
12 octobre 2018

Lokman GALAL

Thèse dirigée par Aurélien Mercier et Daniel Ajzenberg



- Galal L, Schares G, **Stragier C**, Vignoles P, **Brouat C**, Cuny T, Dubois C, Rohart T, Glodas C, Dardé ML, **Kane M**, **Niang Y**, **Diallo M**, **Sow A**, Aubert D, Hamidović A, Ajzenberg D, Mercier A. *Toxoplasma gondii* in small mammals from Senegal: Prevalence, genetic characterization and performance evaluation of serological detection. **Under revision** in *International Journal for Parasitology*.

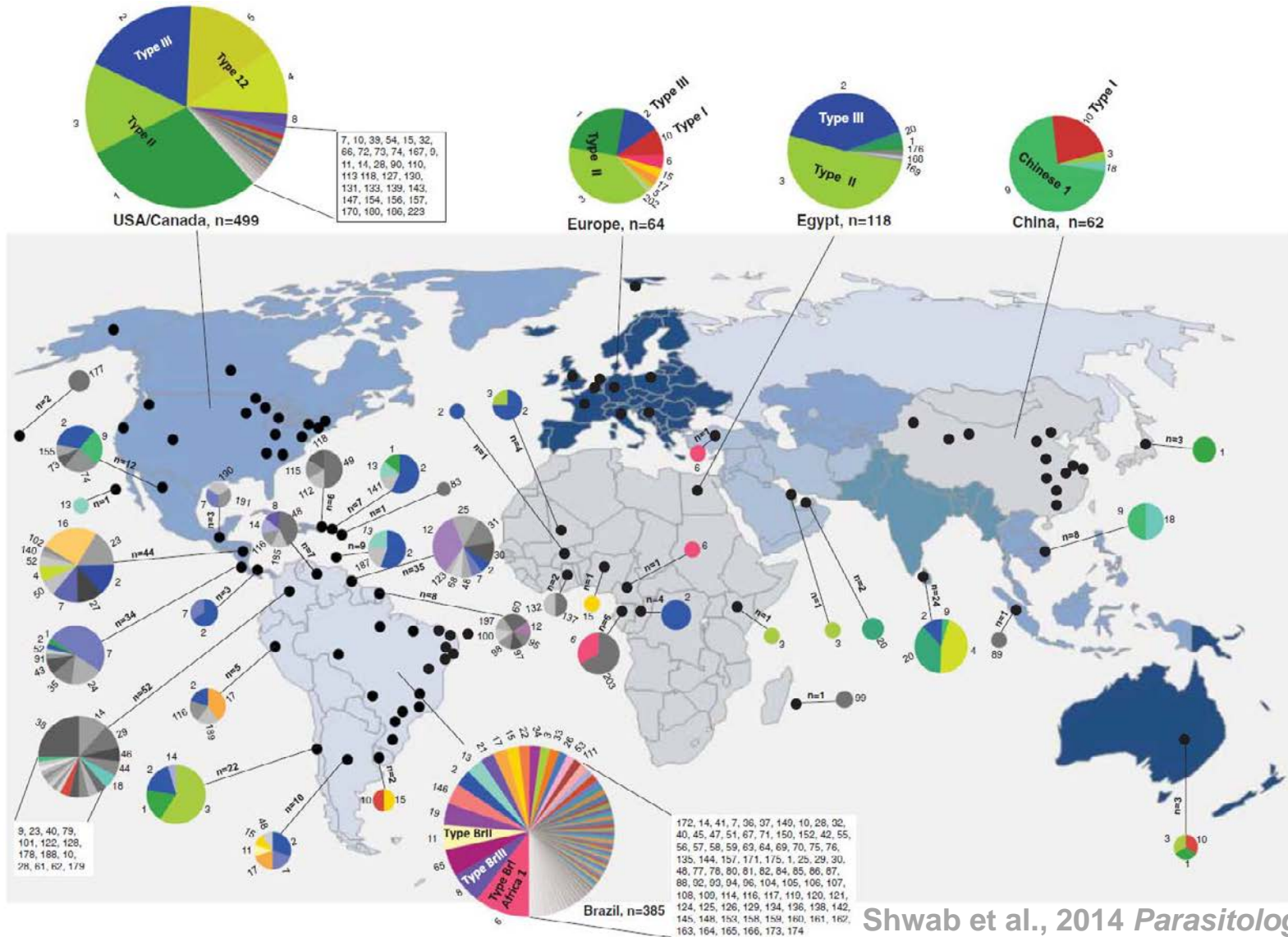


IJP

INTERNATIONAL JOURNAL FOR PARASITOLOGY

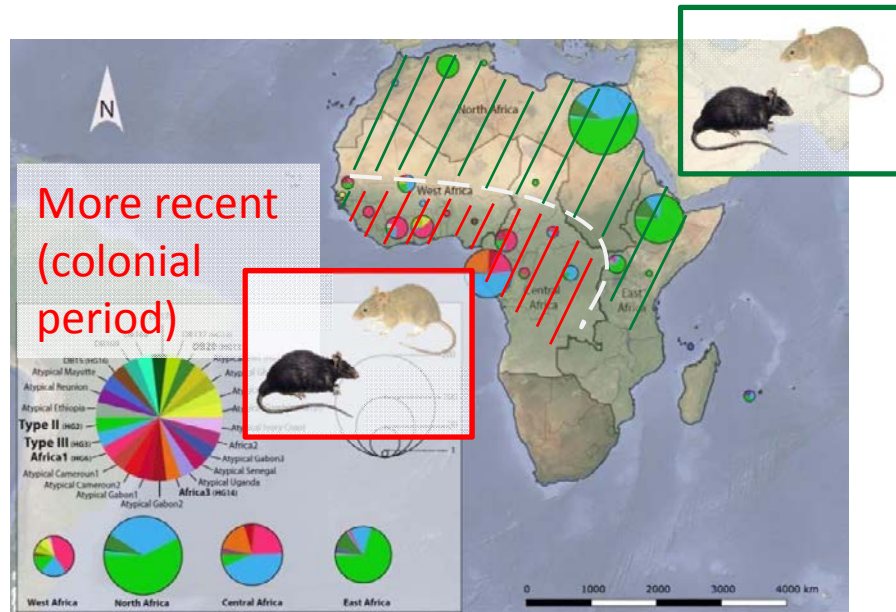
- Galal L, Sarr A, Cuny T, **Brouat C**, Sembène M, Diagne M, **Diallo M**, **Sow A**, Hamidović A, Plault N, Dardé ML, Ajzenberg D, and Mercier A. Role of maritime trade, livestock transhumance, and host specialisation in shaping *Toxoplasma gondii* population structure: the example of Senegal. **In submission**.

Thèse Lokman : Geographical distribution of *Toxoplasma gondii* genotypes



Shwab et al., 2014 *Parasitology*

Thèse Lokman : Conclusions and perspectives



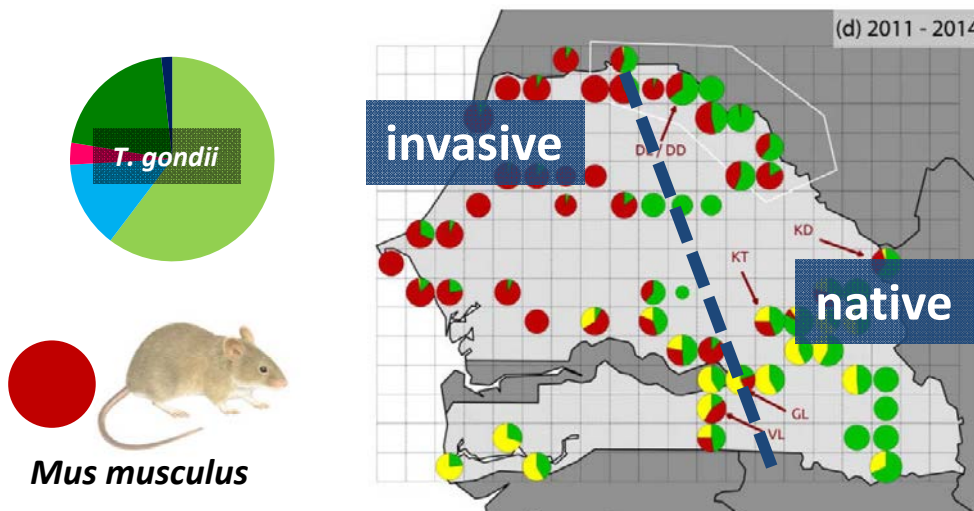
Ancient occurrence



Invasive
=> Susceptible to autochthonous *T. gondii* strains



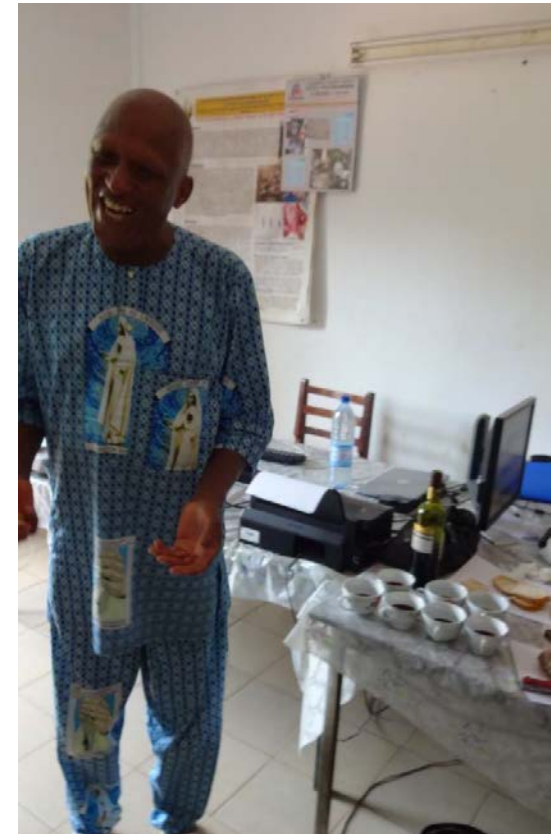
Native
=> Resistant to autochthonous *T. gondii* strains



Le projet Introtox aujourd'hui

Volet « Afrique » : Bénin





« JOURNEES RONGEURS » DU CBGP – 2 et 3 octobre 2018

Mission au Bénin



- Sites potentiels

Parc National de la Pendjari



Parakou



EPAC
Gauthier DOBIGNY
Gualbert HOMENOU



FSS-LEMACEN
Dismand HOUINATO
Hélène ROBIN

Lacs Ahémé et Toho

Quidah

Cotonou



Mission au Bénin



- Sites potentiels

Parc National de la Pendjari



Parakou



Premiers échantillons de 120 rongeurs disponibles (Port de Cotonou)

Sérobuvaris

- Organes cibles (cœur et cerveaux)

Lacs Ahémé et Toho



Quidah

Cotonou



EPAC

Gauthier DOBIGNY

Gualbert HOUEMENOÛ



FSS-LEMACEN

Dismand HOUINATO

Helène ROBIN

Prochaine mission au Bénin



Prélèvements déjà disponibles (Port de Cotonou)

- 120 individus : échantillons de cœurs, cerveaux et sérobuvars correspondants





Sérologie

- 1 échantillon positif
- 14 équivoques
- 105 négatifs

Analyses génétiques (PCR)

- 1 échantillon Ct < 31
- 1 échantillon Ct < 36
- 18 échantillons Ct > 37
- 100 échantillons négatifs

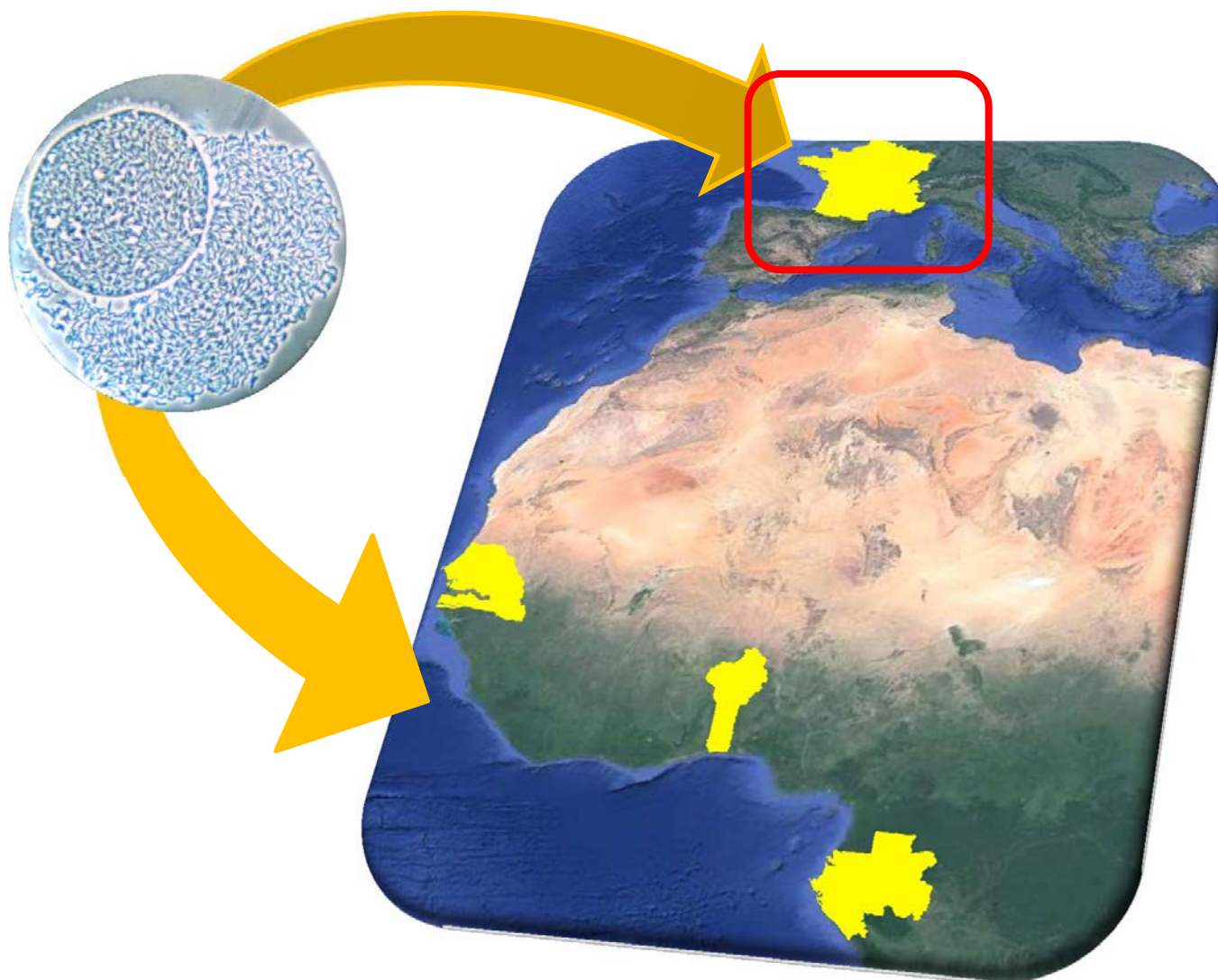
- 1 génotype presque complet (13/15) : **Africa 1** proche souche Brasil
- qPCR sur cœurs
- Échantillons des quartiers

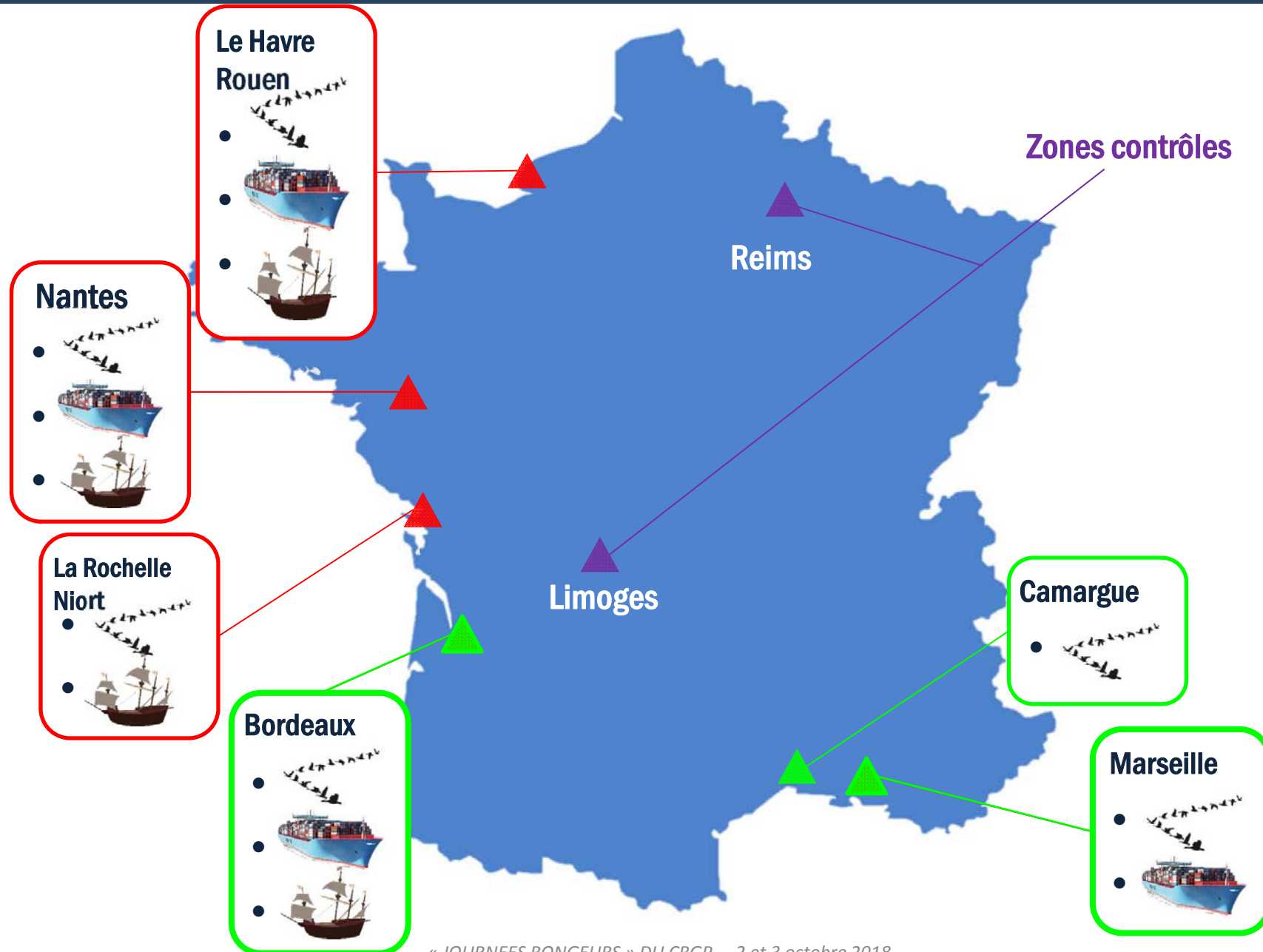
Le projet Introtox aujourd'hui

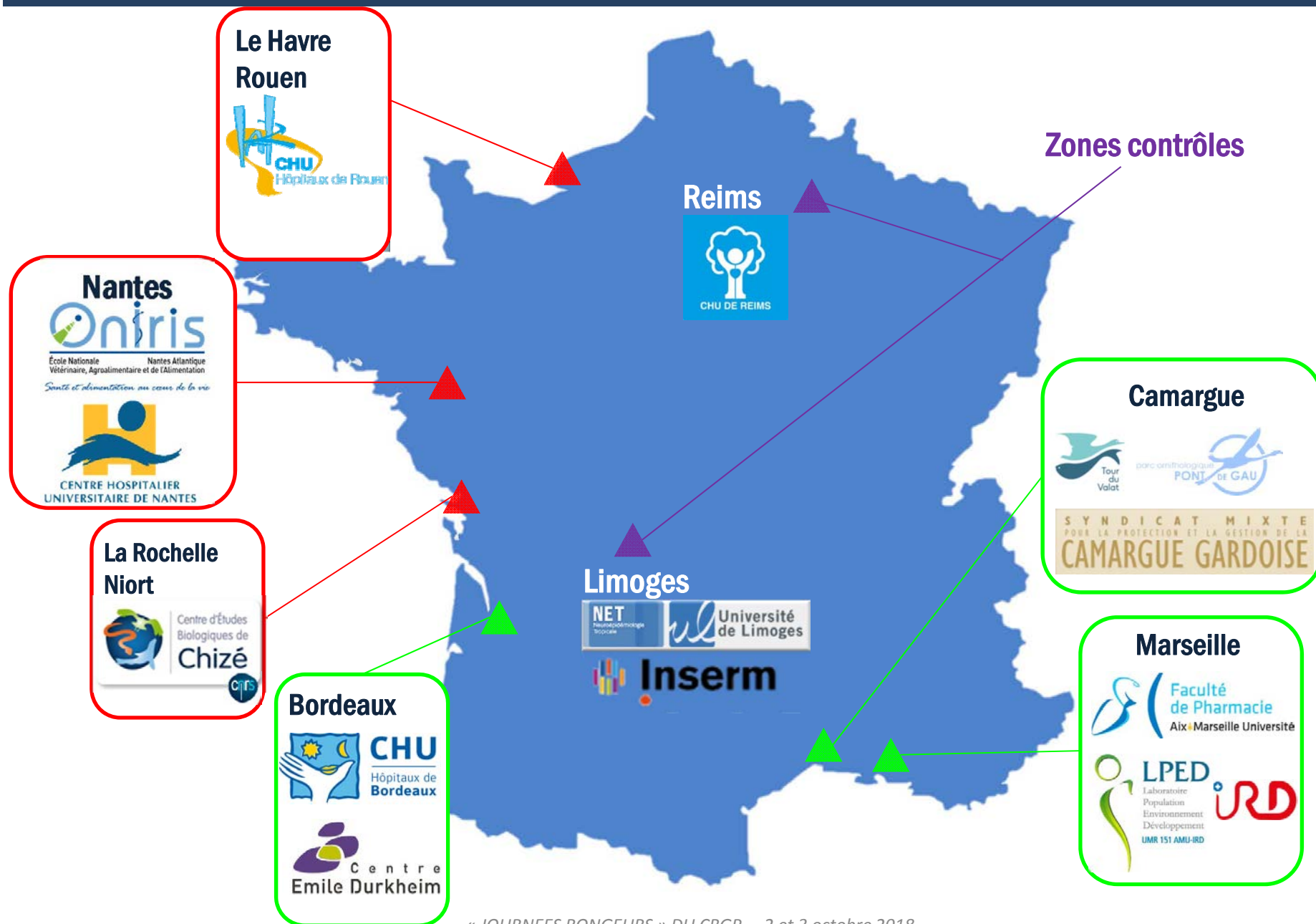
Volet « Afrique » : Gabon



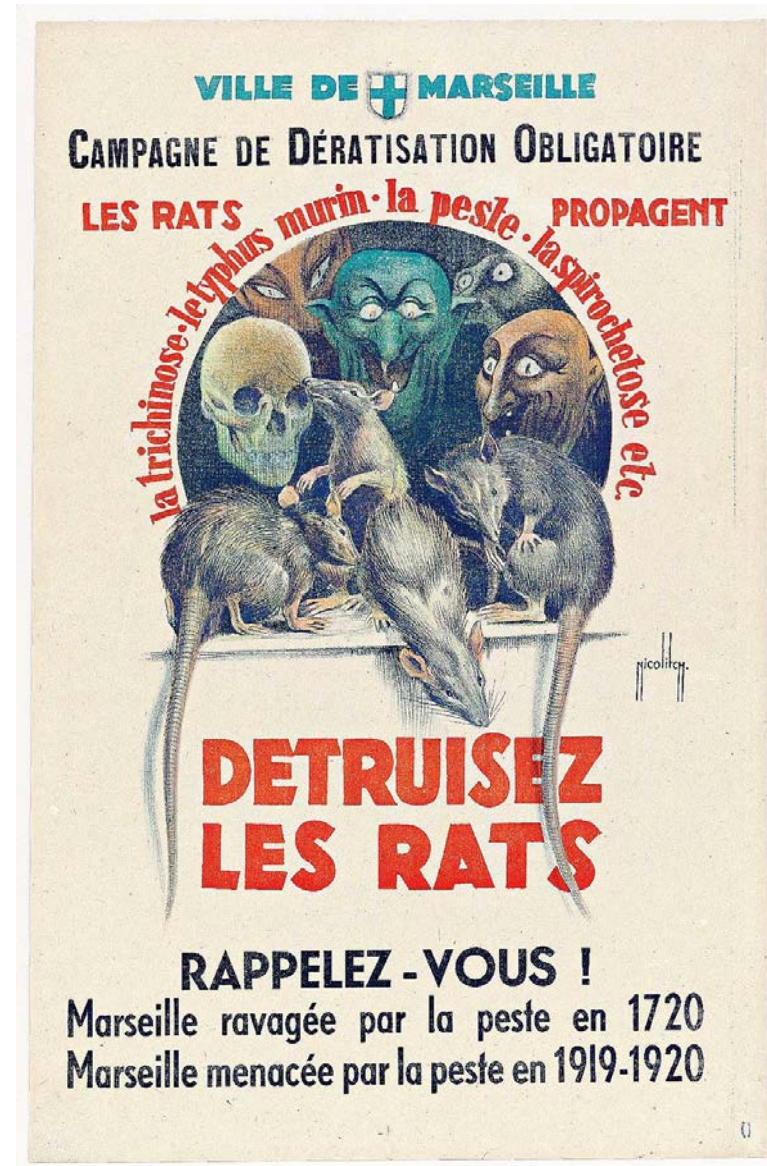
Volet « France »







Capture de Rattus à Marseille : utopie ou réalité ?



Questions scientifiques



Projet ANR IntroTox :

isolement de souche de toxoplasme, génotypage...

Dans un contexte d'importation ou d'exportation de souche passé ou actuelle

Ouverture vers d'autres problématiques ?

- Communauté de rongeurs
- Rongeurs invasifs,
- Anticoagulant,
- Antibiorésistances,
- Réservoir de pathogènes,
- Dératisation ?
- ...



Qui m'aime me suive !!!

Faisabilité

▪ Contexte Marseillais

- ✓ Mairie de Marseille « semblerait » favorable : à vérifier / délais
- ✓ LPED : depuis 2012

Observatoire pluridisciplinaire de l'environnement urbain à Marseille (OPEU).



Parc urbain des papillons Marseille

✓ Problèmes :

- risque de vol ou de dégradations des pièges (parcs fermés ou particuliers)
- difficulté de capture des *Rattus sp.* (« coup de sonde »)



RESEARCH ARTICLE

Population genetics, community of parasites, and resistance to rodenticides in an urban brown rat (*Rattus norvegicus*) population

Amélie Desvars-Larrive¹, Michel Pascal^{2,1}, Patrick Gasqui³, Jean-François Cosson^{4,5}, Etienne Benoît⁶, Virginie Lattard⁶, Laurent Crespin⁷, Olivier Lorvelec², Benoît Pisanu⁷, Alexandre Teynié³, Muriel Vayssier-Tausat⁴, Sarah Bonnet⁴, Philippe Marianneau⁸, Sandra Lacôte⁸, Pascale Bourhy⁹, Philippe Bérmy⁶, Nicole Pavio¹⁰, Sophie Le Poder¹⁰, Emmanuelle Gilot-Fromont¹¹, Elsa Jourdain³, Abdesslem Hammed⁶, Isabelle Fouret⁶, Farid Chikh¹², Gwenaél Yourc'h^{3*}

OPEU : 55 parcs dans Marseille



Faisabilité

- **Quand ?**

Premier coup de sonde dans les 2 ans qui viennent...

- **Qui / Comment ?**

UMR Inserm 1094 NET
LPED
CBGP ?

...

- **Avec quels sous ?**

ANR IntroTox 
Piège grillagé du CBGP
Main d'œuvre ...



Discutons-en...



Remerciements



Centre de Biologie pour la Gestion des Populations

UMR IRD-INRA-Cirad-SupAgro / BIOPASS

Mbacké SEMBENE
Khalilou BA
Carine BROUAT
Mamoudou DIALLO
Jean-Marc DUPLANTIER
Laurent GRANJON
Mamadou KANE
Nathalie SARR
Aliou SOW
Claire STRAGIER
Youssoupha NIANG



Laboratoire Population Environnement Développement LPED
Ambroise DALECKY
Jean-François MAUFFREY



Institut Pasteur de Dakar
André SPIEGEL
Amadou SALL
Amy GASSAMA
Mr SAMATHEY



IRD au Sénégal
Laurent VIDAL
Cécile Giorgi-Mesquida

Laboratoire commun de microbiologie LCM

Saliou FALL
Sergio SVISTOONOFF
Maïmouna CISSOKO
Sarah PIGNOLY



Université Gaston Berger (UGB)
Mariama SENE



Faculté de Médecine de Dakar

Jean-Louis NDIAYE
Babacar FAYE
Fatou COULIBALY



Université Cheikh-Anta-Diop (UCAD)
Moustapha DIAGNE



FSS-LEMACE

Dismand HOUINATO
Hélène ROBIN



CHU Reims UMR Protal
Isabelle VILLENA



EPAC

Gauthier DOBIGNY
Gualbert HOUEMENOU



Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation

Patrick BOURDEAU



Service de parasitologie

Laurence DELHAES



Centre d'Etudes Biologiques de Chizé

Vincent BRETAGNOLLE



Tour du Valat

Marion VITTECOQ
Thomas BLANCHON



Camargue Gardoise

Jérémy PETIT
Rémy TINE



UMR MD3 Parasitologie

Aurélien DUMETRE



Service de Parasitologie UMR Protal

Loïc FAVENNEC

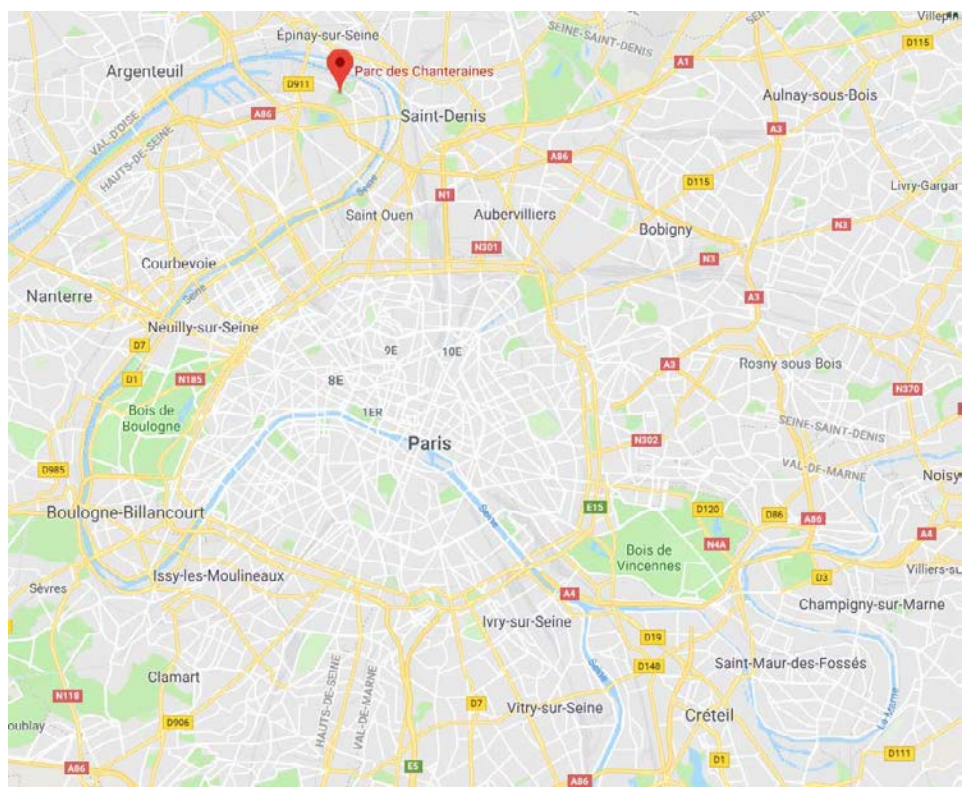
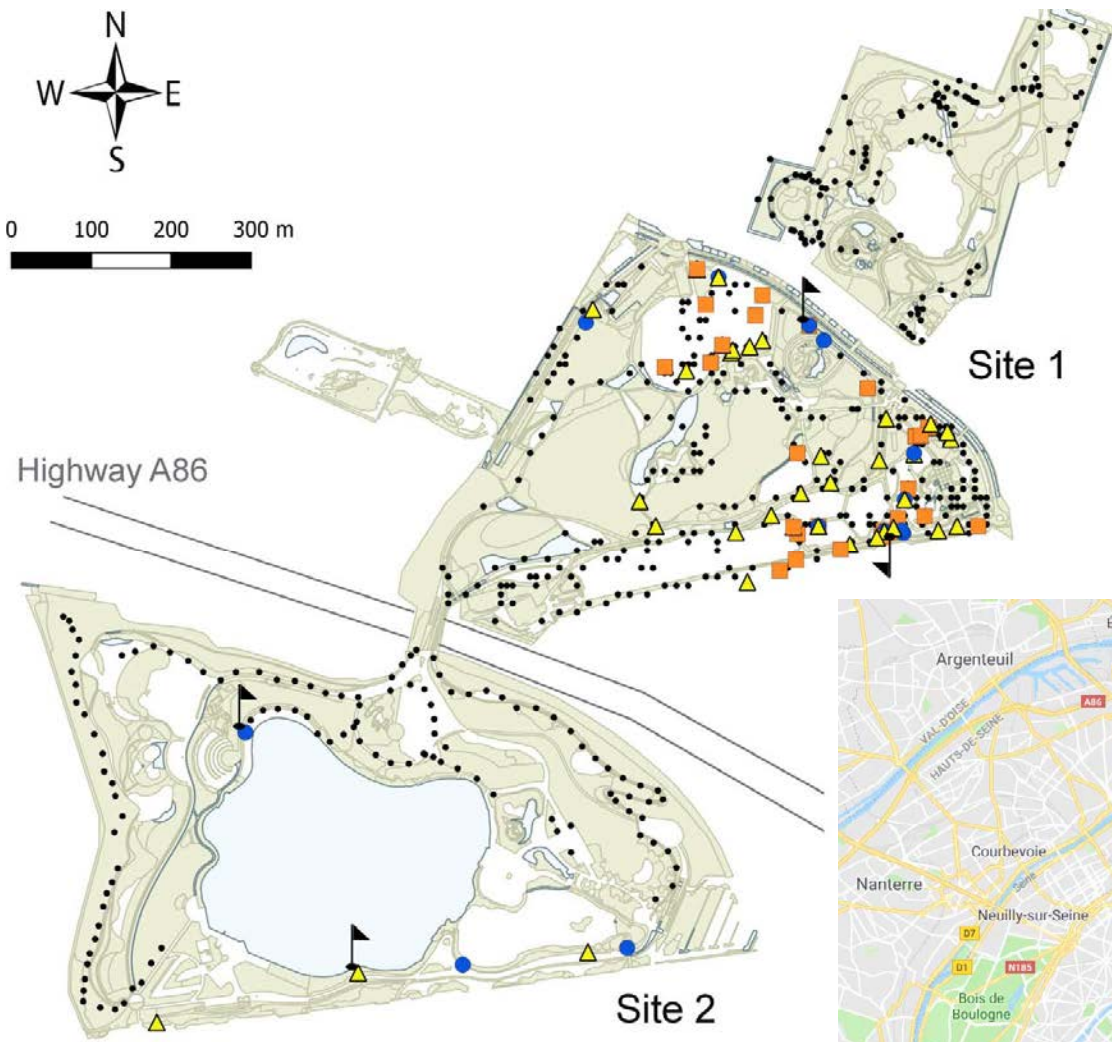
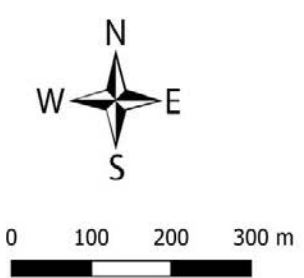


Centre Emile Durkheim

Charlotte BRIVES



Merci de votre attention



<https://www.youtube.com/watch?v=qrdYFYIPimY>

<https://www.youtube.com/watch?v=mN1f1CCZRHE>

<https://www.youtube.com/watch?v=ayISnAkePjk>
<https://www.laprovence.com/actu/en-direct/4630422/le-1818-marseille-les-rats-un-fleau-de-plus-en-plus-visible.html>

Dakar : zones d'échantillonnage et prévalence

- 11 quartiers échantillonnés
- Effectifs et prévalence : 41/211 (19,4%)

↳ 13 isolats aviculents



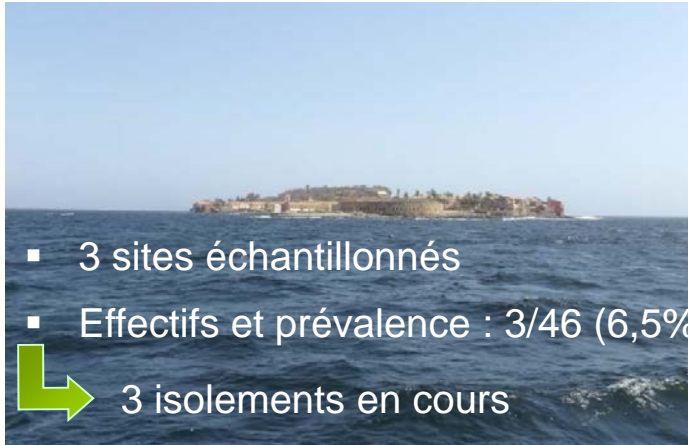
Plateau



5 +ve/8

Grand Dakar

Dakar : île de Goré



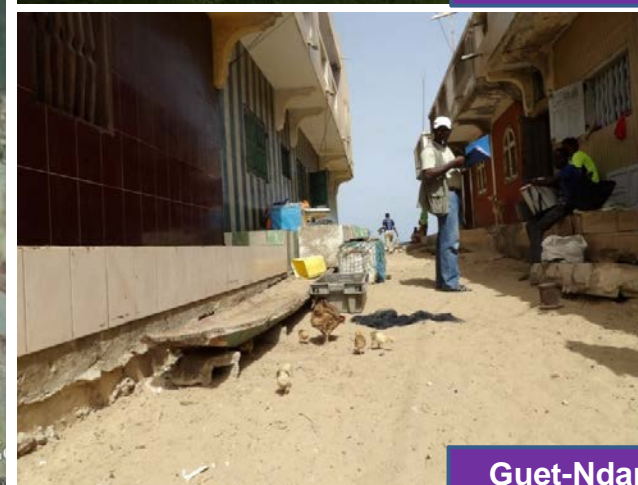
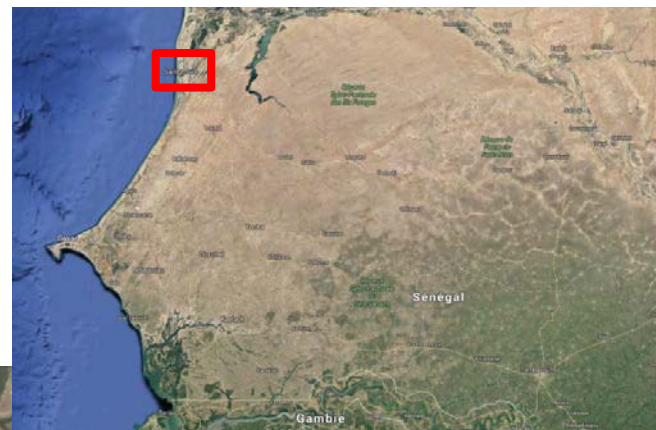
Environs de Dakar : zones d'échantillonnage et prévalence

- 4 quartiers/villages échantillonnés
- Effectifs et prévalence : 19/199 (9,5%)
↳ 8 isolats avirulents + 1 virulent (Tivaouane Peuhl)



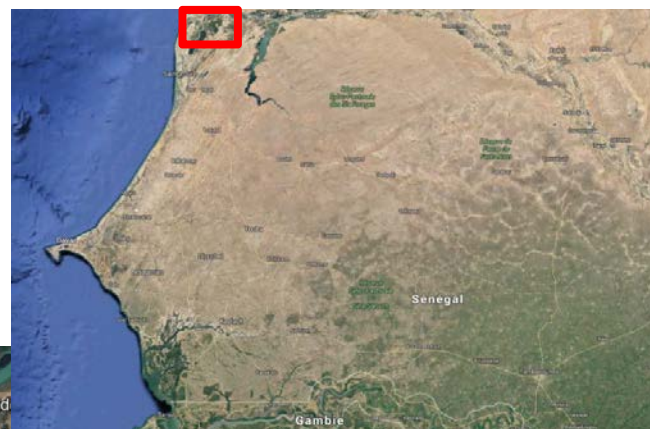
Saint-Louis : zones d'échantillonnage et prévalence

- 7 secteurs/quartiers échantillonnés (Sor, Ile de Ndar & Guet-Ndar)
- Effectifs et prévalence : 56/396 (14,1%)
 - ↳ 23 isolats avirulents + 1 virulent (Guet-Ndar)

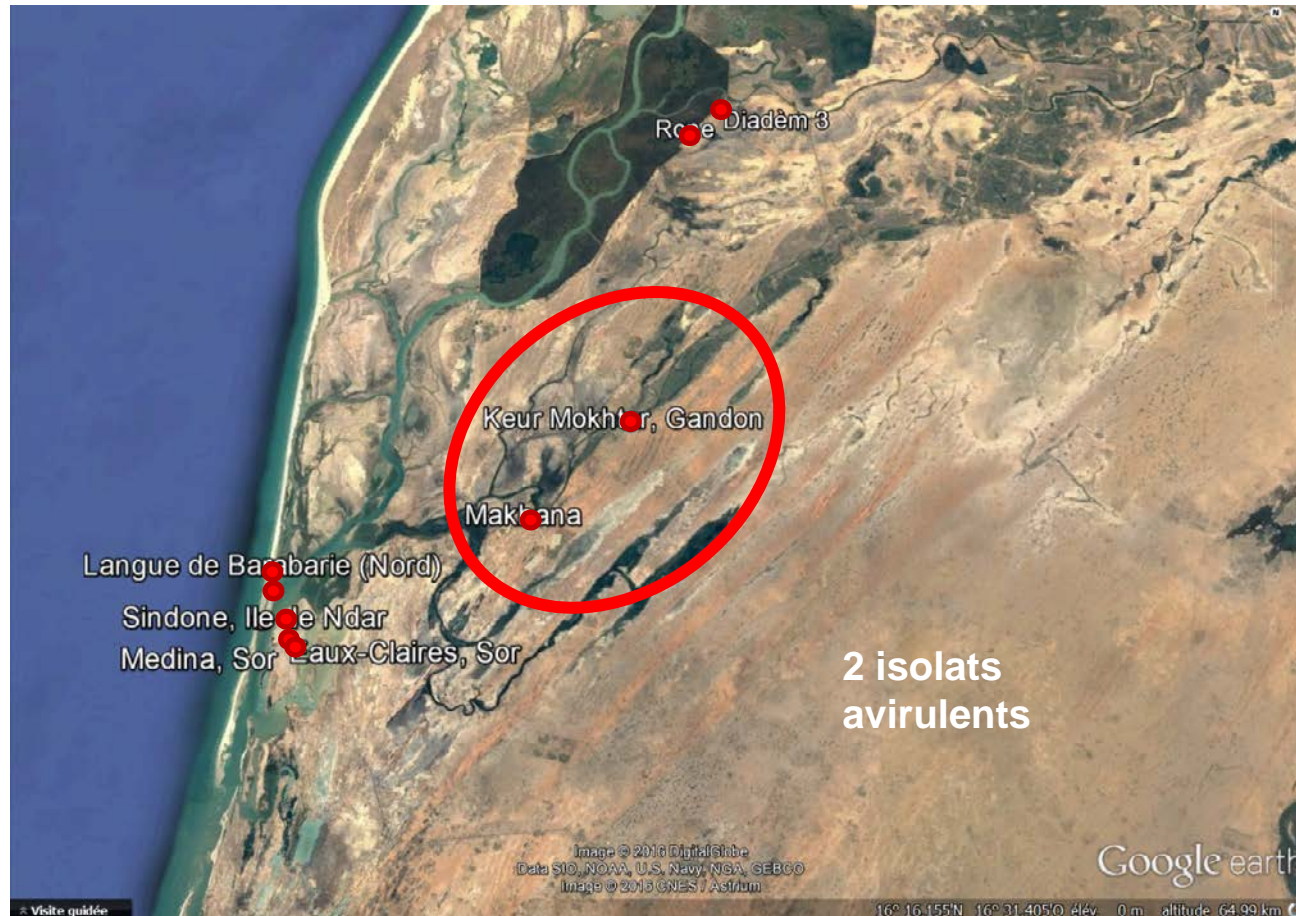


Région du Djoudj : zones d'échantillonnage et prévalence

- 5 villages échantillonnés
 - Effectifs et prévalence : 9/222 (4%)
- ↳ 6 isolats avirulents

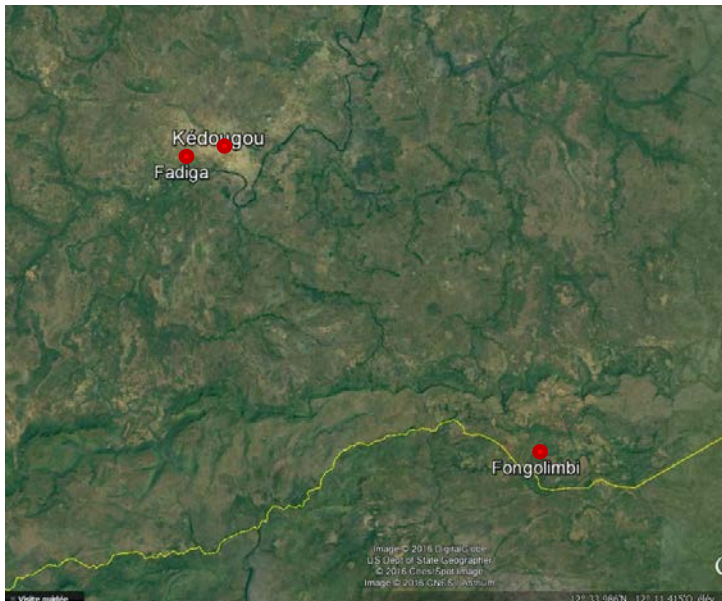


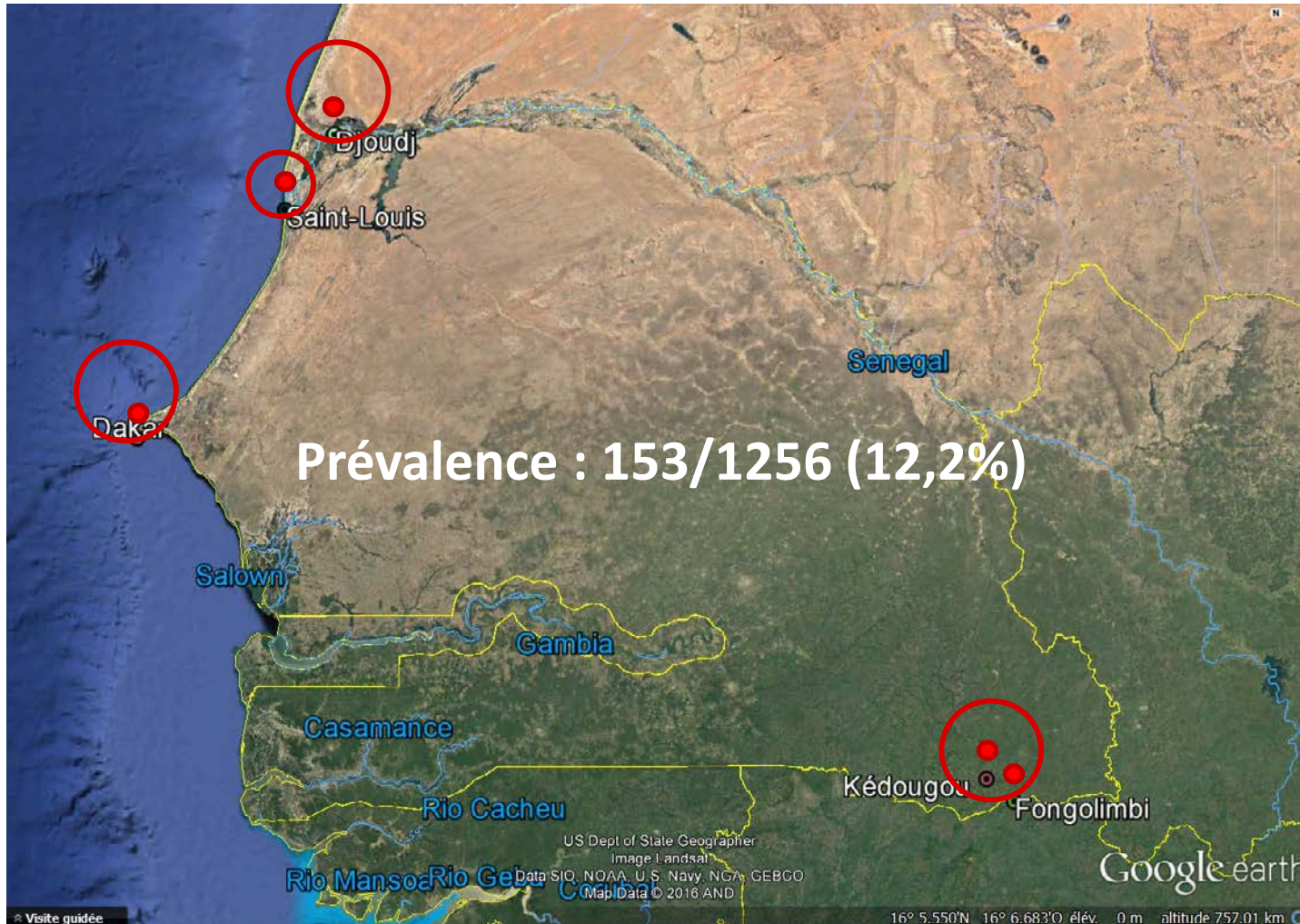
M'barigo (Région de Saint-Louis)



Région de Kédougou : zones d'échantillonnage et prévalence

- Kédougou (ville) : 15/59 (25,4%)
 - Fadiga (2Km de Kédougou) : 4/60 (6,7%)
 - Fongolimbi (40 km de Kédougou) : 4/81 (5%)
- ↳ 1 isolat virulent (ville de Kédougou)

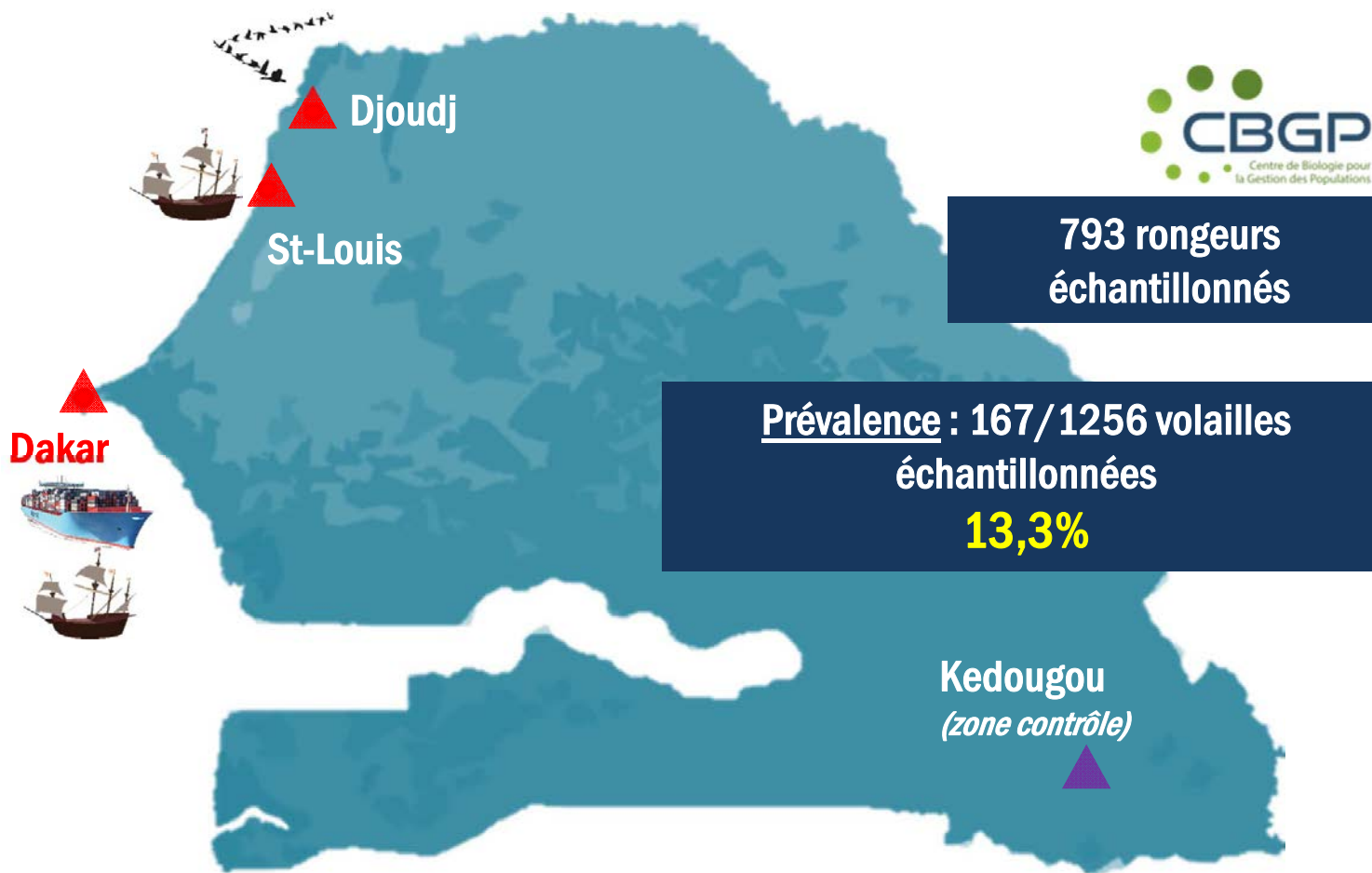




Première mission Sénégal : Mars – Septembre 2016



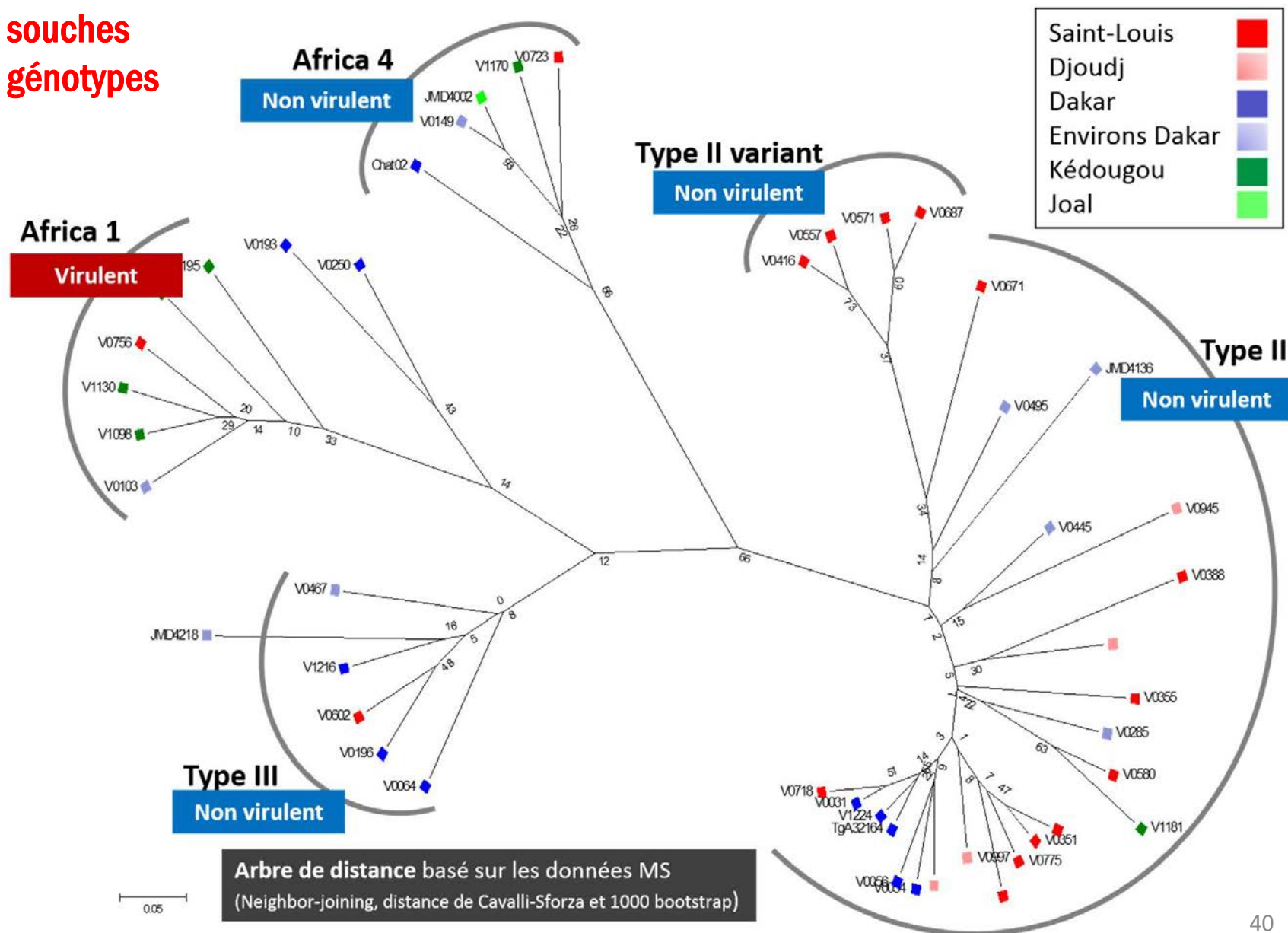
- Résultats : Prévalence et isolement/échantillonnage



Les génotypes de *Toxoplasma gondii* au Sénégal

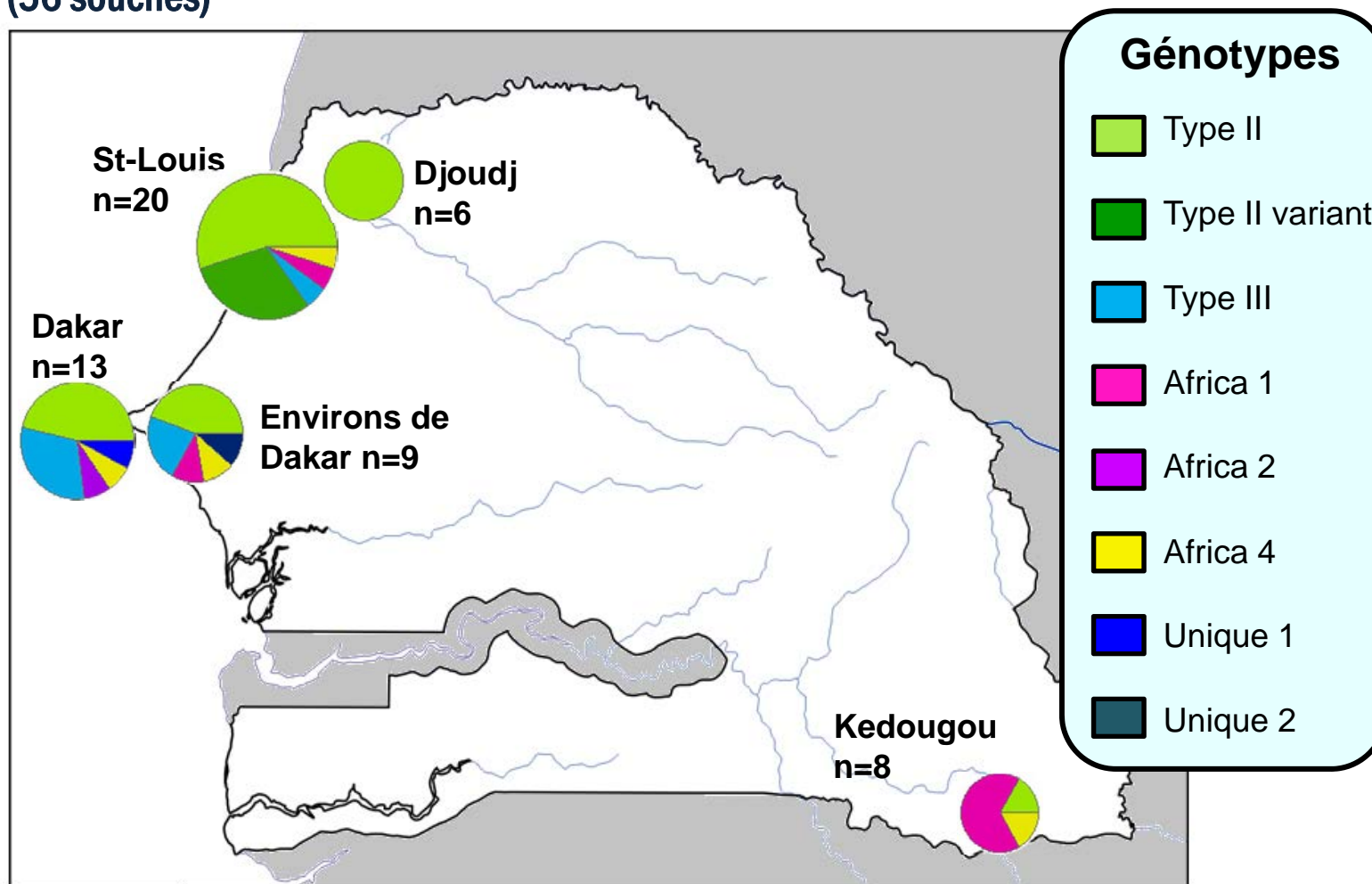


- 56 souches
- 46 génotypes

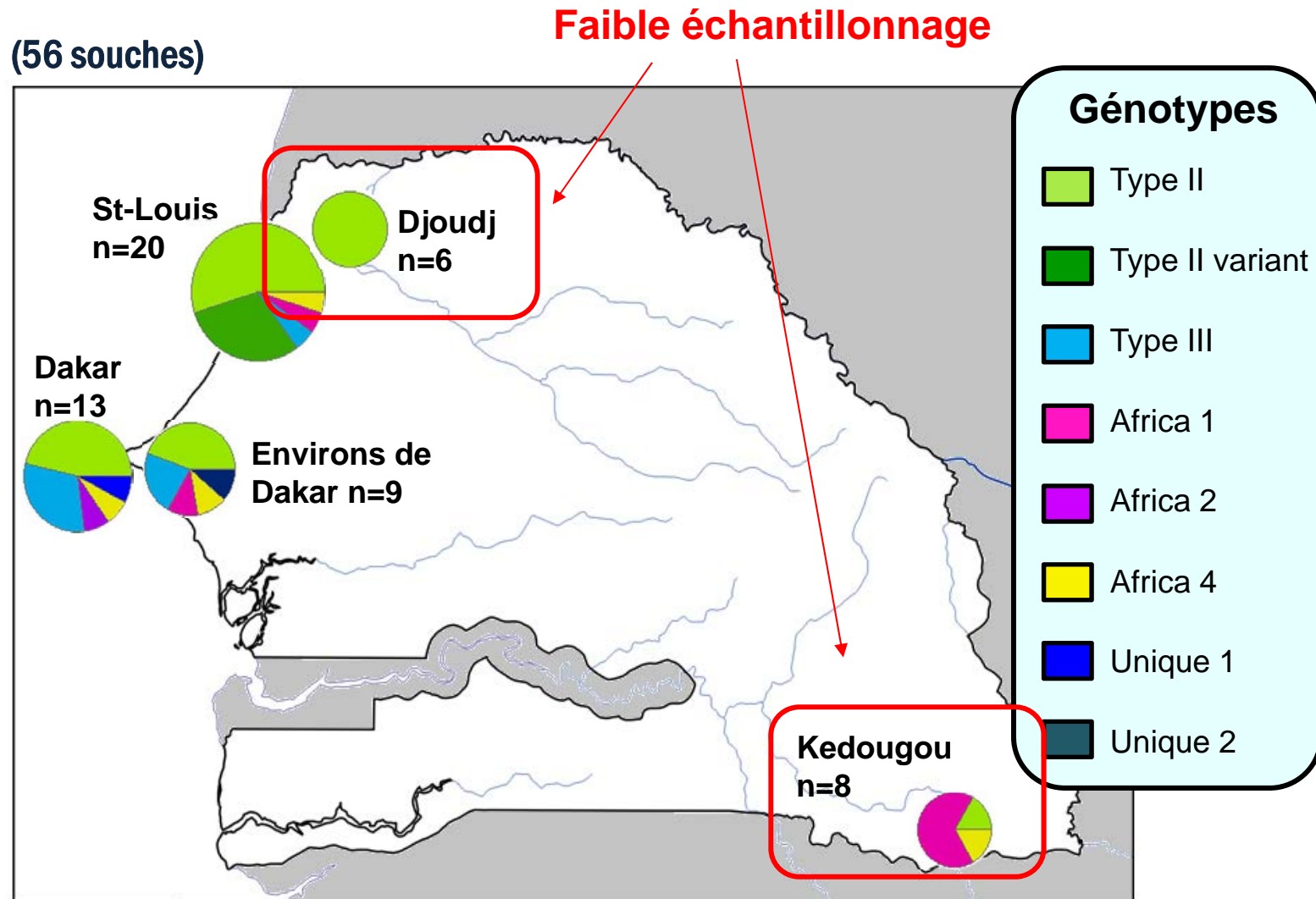


Les génotypes de *Toxoplasma gondii* au Sénégal

(56 souches)

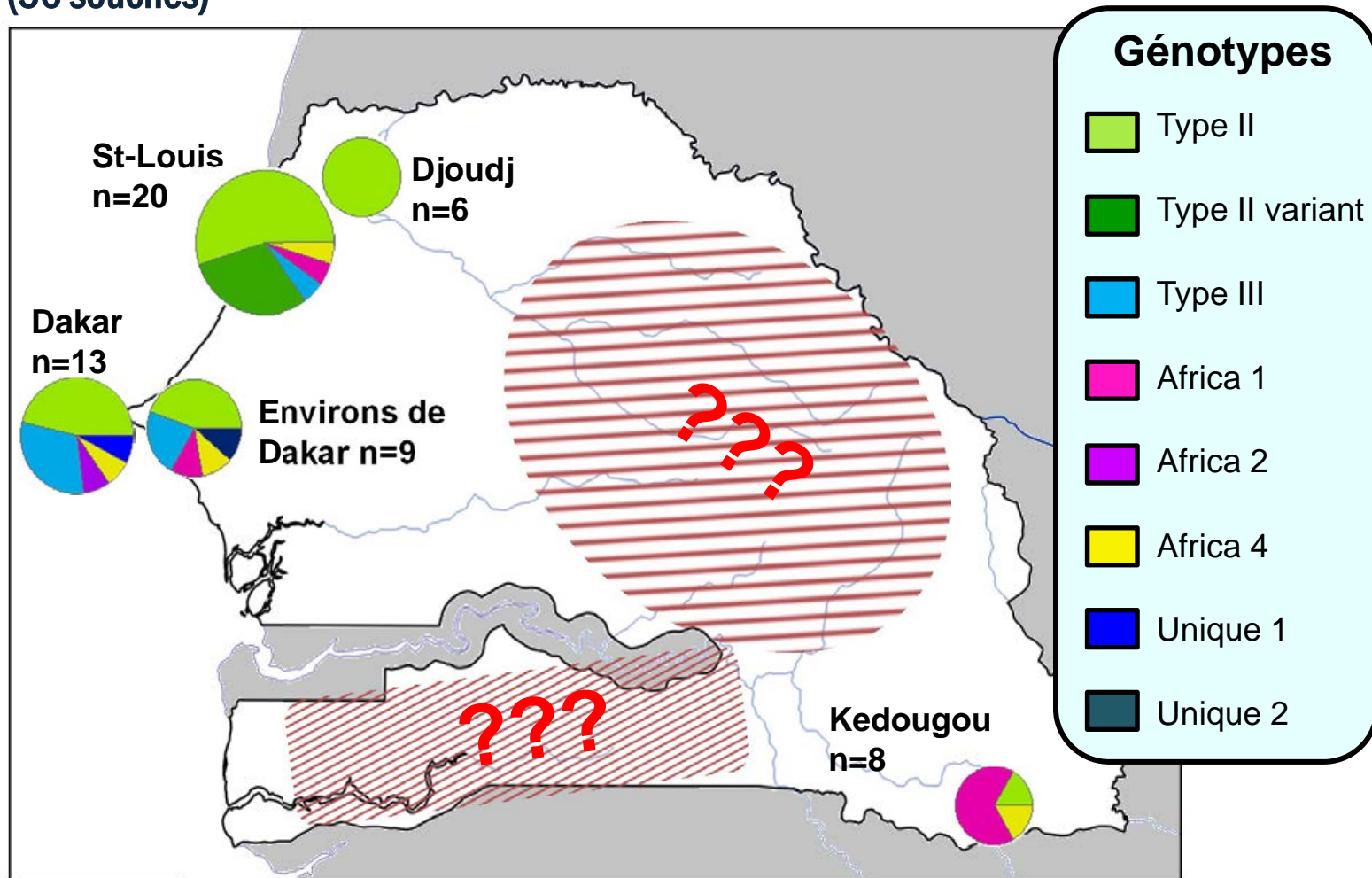


Les génotypes de *Toxoplasma gondii* au Sénégal

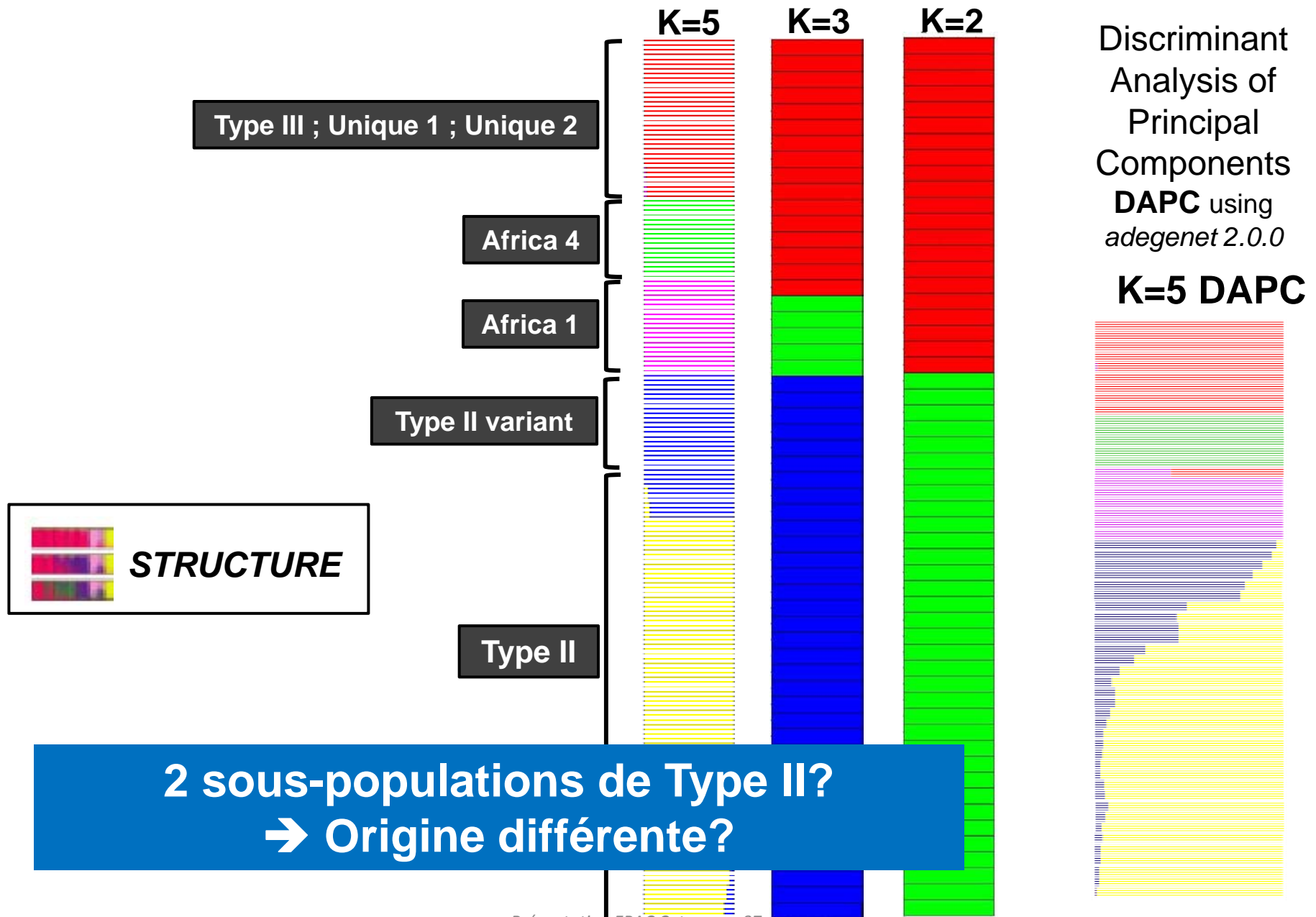


Les génotypes de *Toxoplasma gondii* au Sénégal

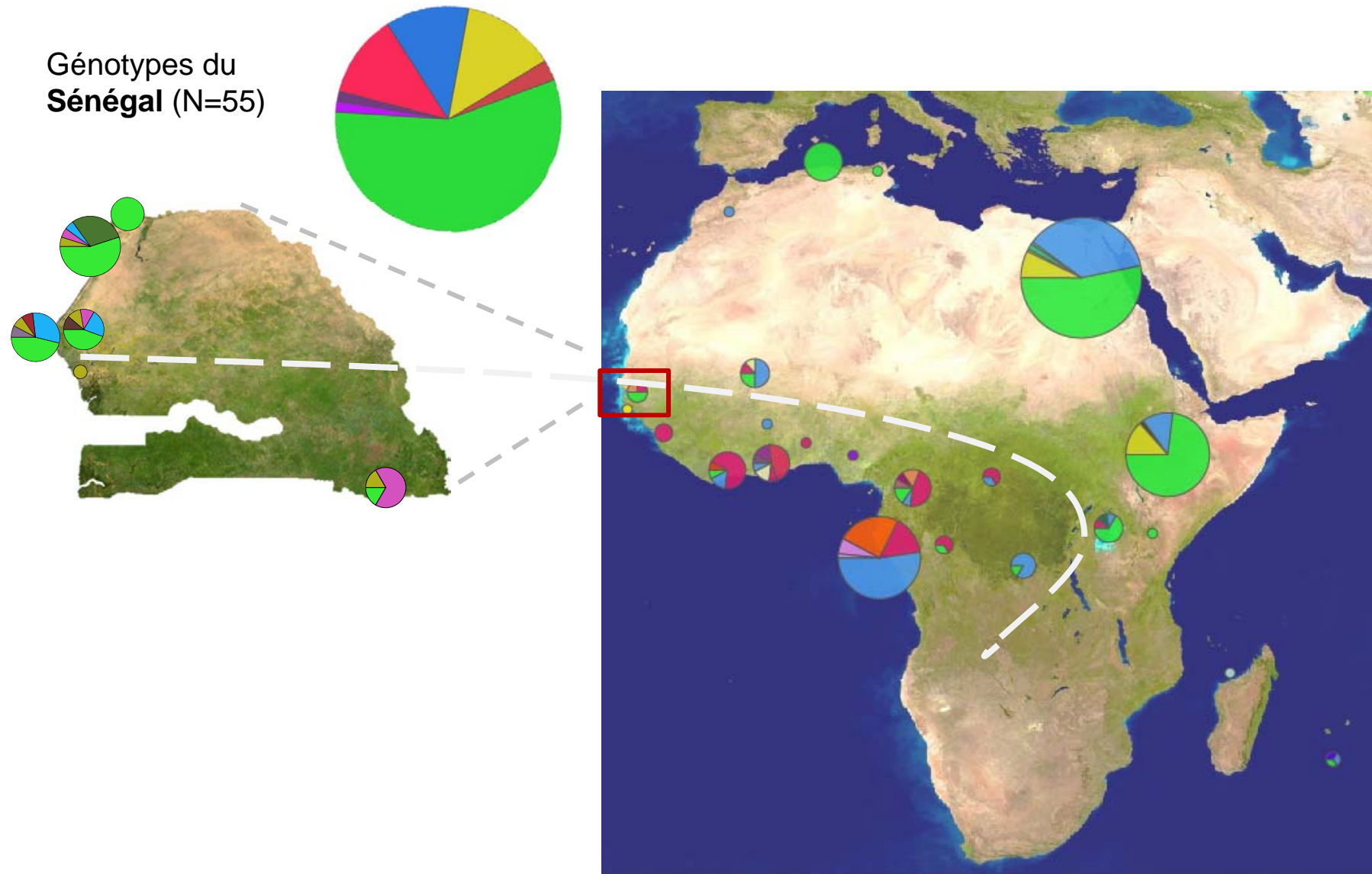
(56 souches)



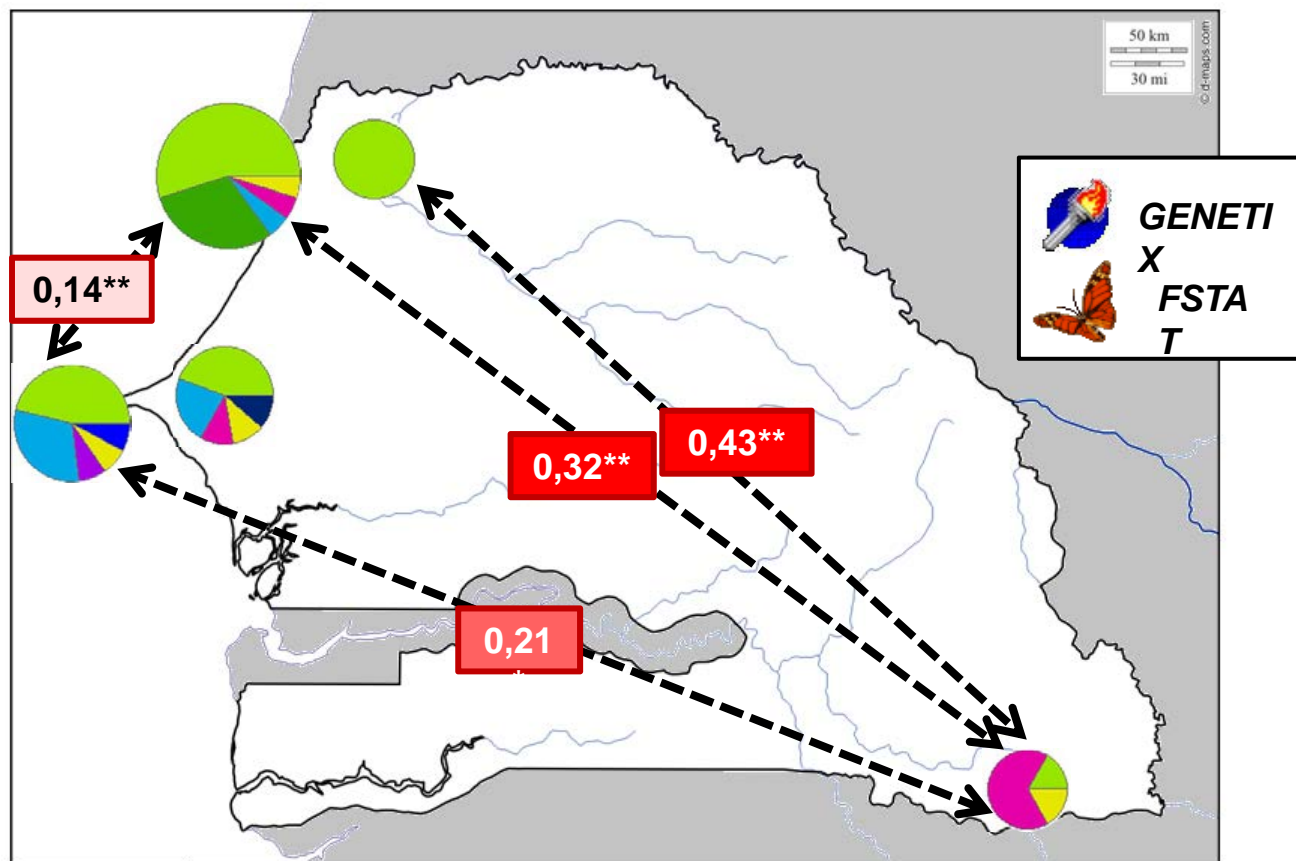
Les génotypes de *Toxoplasma gondii* au Sénégal



Les génotypes de *Toxoplasma gondii* au Sénégal

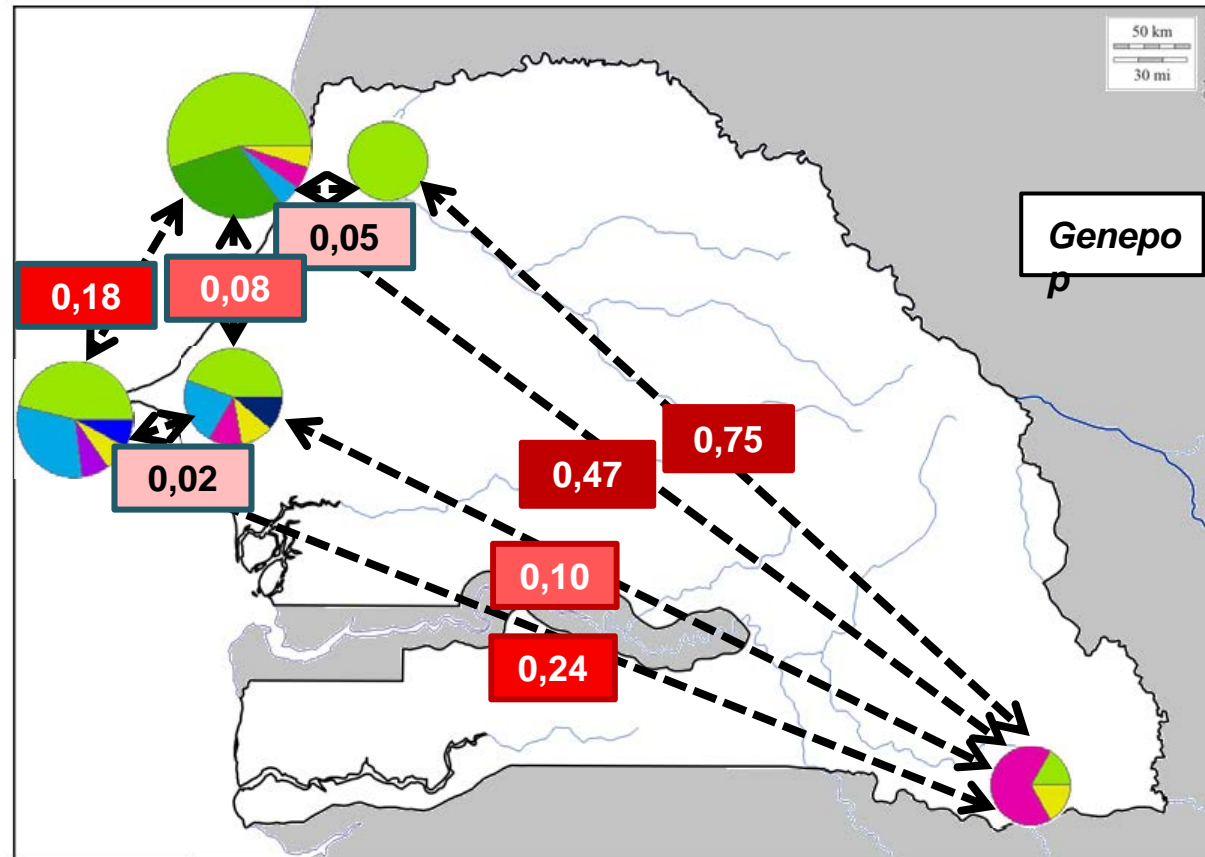


Génétique des populations : Index de fixation (FST)



Présentation EPAC Cotonou – 07 mai 2018

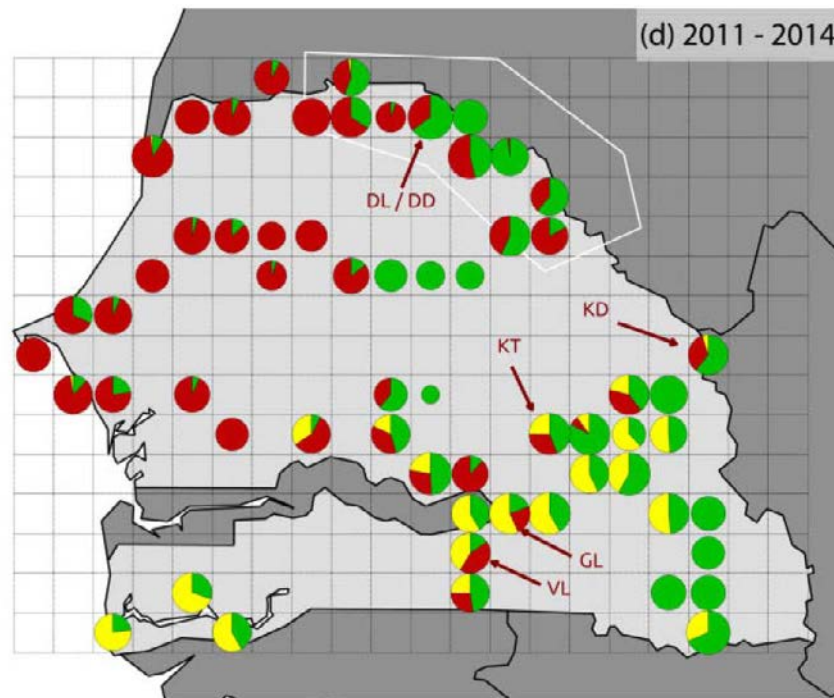
Génétique des populations : Index par la distance (IBD)



Présentation EPAC Cotonou – 07 mai 2018

REVIEW

Range expansion of the invasive house mouse *Mus musculus domesticus* in Senegal, West Africa: a synthesis of trapping data over three decades, 1983–2014



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

XVII^{ème} siècle

XVIII^{ème} siècle

XIX^{ème} siècle

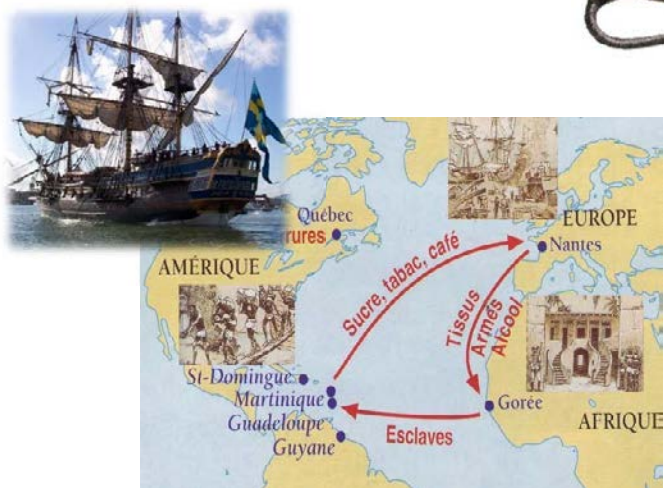
XX^{ème} siècle

Commerce triangulaire

Commerce colonial

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 *R. rattus* et *M. musculus domesticus* en Afrique de l'Ouest à partir de 1659 (Konecny *et al.*, 2013 et Dalecky *et al.*, 2015) : date de fondation du port de Saint-Louis, Sénégal (Sinou, 1981)



Voilier breton, 1900



Port de Dakar, Sénégal (fondé en 1866)

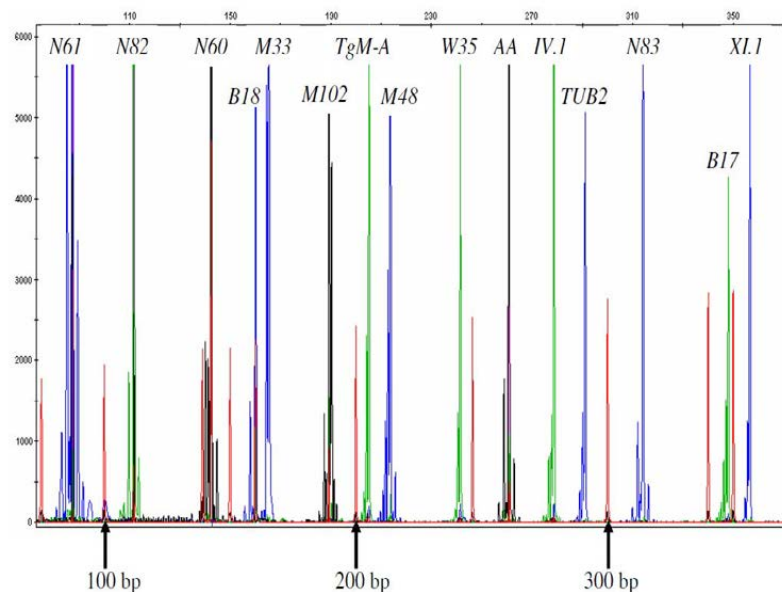
Traite Négrière française (1670-1864)

Analyse des échanges génétiques entre les zones d'études

Génotypage :

15 marqueurs microsatellites

- Analyse de la diversité génétique
 - Etude de la structure des populations
- => échanges génétiques ?



Ajzenberg *et al.*, 2010

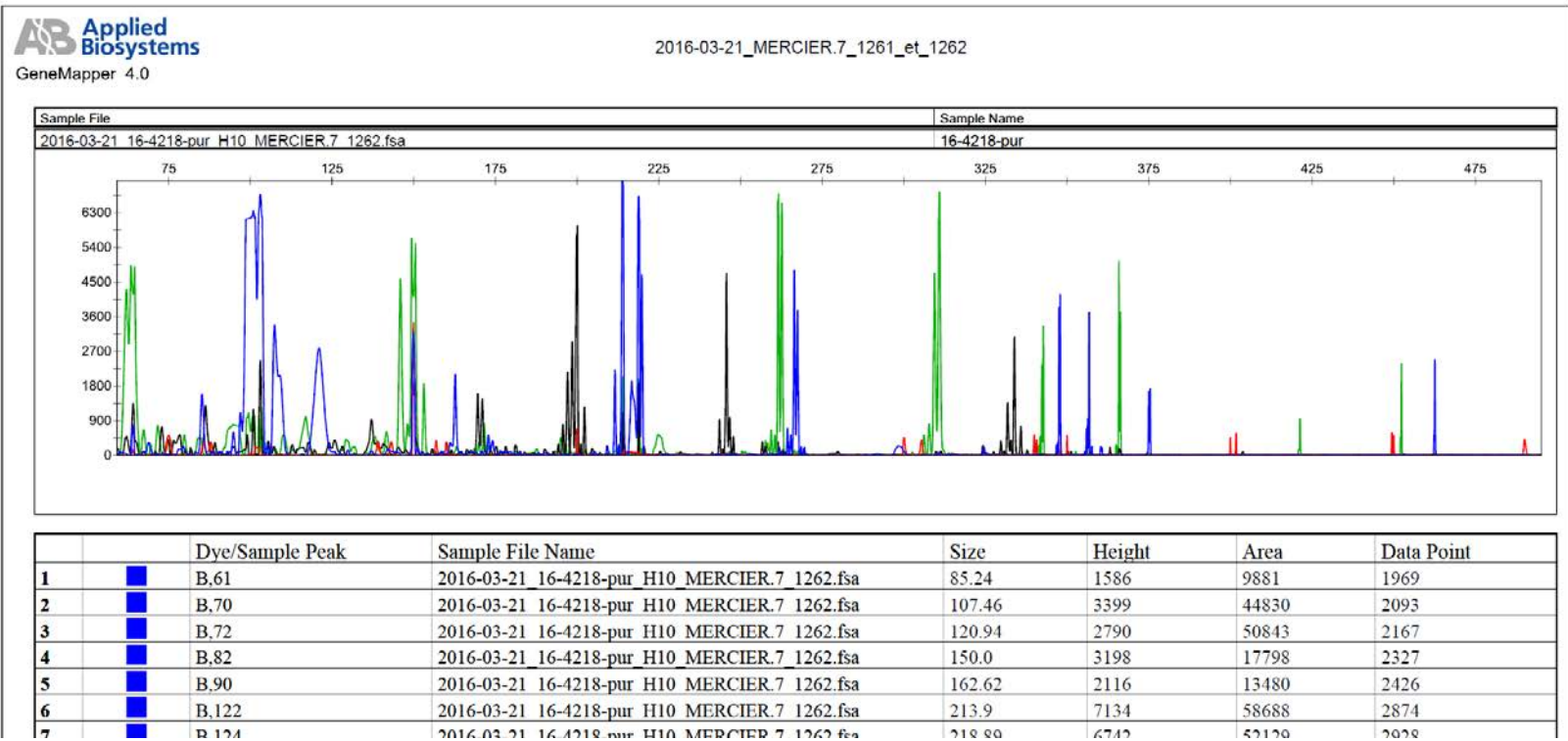
Pour aller plus loin...

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

Cricetomys gambianus
 menuiserie, Rufisque Ouest



Projet CHANCIRA
CBGP 2015





N=79



N=10



N=23





Institut de recherche
pour le développement

IRD au Sénégal
Laurent VIDAL



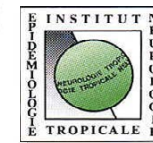
Centre de Biologie pour la Gestion des Populations
UMR IRD-INRA-Cirad-SupAgro / BIOPASS

Mbacké SEMBENE
Khalilou BA
Carine BROUAT
Mamoudou DIALLO
Jean-Marc DUPLANTIER
Laurent GRANJON
Mamadou KANE
Nathalie SARR
Aliou SOW
Claire STRAGIER
Youssoupha NIANG



**Laboratoire Population
Environnement
Développement LPED**
Ambroise DALECKY
Jean-François MAUFFREY

Laboratoire commun de microbiologie LCM
Saliou FALL
Sergio SVISTOONOFF
Maïmouna CISSOKO
Sarah PIGNOLY



UMR Inserm 1094 Neurologie tropicale, Limoges

Paula BOLAIS	Marie-Laure DARDÉ
Patcharee CHAICHAN	Daniel AJZENBERG
Émilie BERTRANPETIT	Pierre-Marie PREUX
Martine GATET	Farid BOUMEDIENE
Roselyne MOUZET	Gilles DREYFUSS
Nicolas PLAULT	Jean-Benjamin MURAT

Remerciements



Université Cheikh-Anta-Diop (UCAD)
Moustapha DIAGNE



Université Gaston Berger (UGB)
Mariama SENE



Institut Pasteur de Dakar
André SPIEGEL
Amadou SALL
Amy GASSAMA
Mir SAMATHEY



Faculté de Médecine de Dakar
Jean-Louis NDIAYE
Babacar FAYE
Fatou COULIBALY

Collaborations :



Diversité du

parasite *Toxoplasma gondii*

à travers le monde

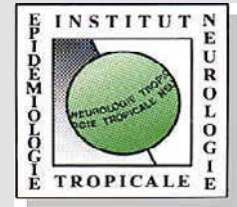
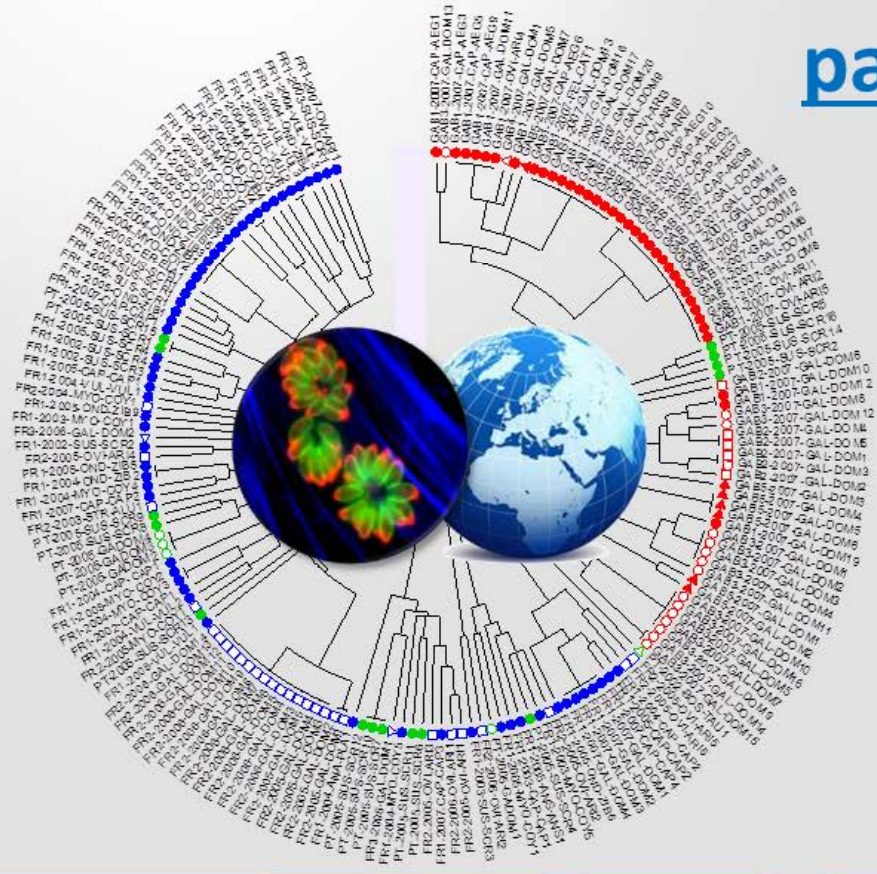
présenté par

Aurélien Mercier

et

Azra Hamidovic

(UMR Inserm 1094 Neuroépidémiologie Tropicale)



Lundi 07 mai 2018, EPAC Cotonou

Toxoplasma gondii

- **Apicomplexe** appartenant à la famille des **Coccidae**

- **Nicolle et Manceau 1908**

Premier isolement en Afrique (Tunisie) chez *Ctenodactylus gondii*

- **Splendore 1908**

Lapin en Amérique du Sud (Brésil)

- **Seulement une espèce, mais ...**

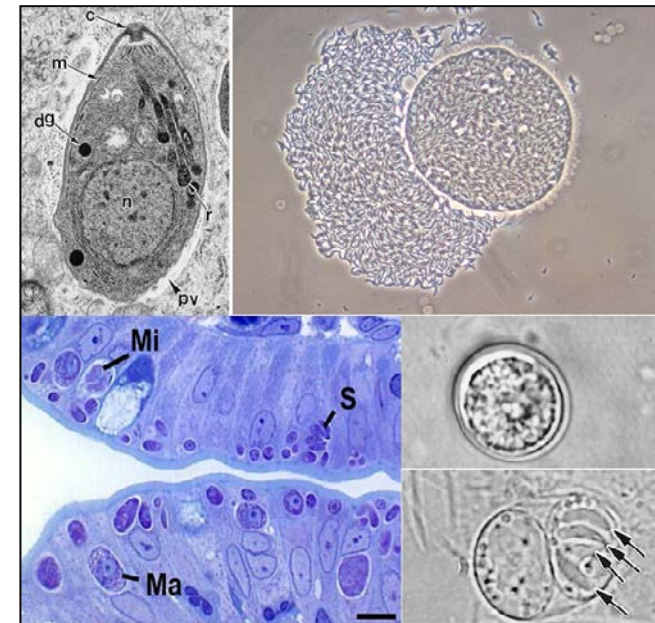
- **Diversité géographique** : toutes les latitudes
- **Diversité d'hôtes** : tous les animaux à sang chaud
- **Diversité biologique** : pathogénicité chez la souris, comportement en culture cellulaire

- **Diversité des formes cliniques** :

patient immunocompétent : asymptomatique aux cas graves exceptionnelles

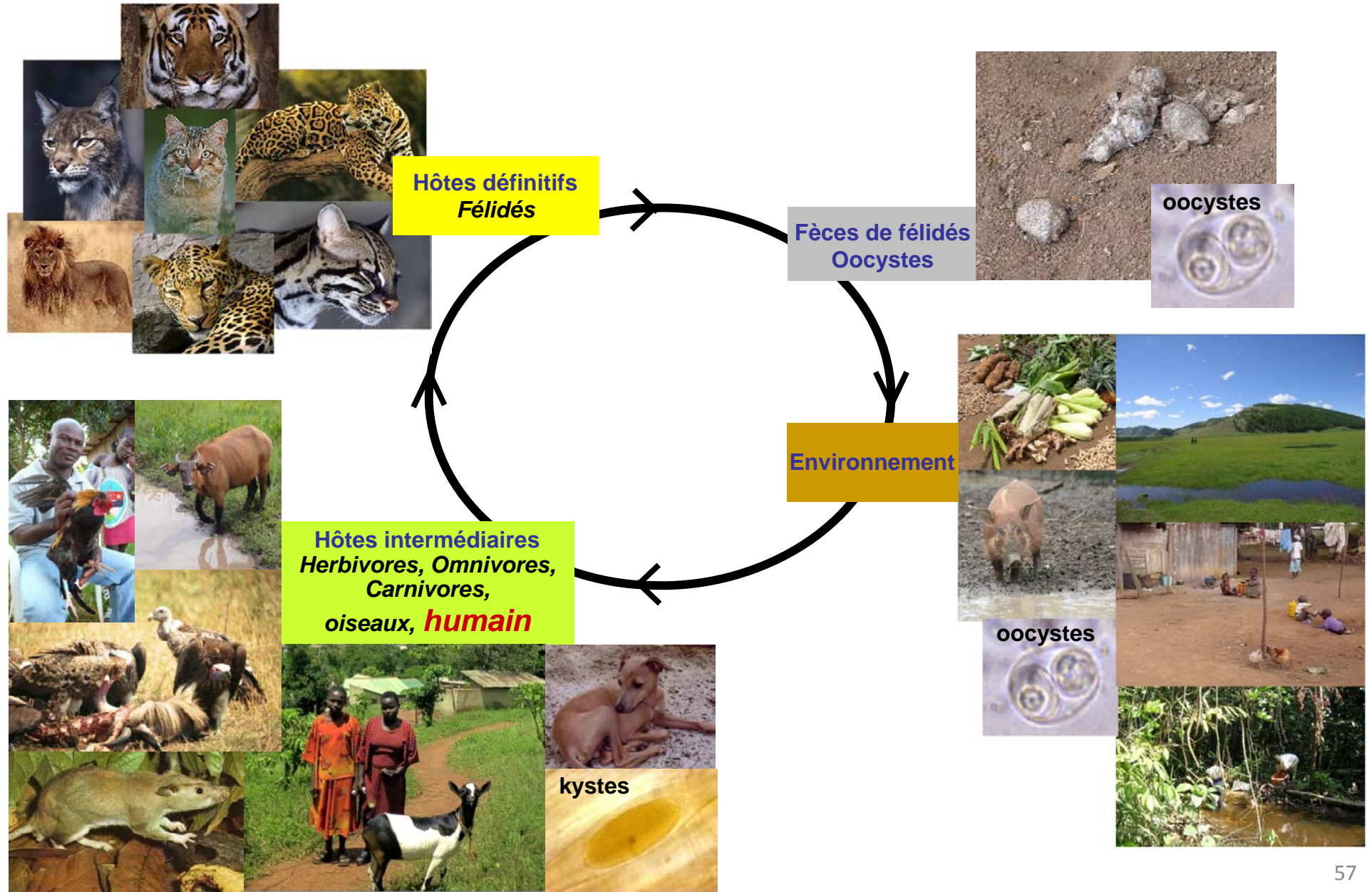
patient immunodéprimé : 1/3 réactivation chez les patients sidéens

toxoplasmose congénitale : d'asymptomatique aux cas mortels



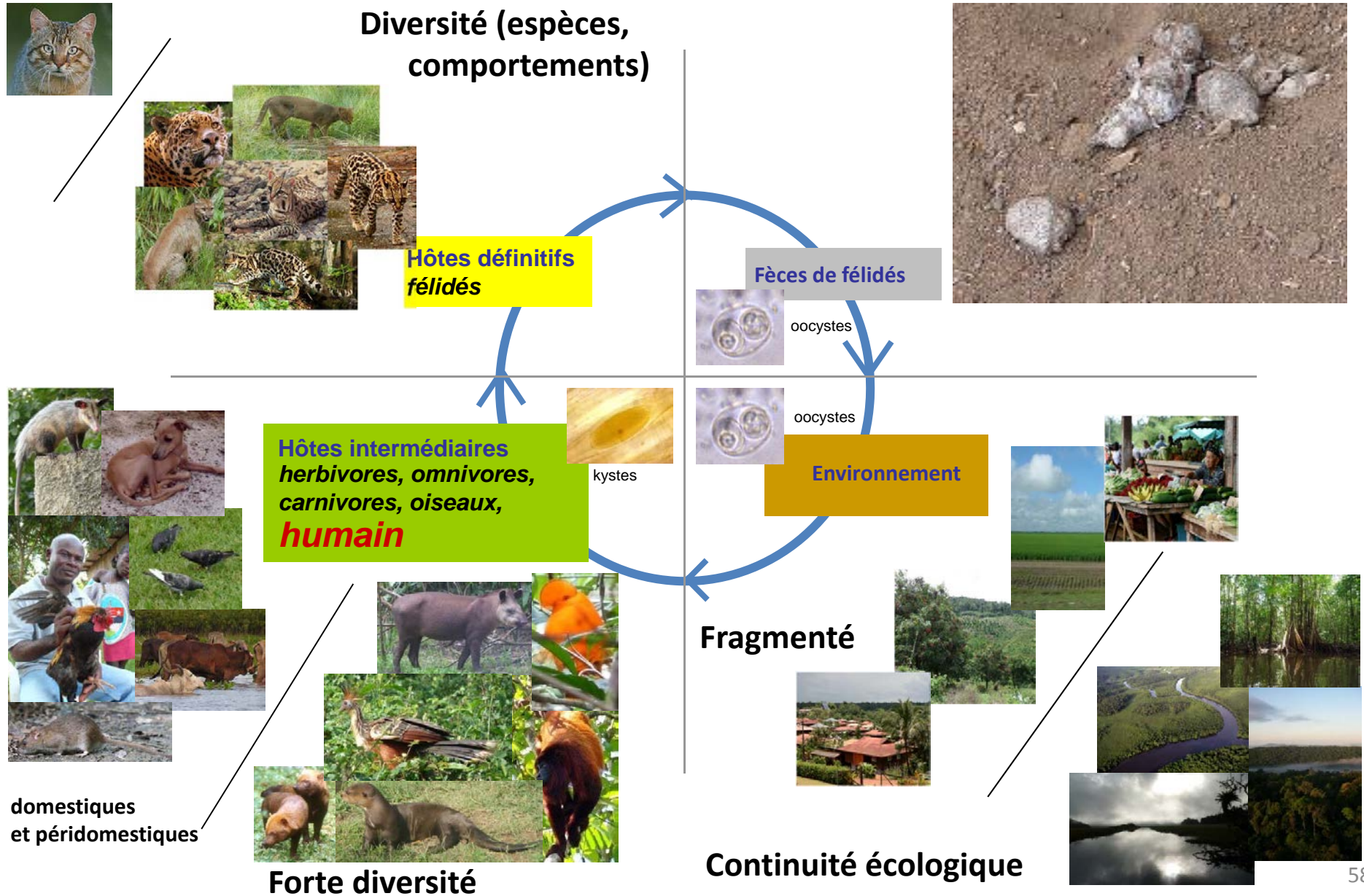
Dumètre, 2005

Le cycle



Caractérisation du cycle du toxoplasme selon l'environnement

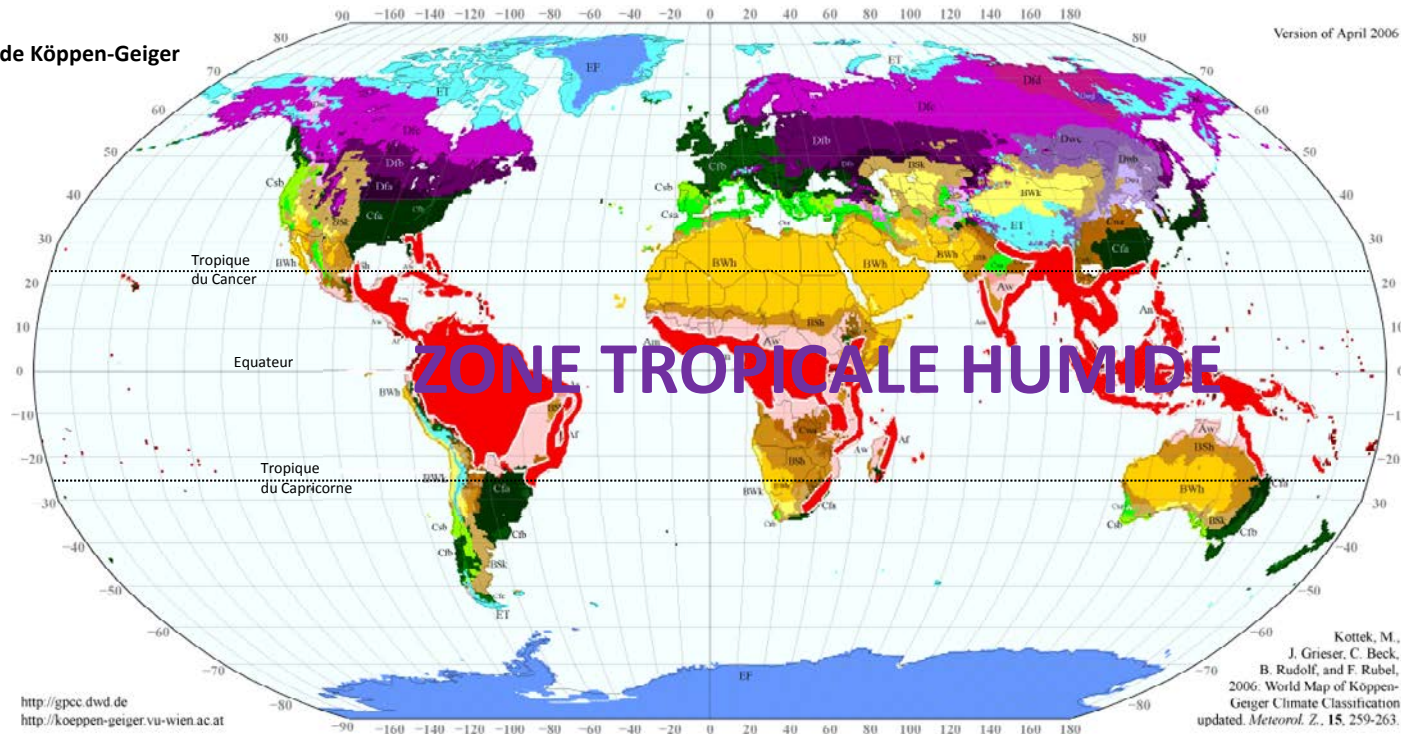
Milieu anthropisé / milieu sauvage



Climat et zone d'étude (zone tropicale humide)

Kottek *et al.*, 2006

Classification climatique de Köppen-Geiger



- 20 millions km² (Amérique latine, Afrique centrale et Asie du Sud-Est)
- 1,5 milliard de personnes
- >70 pays - essentiellement pays en voie de développement

Expositions accrues aux microorganismes (modes de vie, conditions sanitaires, hygiène, pratiques culinaires, aspects culturels, ...)

ZTH et épidémiologie de *T. gondii*

- **Chaleur et humidité constante :**

- température moyenne mensuelle > à 18°C
- hygrométrie élevée : 50 % à 100 % **Survie des oocystes**
- précipitations annuelles : de 1500 à 5000 mm

- **Sols ferrugineux avec la formation de cuirasse latéritique**

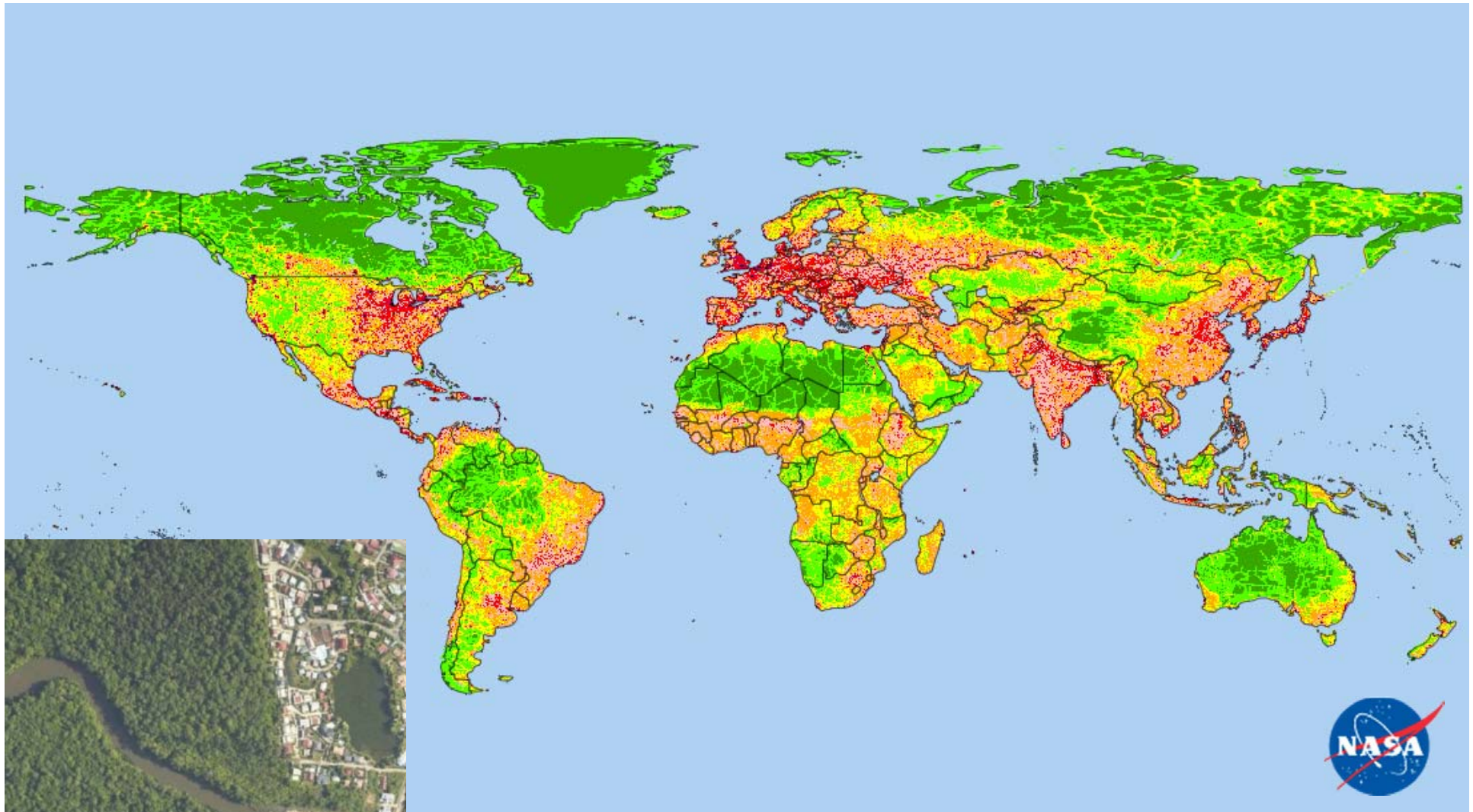
→ ruissèlement des eaux **Diffusion des oocystes**



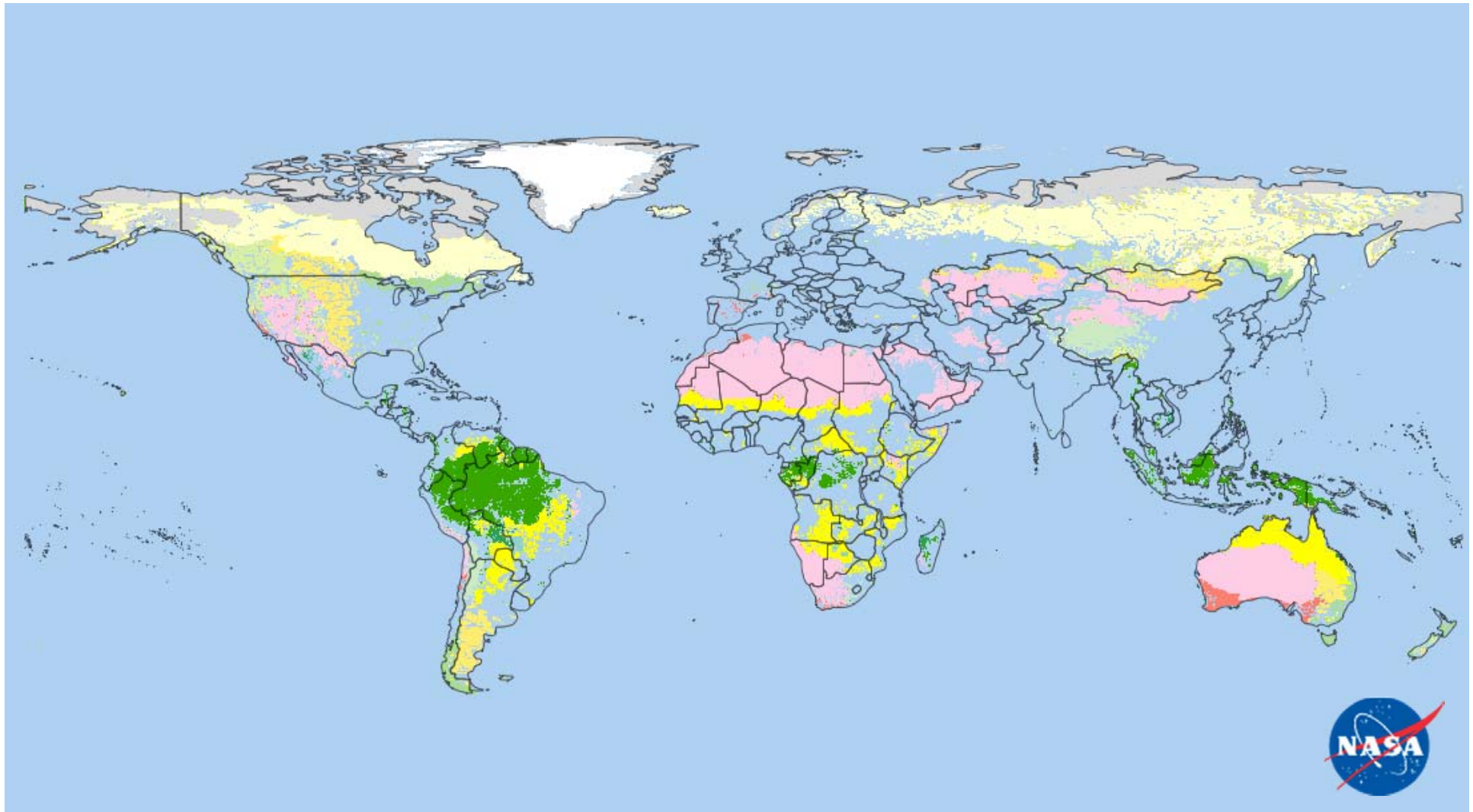
- **Voisinage des environnements anthropisés et sauvages**

Interpénétration des souches de *T. gondii* circulant dans ces 2 environnements

Environnements anthropisés et sauvages et zones refuges



Environnements anthropisés et sauvages et zones refuges

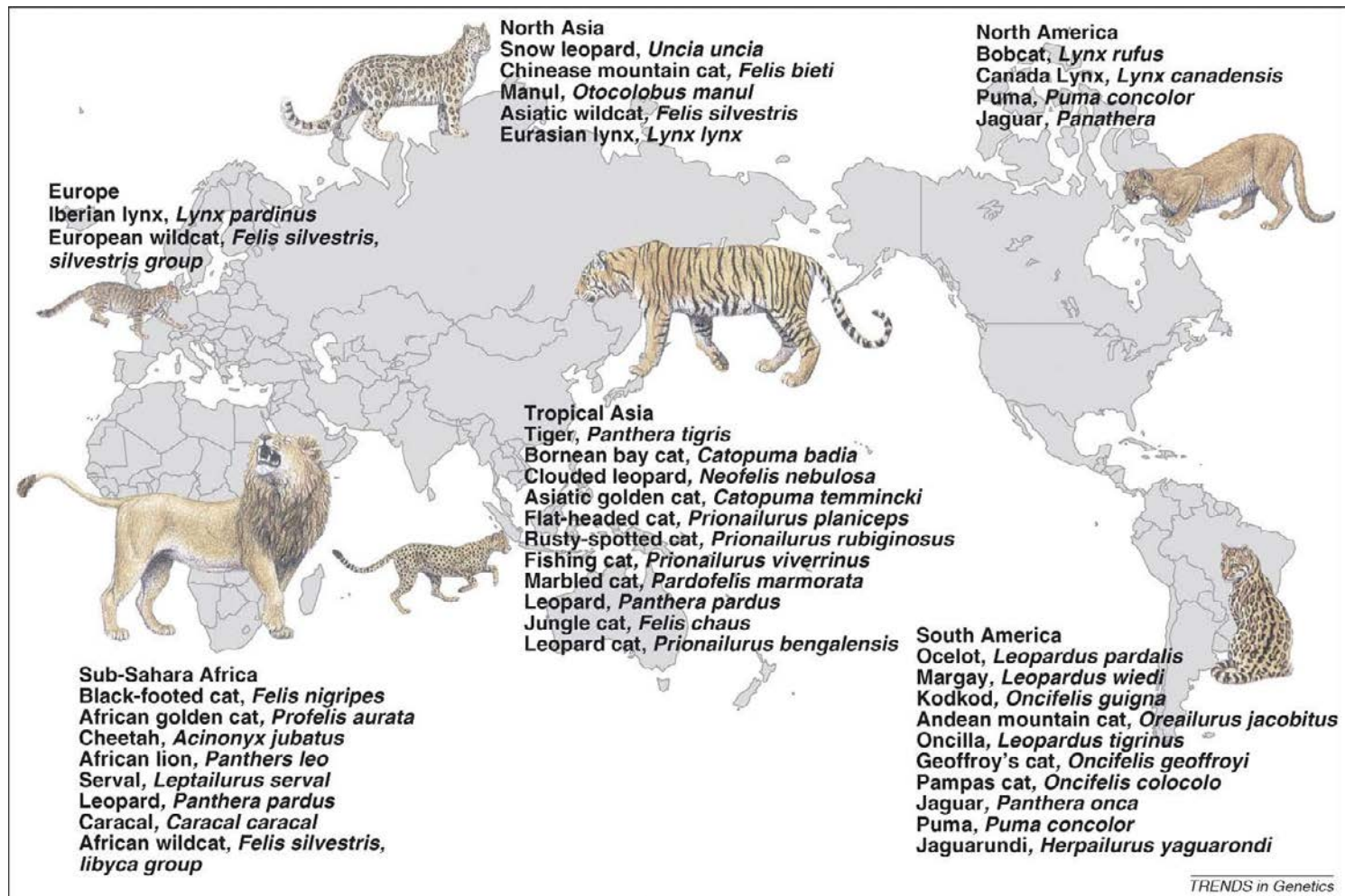


Hôtes définitifs: les félidés

cas des félidés sauvages

39 espèces à l'échelle du globe :

Europe : 4 Afrique : 10 Asie : 12 Amérique latine : 11 Amérique du nord : 5



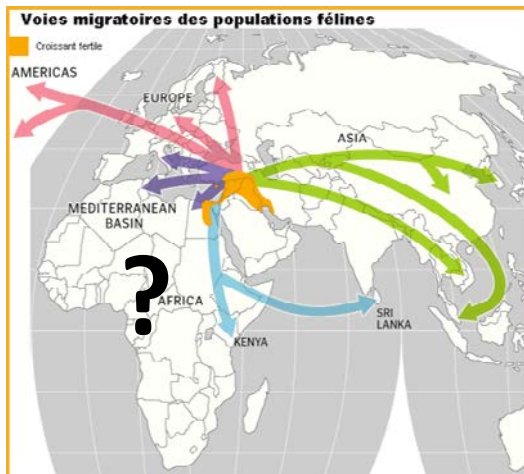
O'Brien et al., 2008

Hôtes définitifs: les félinés

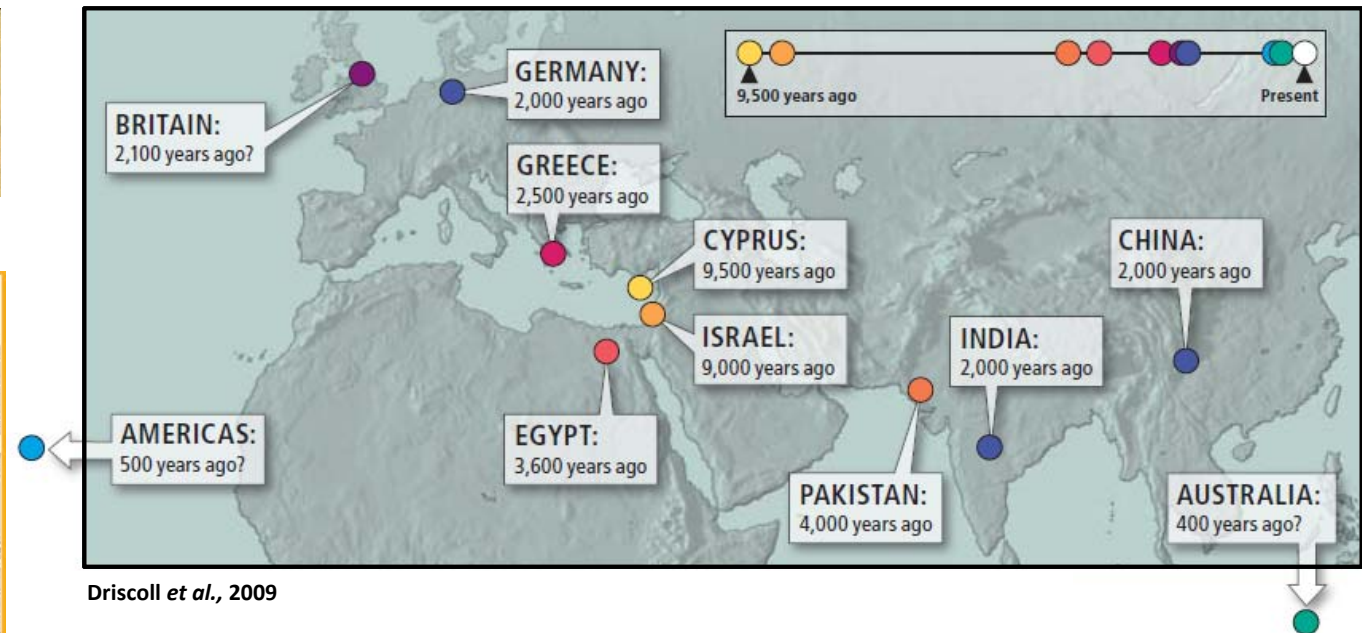
Cas du chat domestique



A colonisé tous les continents



Stein et Monika, 2008



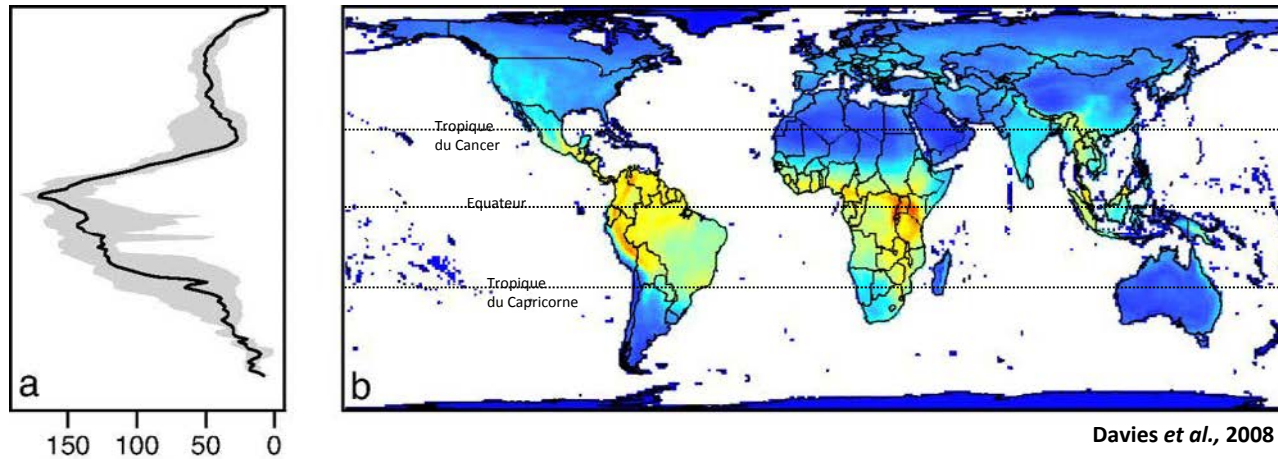
**Implantation du chat domestique récente en ZT :
Amérique du Sud et Afrique centrale**

Hôtes intermédiaires:

mammifères et oiseaux

- ZTH : point chaud de la diversité spécifique

Répartition géographique de la biodiversité des mammifères dans le monde



Grande diversité d'hôtes = important réservoir de parasites et de niches écologiques

- Animaux de rente : espèces les plus fréquemment infectées (Tenter et al., 2000)



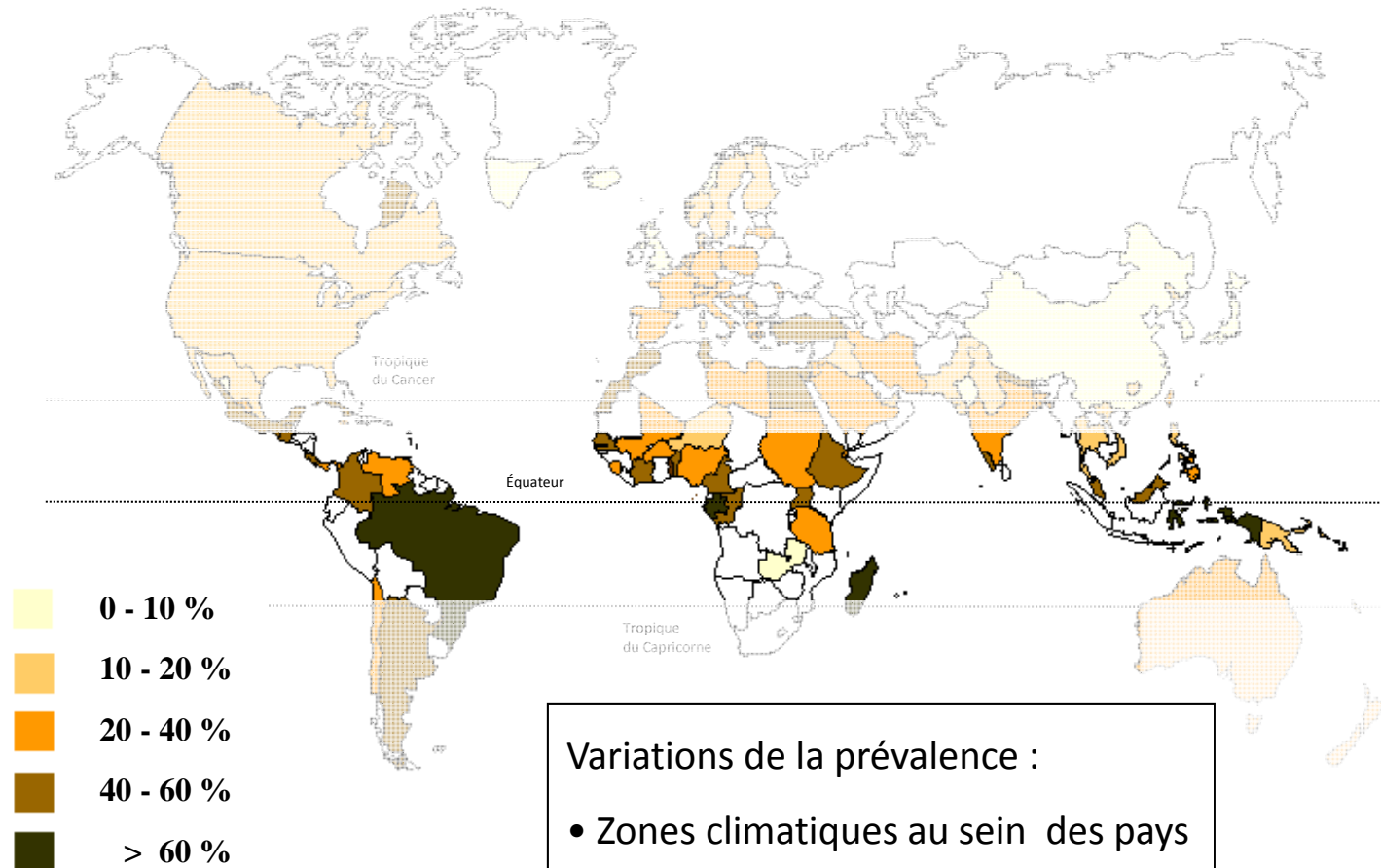
Circulation de *T. gondii* intense dans la ZTH : niveaux de prévalence élevés

(Tenter et al., 2000 et Dubey, 2010)

Séroprévalence de la toxoplasmose humaine à travers le monde

d'après Tenter et al., 2000, Pappas et al., 2009 et Dubey, 2010

Mercier non publié

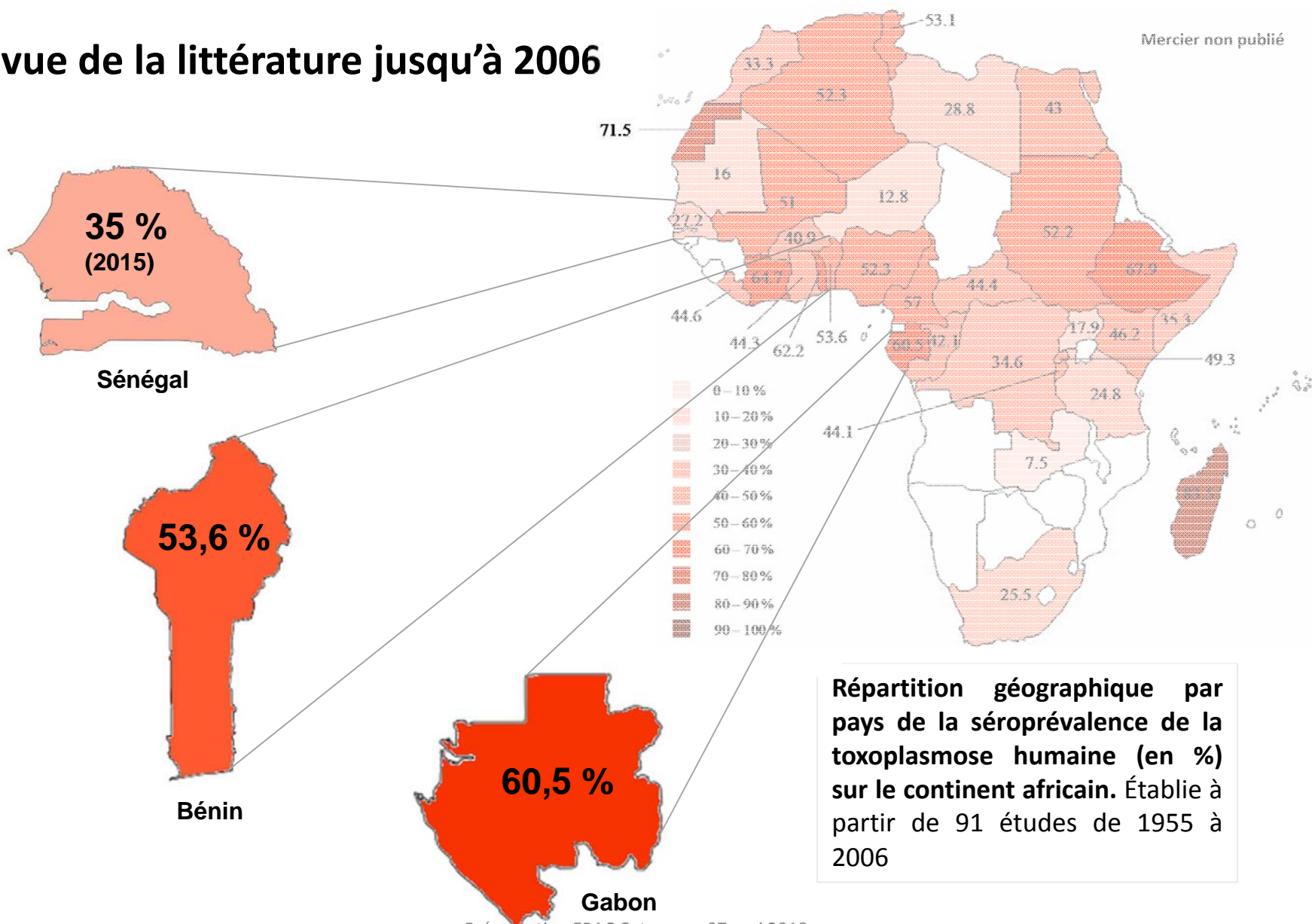


Variations de la prévalence :

- Zones climatiques au sein des pays
- Présence de félidés
- Niveau socioéconomique
- Mode de vie (culture)

Séroprévalence humaine en Afrique

Revue de la littérature jusqu'à 2006



Modes de contamination chez l'homme

- **Contamination par les kystes**

- traditions culinaires dans les tropiques :
viande bien cuite ou bouillie (Work, 1971; Thimossat, 1985)
- exception pratiques traditionnelles
- arrivée récente de pratiques culinaires occidentales

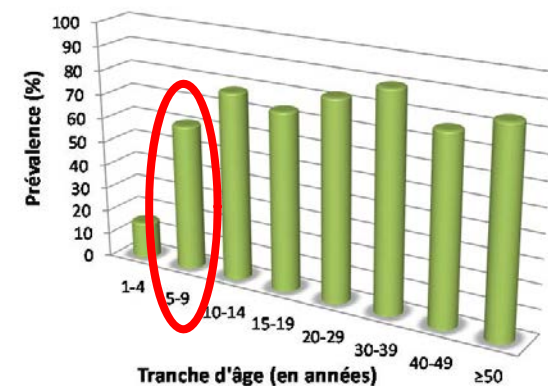
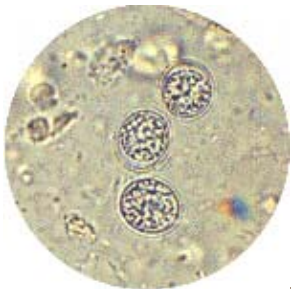


- **Contamination par les oocystes**

- propriétés du milieu propices à leur persistance dans l'environnement
- conditions d'hygiène

→ Acquisition précoce de l'immunité toxoplasmique

Voie d'acquisition prépondérante dans les tropiques



Aspects cliniques de la toxoplasmose en zone tropicale

Manifestations cliniques plus sévères décrites sous les tropiques:

- Dans les toxoplasmoses congénitales (Demar *et al.*, 2007; Gilbert *et al.*, 2008)

- 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 (Carme *et al.*, 2009; Nunura *et al.*, 2010)



Toxoplasmose oculaire
(Shobab, 2013)

Relation possible avec des génotypes différents de ceux qui circulent en Europe

Diversité génétique de *T. gondii*

▪ Structure clonale des populations de *T. gondii*

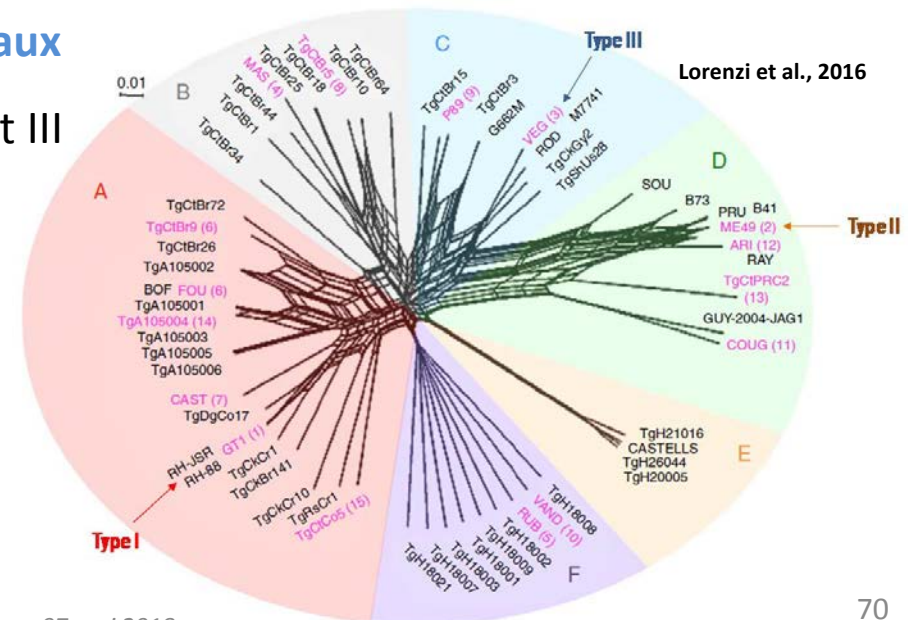
- 3 lignées archétypales prédominantes : **Types I, II, et III** avec des pathogénicités différentes (modèle murin)
- Isolats de **Type II** largement **prédominants** en **Europe** et en **Amérique du Nord** : 70-80 %

▪ Structure génétique plus complexe

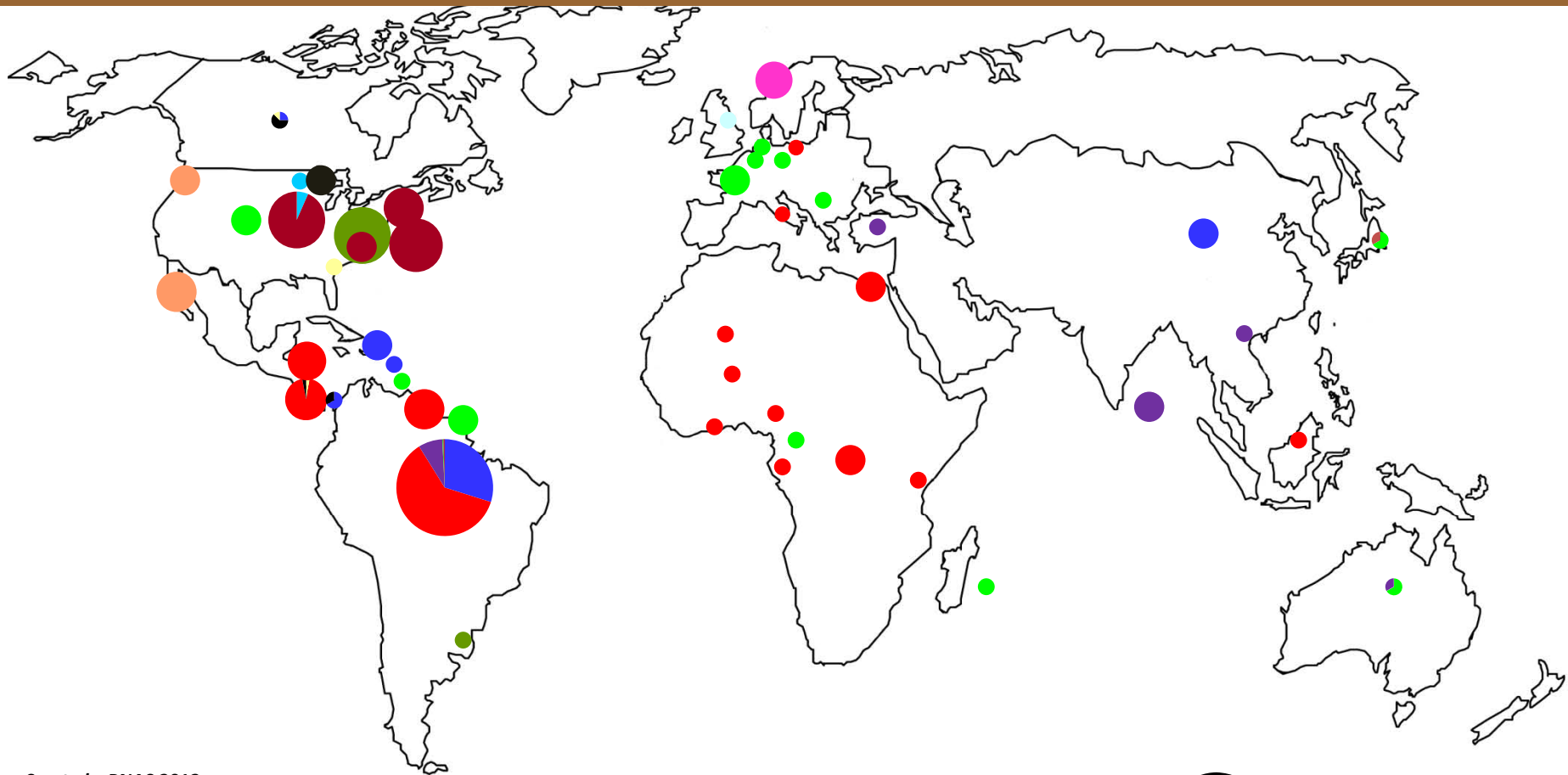
- Études sur des populations d'isolats d'origines géographiques et d'hôtes plus variées

(animaux sauvages) : **génotypes non archétypaux**

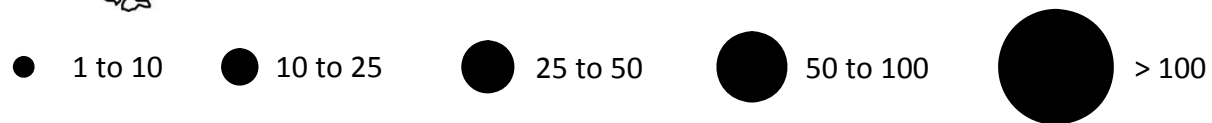
- **mixtes** : mélanges d'allèles des Types I, II et III
- **atypiques** : allèles différents



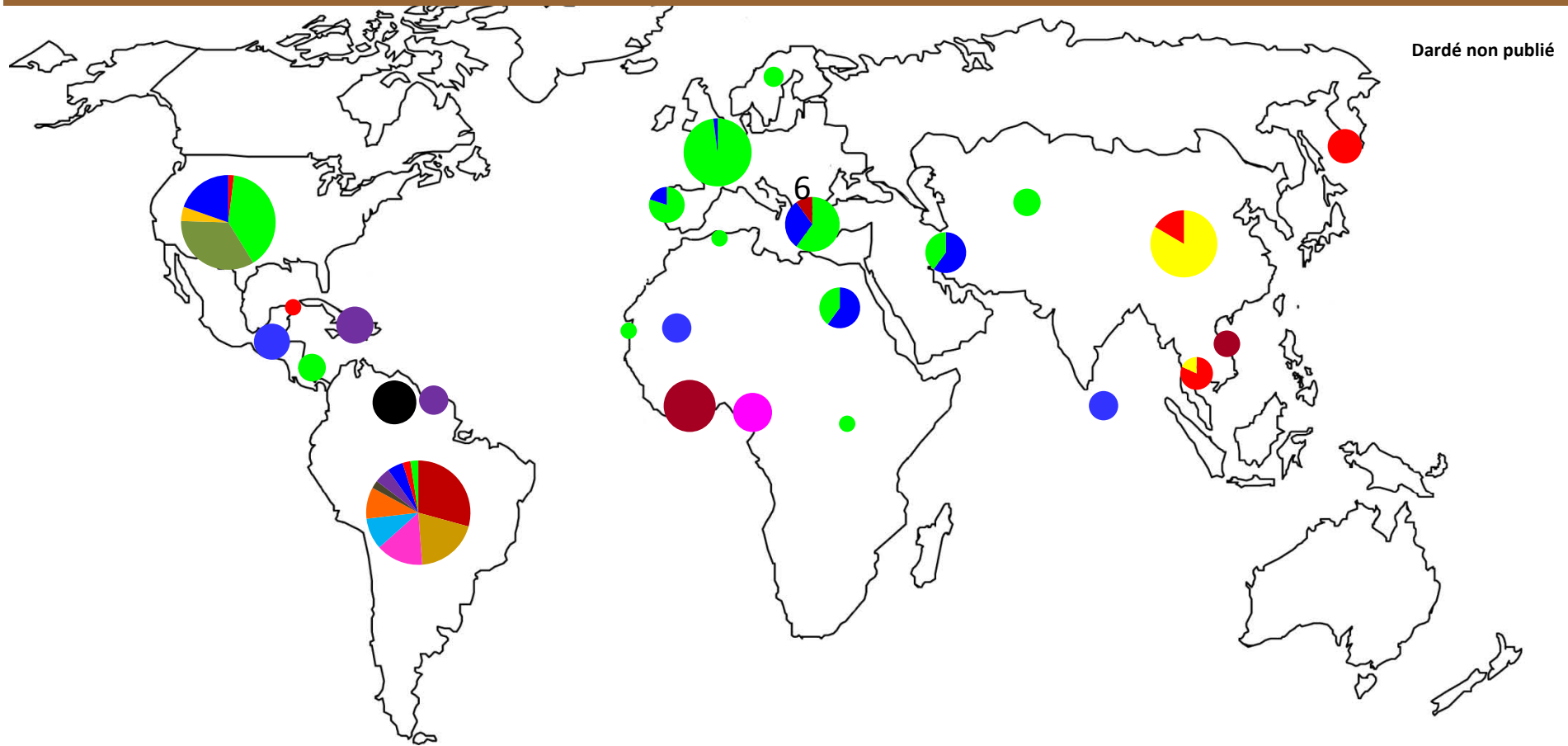
Diversification des origines des souche de *T. gondii*



Su *et al.*, PNAS 2012



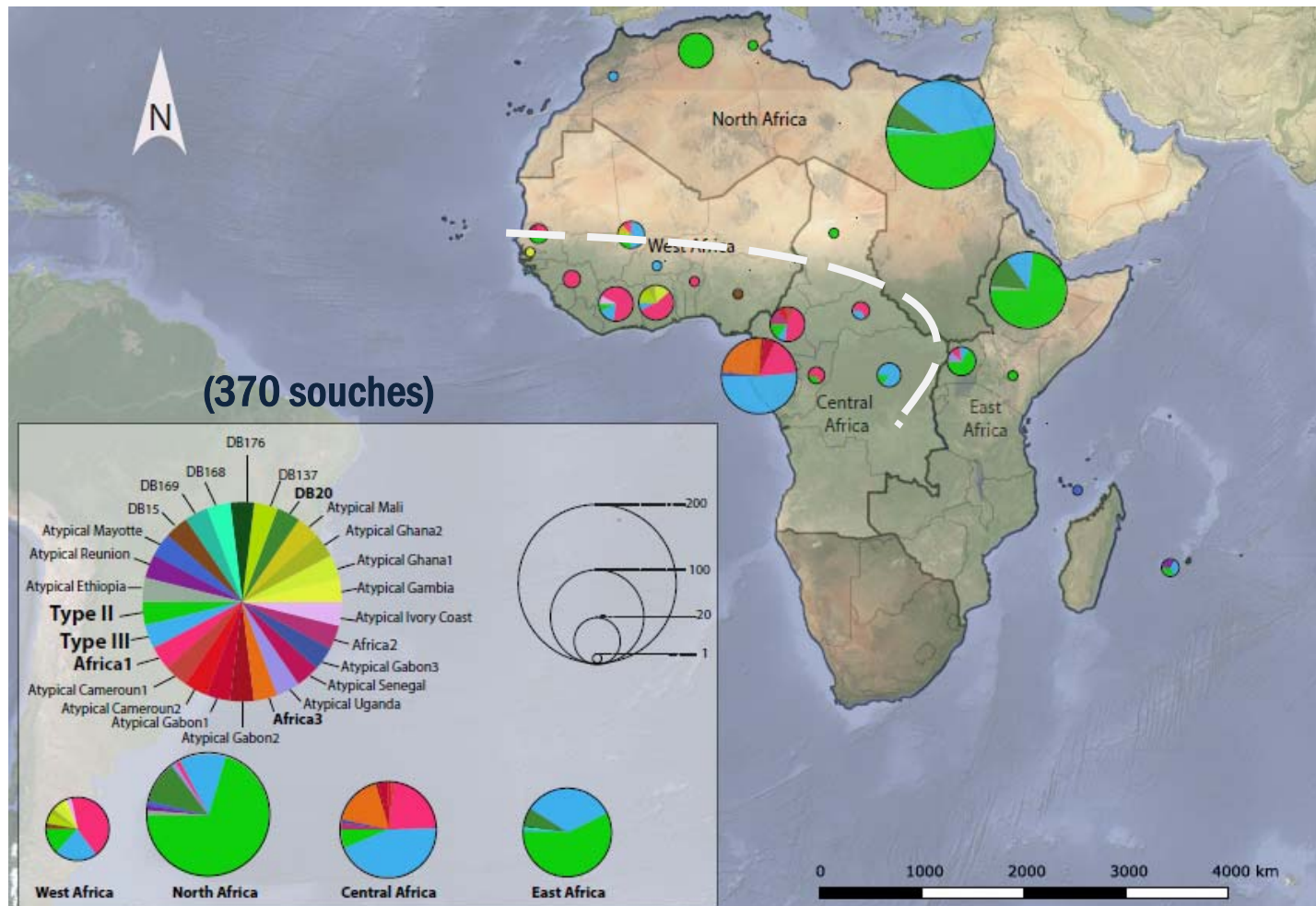
Distribution des haplogroupes de *T. gondii*



- 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)

Le toxoplasme en Afrique

- **Afrique** = une des régions les **moins étudiées** concernant le toxoplasme



Galal et al., 2017 Trends in Parasitology

Objectifs des travaux de l'équipe sur le toxoplasme

▪ Objectif principal

Étude de la **diversité génétique et phénotypique** de *T. gondii* au service de son épidémiologie

▪ Objectifs spécifiques

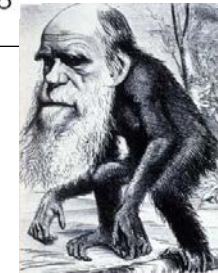
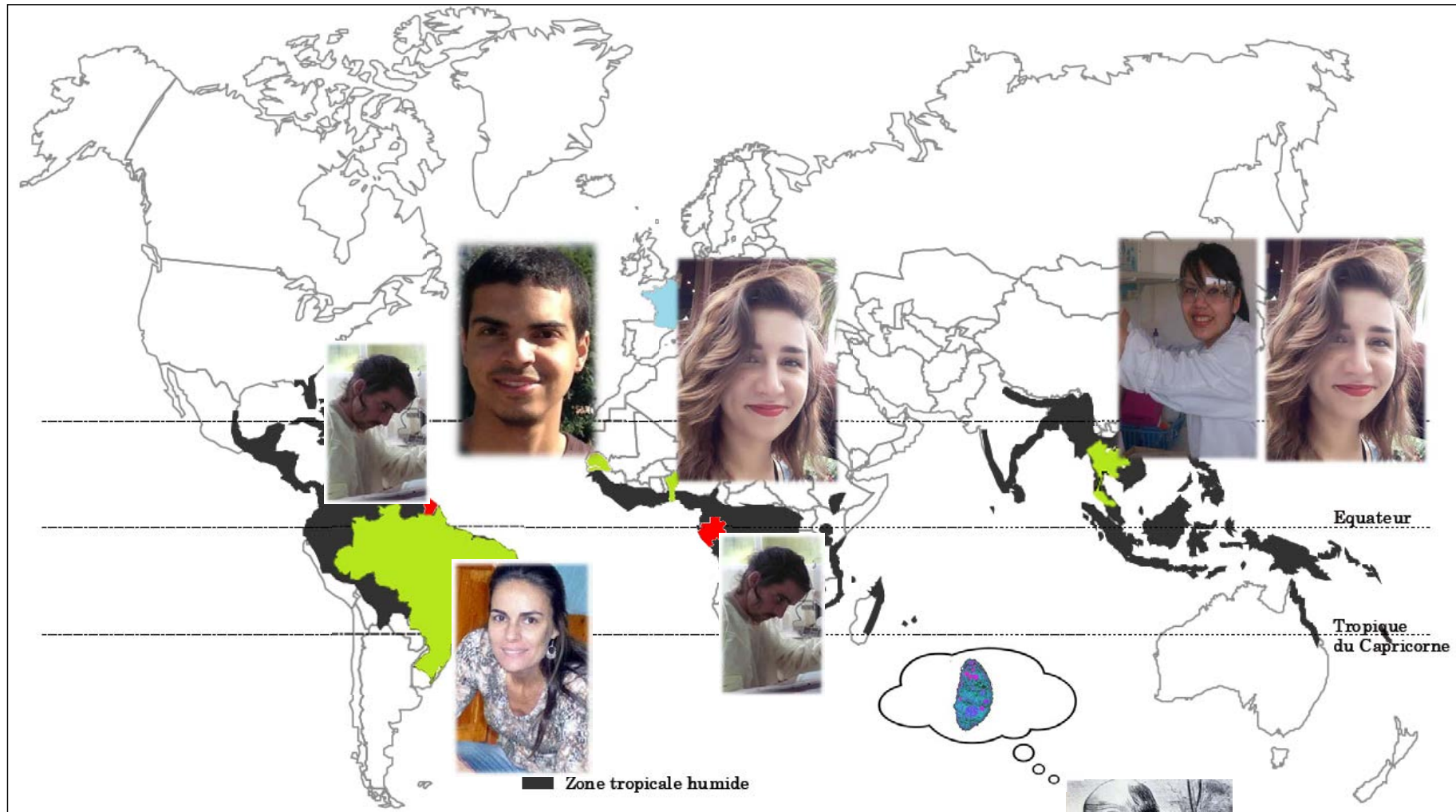
Analyse de la **circulation** du parasite en **environnement tropical** (et tempéré) :

- **séroprévalence**
- **génétique des populations**

Analyse de la **circulation** du parasite à **l'échelle mondiale**

- **expliquer la diversité** du parasite en lien avec la **virulence**
- **évaluation des risques en santé humaine**

Sites d'étude



Prélèvements sanguins :

- Chats
- Chiens
- Chèvres
- Moutons
- Poules







porc-épic



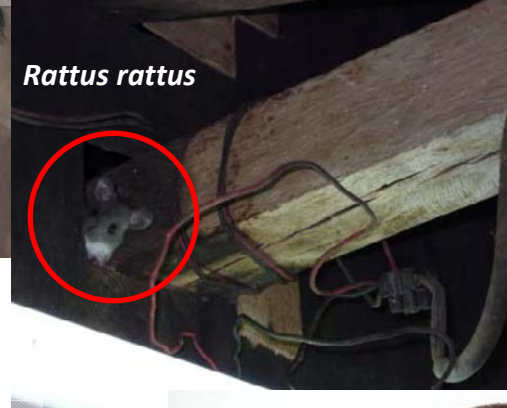
chevrotain aquatique



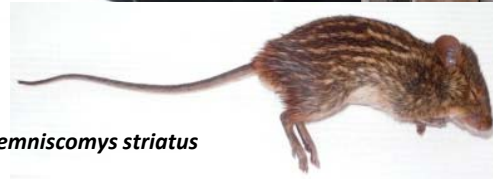
céphalophe bleu



céphalophe baie



Rattus rattus



Lemniscomys striatus



Potamogale velox



Malacomys longipes



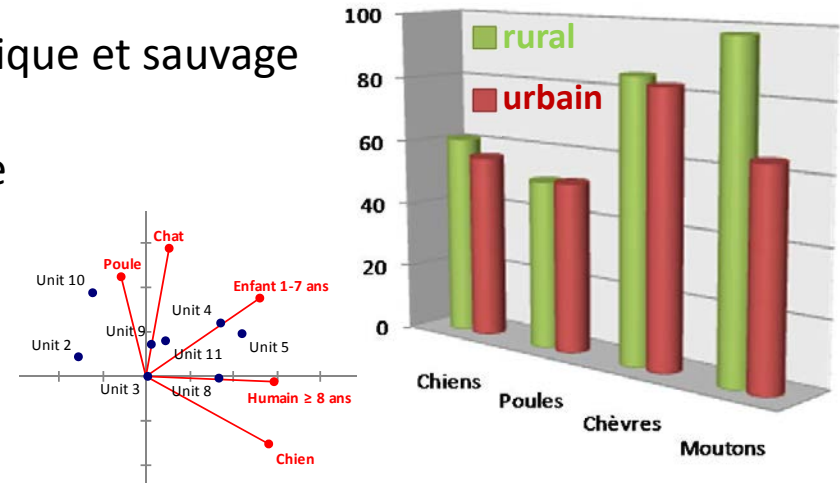
Hylomyscus walterverheyeni



Praomys petteri

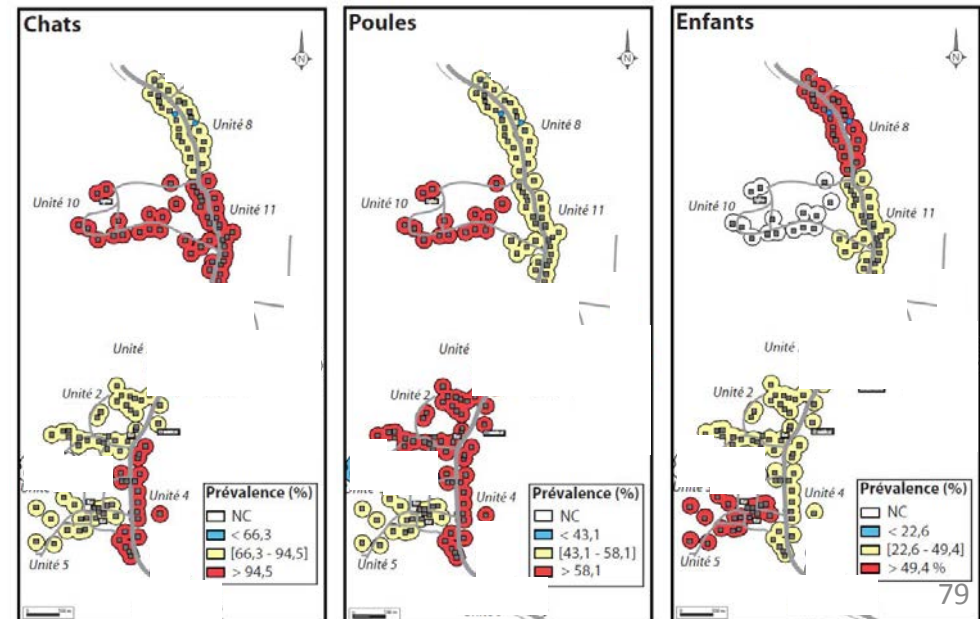
Séro-épidémiologie du toxoplasme en Afrique équatoriale : exemple du Gabon

- Chez l'homme et la faune domestique, péri-domestique et sauvage
- À différentes échelles : continent, pays, ville, village
- Comparaison entre environnement urbain et rural
- Étude des facteurs de risque



Analyse de la distribution spatiale de la prévalence de la toxoplasmose au sein d'un village

- Chez l'homme et la faune domestique
 - Dynamique de la circulation du parasite (populations, quartiers)
 - Foyers de contamination



Amélioration des connaissances et de la prévention (santé humaine)

Méthode d'isolement



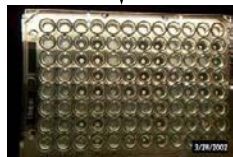
Échantillons « frais » :

Fiche de renseignements remplie

Prélèvement de sang
ou d'exsudat de
viande

Coeur et/ou
cerveau ou
muscle

Sérologie MAT
(sur sérum ou
exsudat)



Sérologie positive



Conservé à 4°

Isolement du parasite

Procédé d'isolement

Digestion trypsique

Lavage
(centrifugation)

Inoculation en IP à des souris



En fonction de la virulence chez la
souris

Présence d'ascite
à 10 à 15 jours PI



Tachyzoïtes

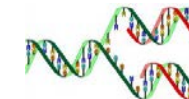
Sérologie positive à 3 ou 4 semaines PI
Présence de kystes dans le cerveau



Bradyzoïtes

Congélation des parasites vivants à partir du cerveau ou
de l'ascite en milieu RPMI - DMSO

Extraction d'ADN pour caractérisation génétique



Caractérisation génétique et analyse de la structure de population

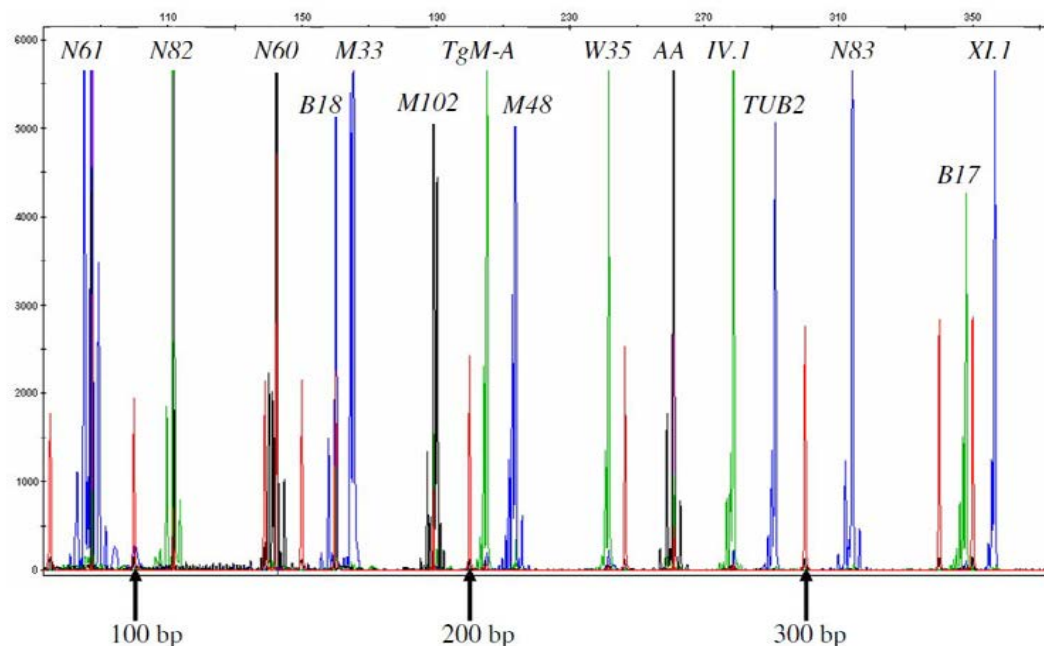
■ Caractérisation

Génotypage à l'aide de **15 marqueurs microsatellites (MS)** situés sur 11 chromosomes différents



- mesure de la diversité à faible échelle de temps
- minimise les risques d'homoplasie

- Analyse du polymorphisme de taille + séquençage de certains MS



Électrophorèse du produit d'amplification des 15 MS par PCR multiplex de la souche P89 obtenue sur séquenceur automatique à l'aide du logiciel GeneMapper

Ajzenberg *et al.*, 2010

▪ 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

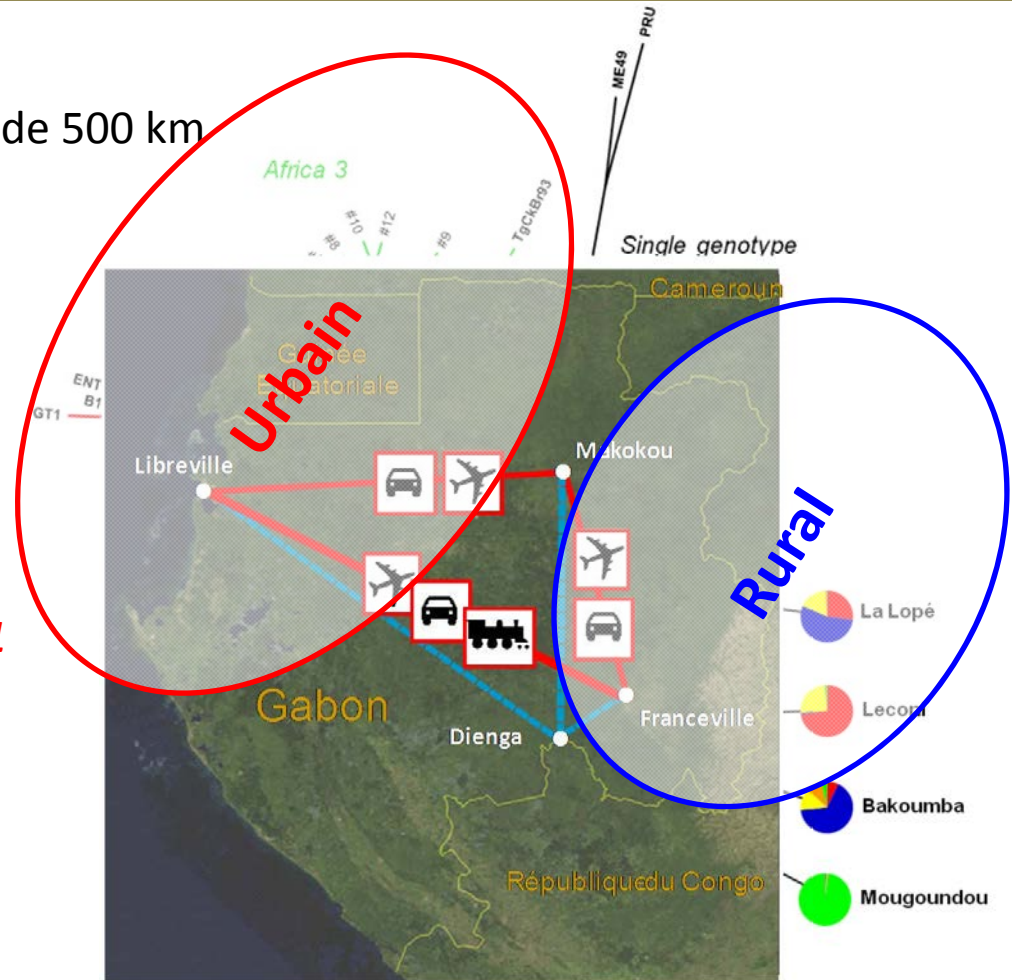
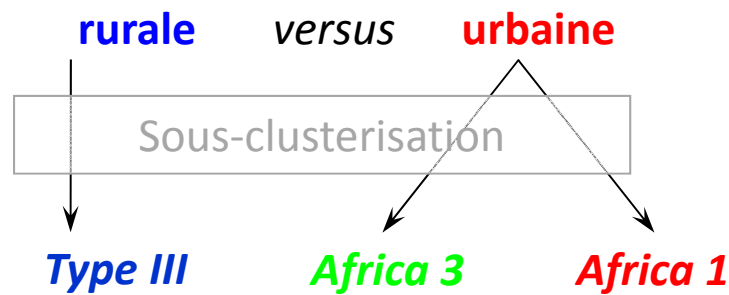
- Analyse spatiale de la structure des populations : **sPCA (R)**



Exemple du Gabon *Mercier et al., Plos NTD 2010*

- **69 isolats d'animaux domestiques**
 - de 3 villes urbanisées distantes de plus de 500 km
 - d'un village rural isolé

- 2 populations environnementales :



⇒ Flux de gènes accrus entre populations urbaines

- Structure des populations en lien avec les activités humaines

Exemple de la Guyane Française

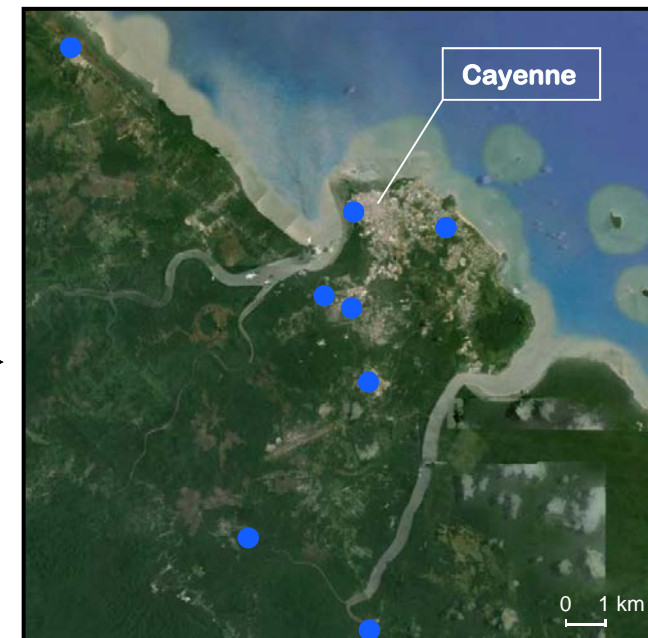
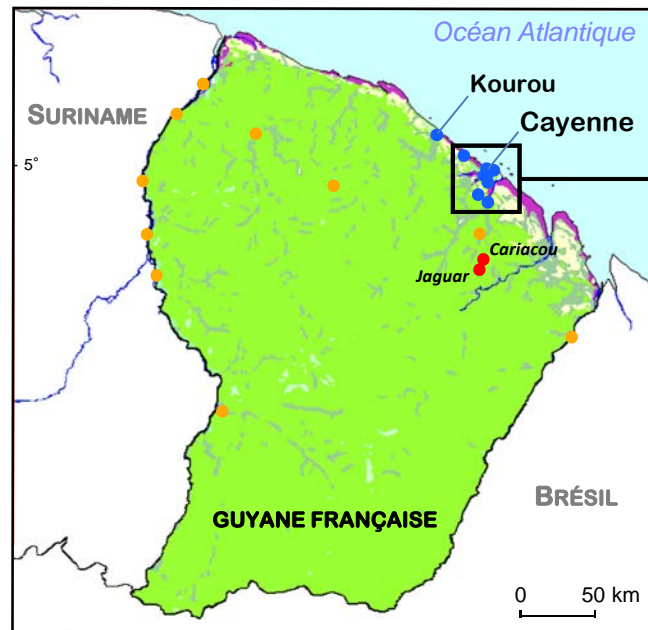
Mercier et al., 2011 *Infect Genet Evol*
Kan et al., Plos NTD 2014



Pathogénicité et Environnement

- Guyane Française, 2 cycles : sauvage et domestique
- Souches atypiques issues de formes sévère de toxoplasmose humaine d'origine sauvage
- Formes plus graves en lien avec le génotype des souches en zone tropicale

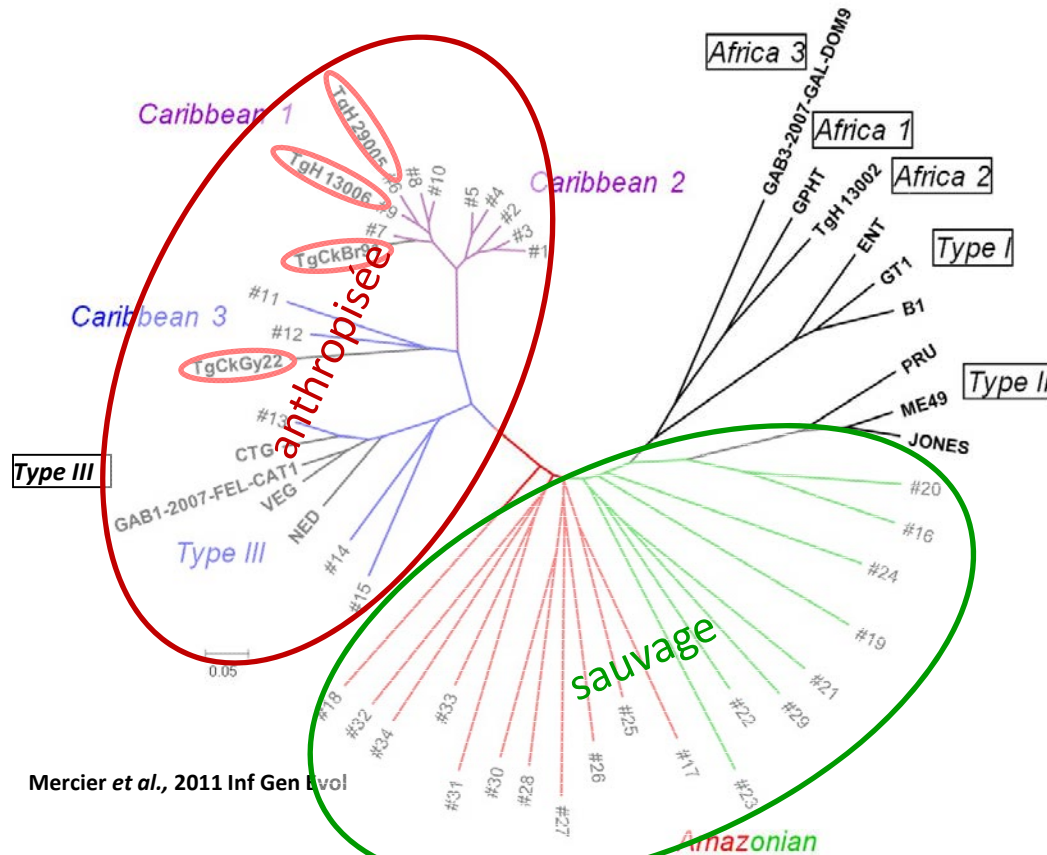
Interface domestique / sauvage



Légendes:

● souches issues de l'environnement anthropisé	
■ mangrove	● souches issues de l'environnement sauvage
■ forêt tropicale humide	● souches sauvages d'origine humaine
■ forêt de basse altitude	
■ forêts marécageuses d'eau douce	
■ forêt perturbée et environnements anthropisés	

Diversité des souches de *T. gondii* en Guyane Française



Mercier *et al.*, 2011 *Inf Gen Evol*

Sur 47 isolats retenus

(29 anthropisés / 18 sauvages)

- Richesse allélique :
 - population anthropisée : 3,03 [1 – 6,56]
 - population sauvage : 6,73 [2 – 11]
- 34 génotypes :
 - population anthropisée : 16/29
 - population sauvage : 18/18
- $H_s = 0,52$
 - population anthropisée $H_s = 0,28$
 - population sauvage $H_s = 0,72$

• Amazonian : HG 5, HG 10

• Type III, Caribbean 1, Caribbean 2, Caribbean 3 → Lien avec les Caraïbes et l'Amérique du sud



Impact de l'anthropisation :

- perte de diversité génétique
- structuration des populations

Structure génétique des populations

STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000) / DAPC (Jombart *et al.*, 2010)



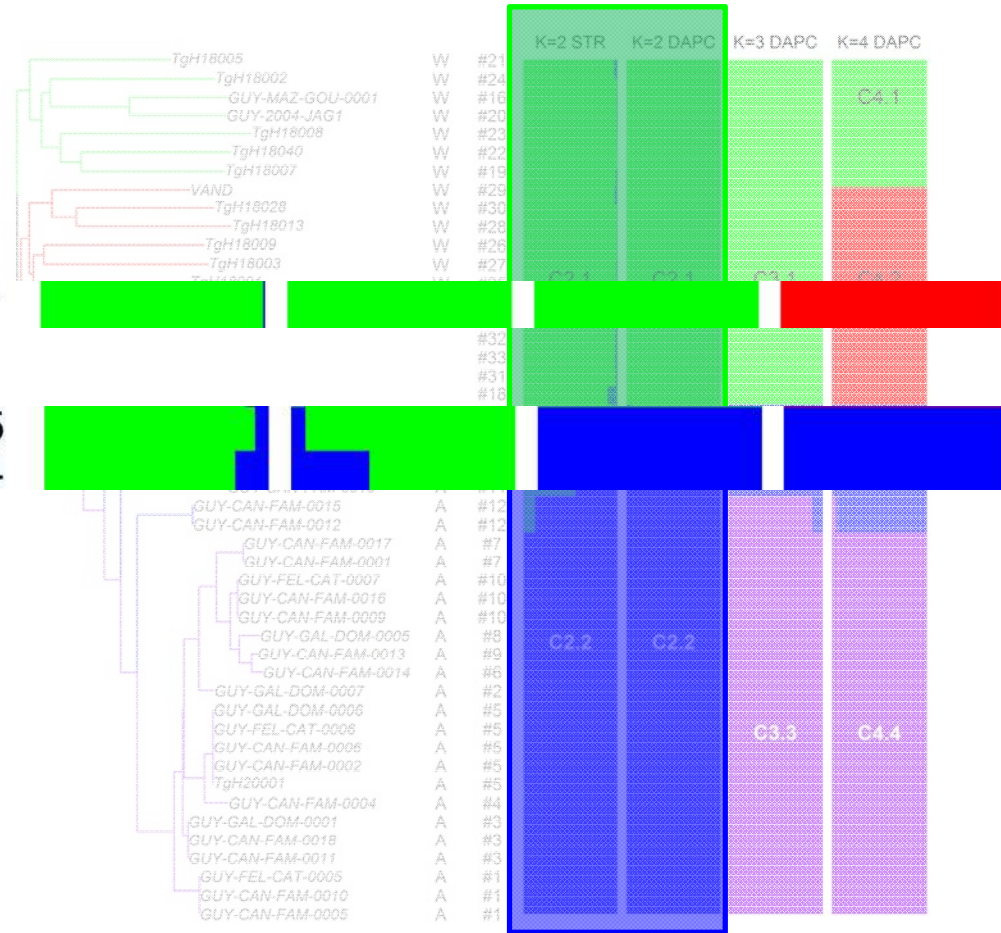
Canis familiaris
(chien)

GUY-CAN-FAM-0007 A #17
(Milieu anthropisé)

GUY-GAL-VIT-0001 A #15
GUY-CAN-FAM-0003 A #14
(Milieu anthropisé)



Galictis vittata
(grison)

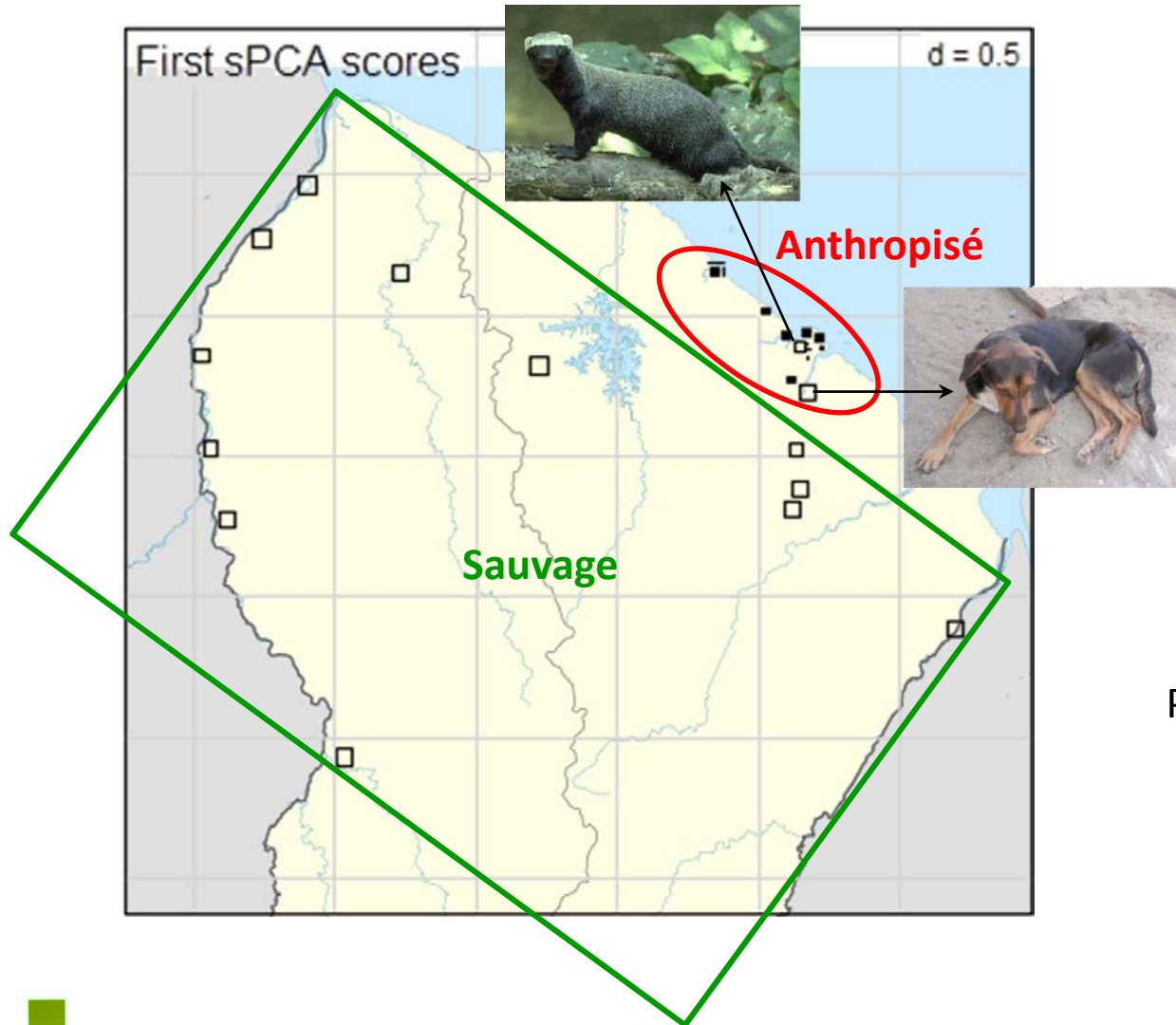


Mercier *et al.*, 2011 Inf Gen Evol



Interpénétration des populations environnementales sauvage et anthropisée

Structure génétique des populations



Populations « génétiques » :

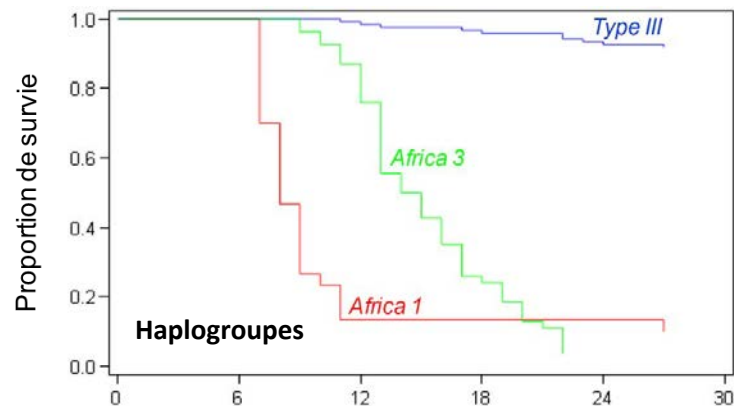
- Sauvage
- Anthropisée



Interpénétration des populations environnementales sauvage et anthropisée

Caractérisation phénotypique : virulence chez la souris à l'isolement

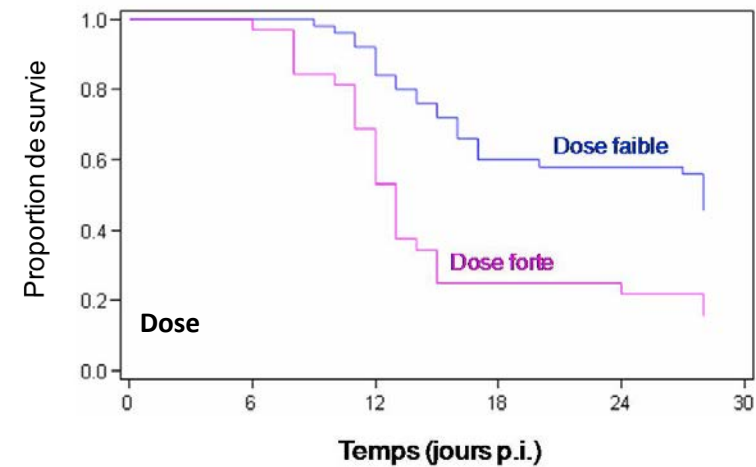
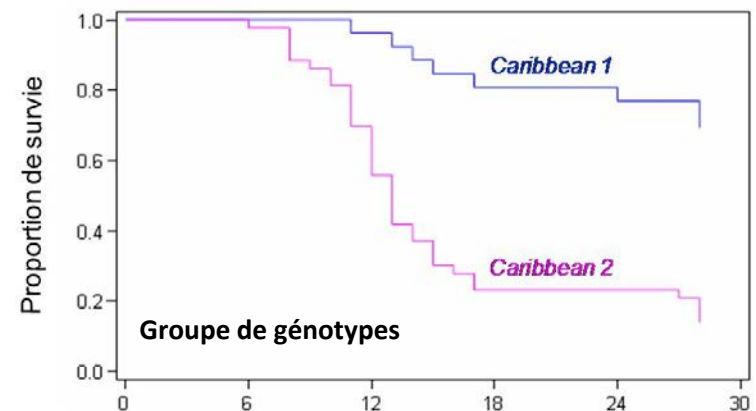
Gabon



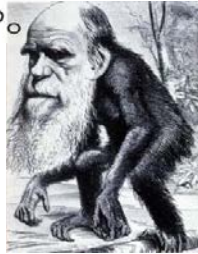
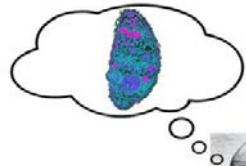
Mercier *et al.*, 2010 Plos NTD 2010

- Confirme les structures génétiques
- Effet de la dose d'inoculum
- Demande une confirmation expérimentale

Guyane



Phylogéographie de *T. gondii*

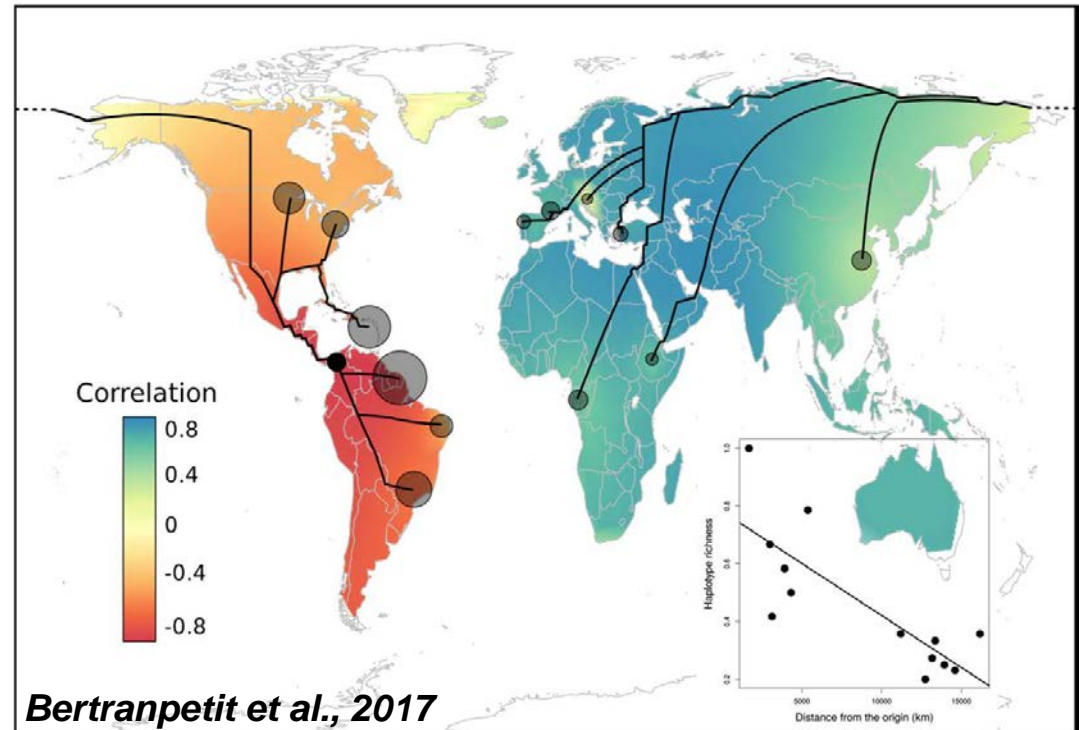


Thèse Emilie Bertranpetit

■ Hypothèse :

Une forme ancestrale de *T. gondii*, aurait été introduite en Amérique du Sud via les migrations des félidés il y a environ 3 Ma.

■ Origine en Amérique du Sud (Colombie)

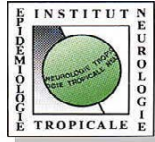


Collaborations :

- CNRS-UMR5558 (S. Devillard)
- Universidade São Paulo (H. Pena)
- USDA (JP. Dubey)
- Imperial College London (T. Jombart)
- IRD - ISEM (E. Paradis)
- University of Tennessee (C. Su)

TMRCA des lignées actuelles : 1,5 Ma

Présentation EPAC Cotonou – 07 mai 2018



UMR Inserm 1094 Neurologie tropicale, Limoges

Marie-Laure DARDÉ	Paula BOLAIS
Daniel AJZENBERG	Patcharee CHAICHAN
Pierre-Marie PREUX	Émilie BERTRANPETIT
Farid BOUMEDIENE	Lokman GALAL
Gilles DREYFUSS	Martine Gatet
Jean-Benjamin MURAT	Roselyne Mouzet
	Nicolas Plault



EA 3593 Épidémiologie des Parasitoses Tropicales, Cayenne

Bernard CARME
Magalie DEMAR
Denis BLANCHET
Stéphane SIMON



UMR MIVEGEC IRD 224-CNRS 5290
Biodiversité des Systèmes Infectieux : du gène à l'écosystème
Anne-Laure BAÑULS
Patrick DURAND



Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et de Biostatistique
Henri BONNABAU

Remerciements



Centre International de recherche Médicale de Franceville

Philippe BLOT
Jean-Paul GONZALEZ
Barthélemy NGOUBANGOYE
Bettina SALLE
Eric LEROY
Xavier POURRUT



Institut Pasteur de la Guyane
André SPIEGEL
Benoît de THOISY

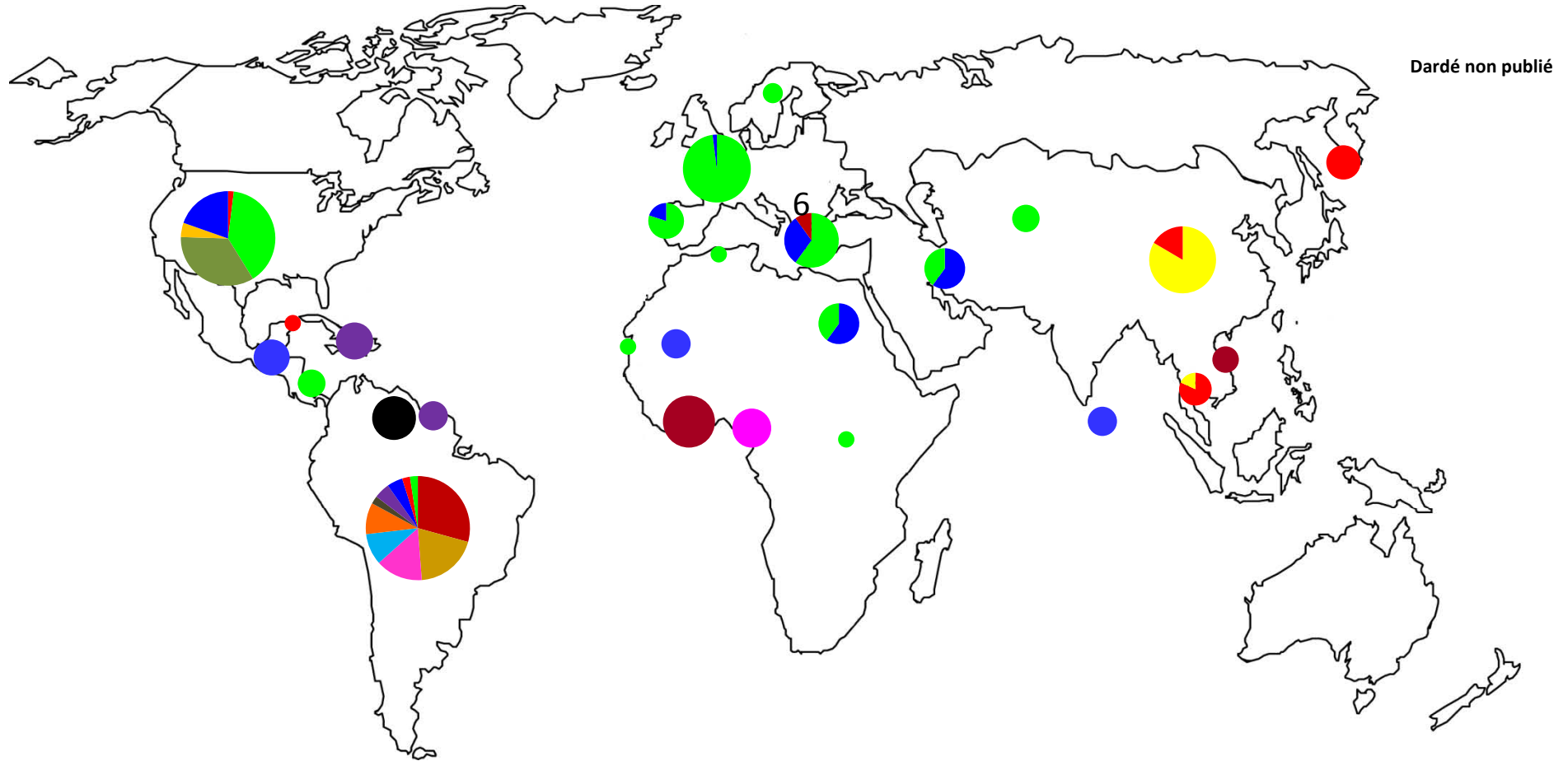


UMR CNRS 5558
Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive
Sébastien DEVILLARD



Centre de Biologie pour la Gestion des Populations
UMR IRD-INRA-Cirad-SupAgro
Jean-Marc Duplantier
Gauthier DOBIGNY
Laurent Granjon
Carine BROUAT

Distribution des haplogroupes de *T. gondii*



- 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)

Introgressions de *T. gondii* : Travaux précédents

Exemple 1 : Guyane française



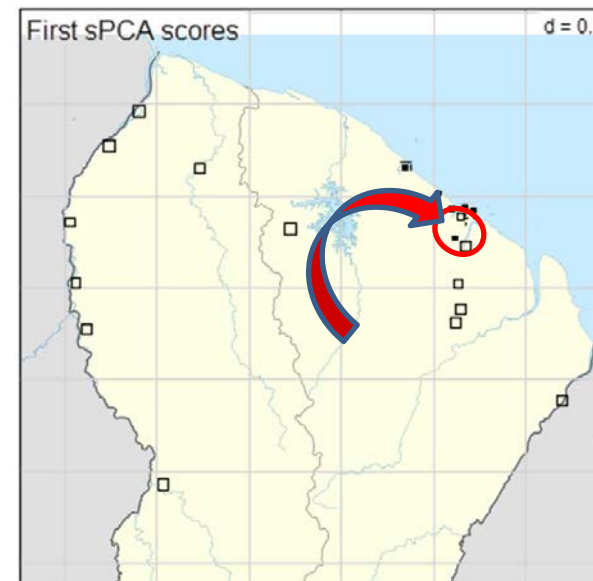
Mercier *et al.*, 2011



Environnement
sauvage

Environnement
anthropisé

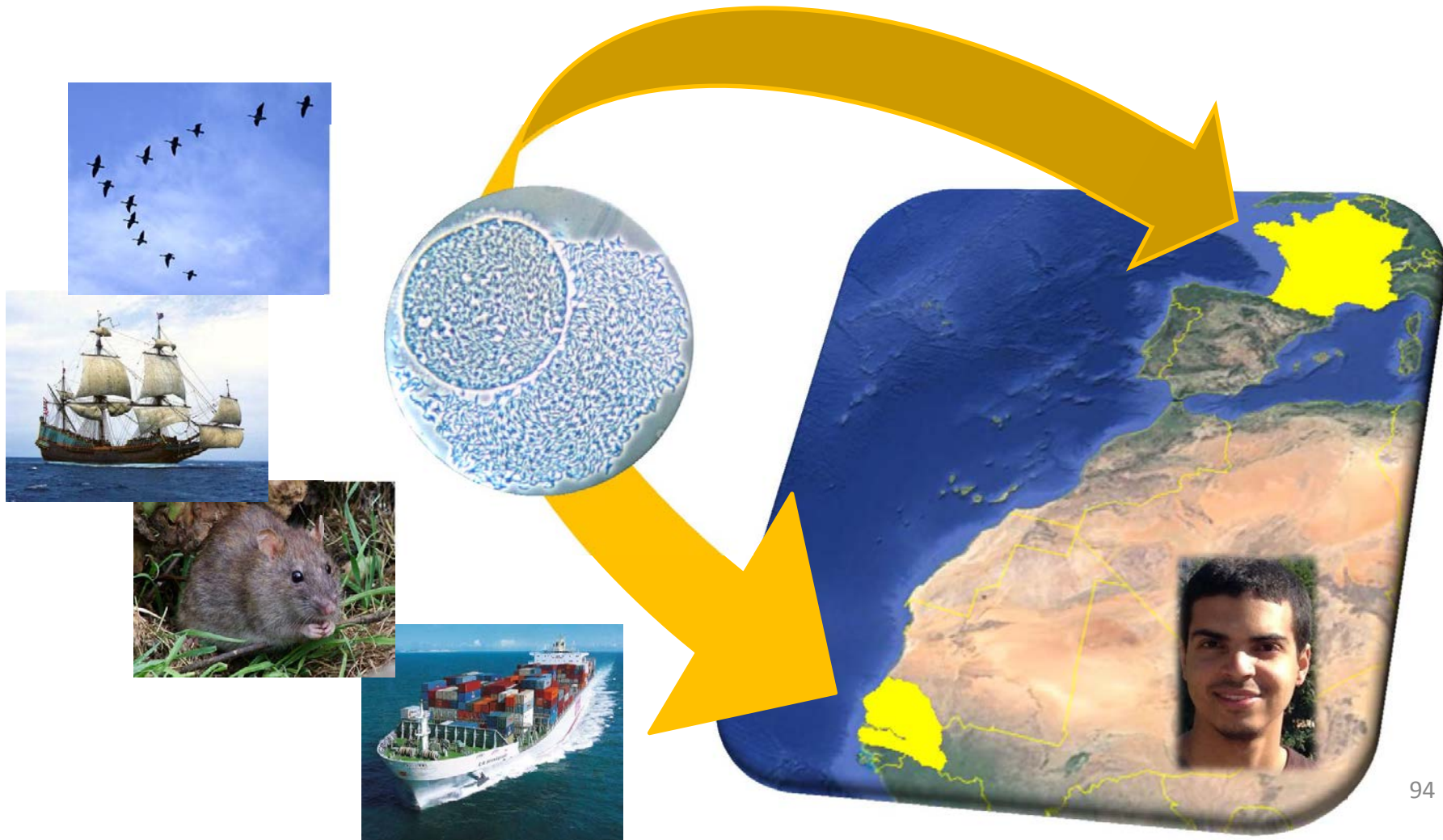
Premières implantations françaises
dans la zone de Cayenne dès 1503



Exemple Continent américain / Europe Aroussi *et al.*, 2015 Parasite



Étude de l'introggression des génotypes de *Toxoplasma gondii* entre la France et le Sénégal, et son impact sur l'épidémiologie de la toxoplasmose dans ces régions

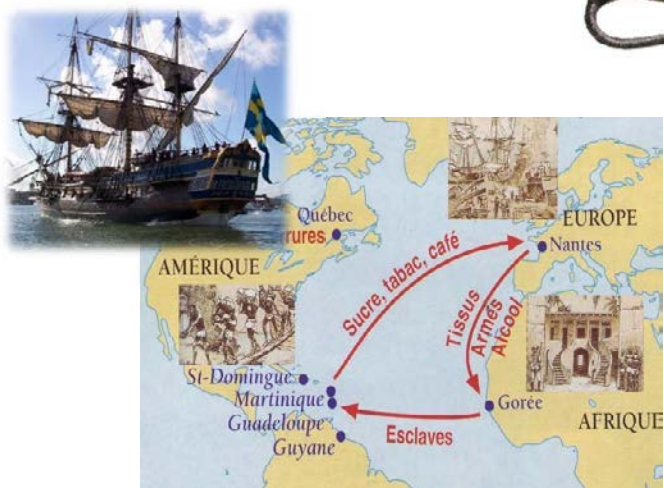


Possibilités d'introgression de *T. gondii* : Le transport maritime



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 *R. rattus* et *M. musculus domesticus* en Afrique de l'Ouest à partir de 1659 (Konecny et al., 2013 et Dalecky et al., 2015) : date de fondation du port de Saint-Louis, Sénégal (Sinou, 1981)



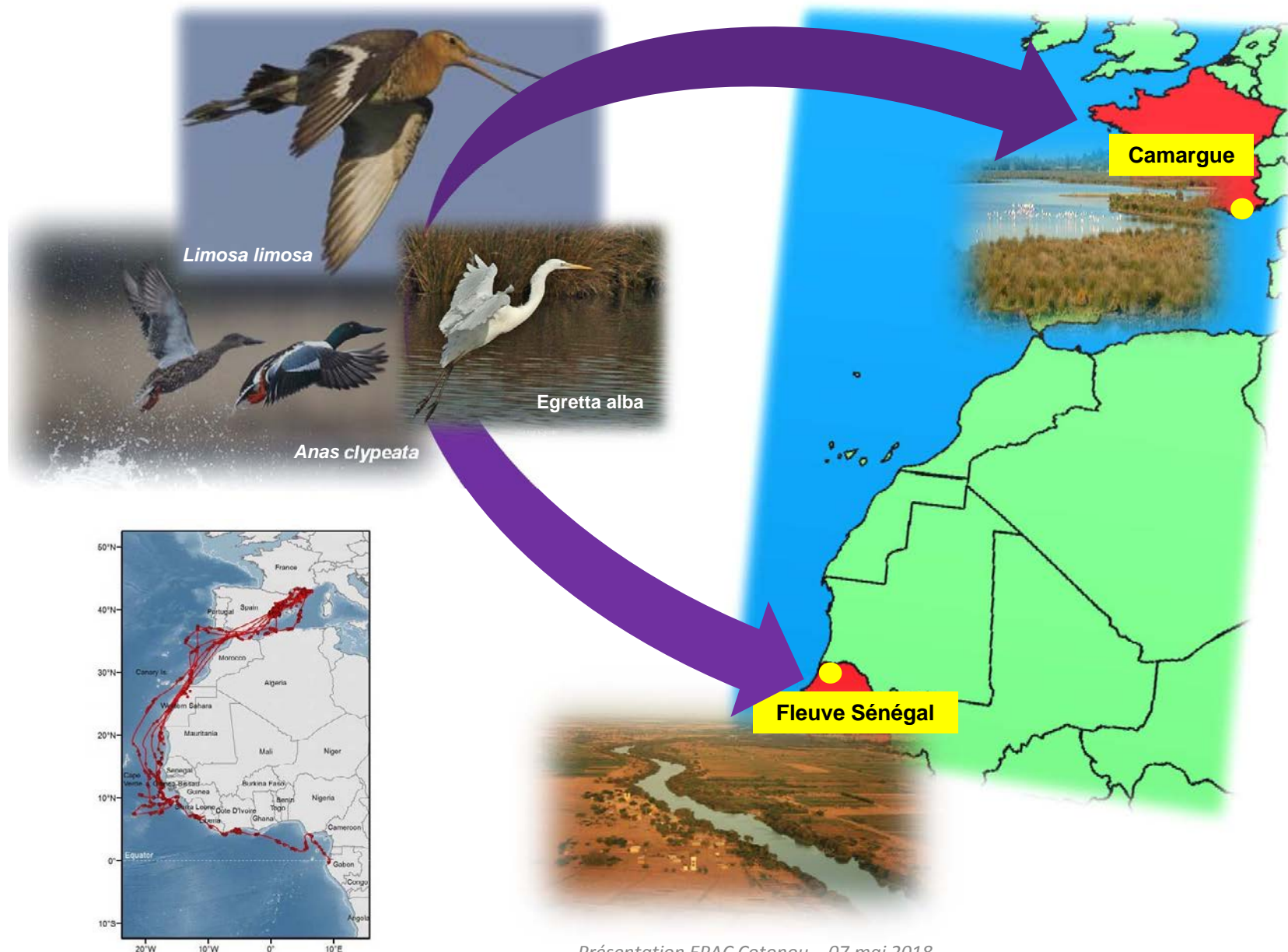
Traite Négrière française (1670-1864)



Voilier breton, 1900

Port de Dakar, Sénégal (fondé en 1866)

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



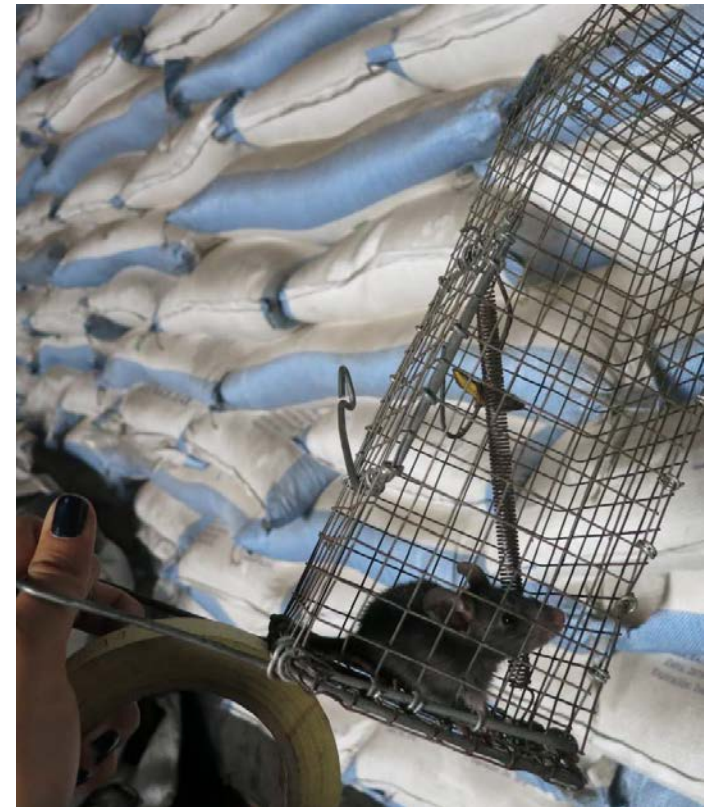
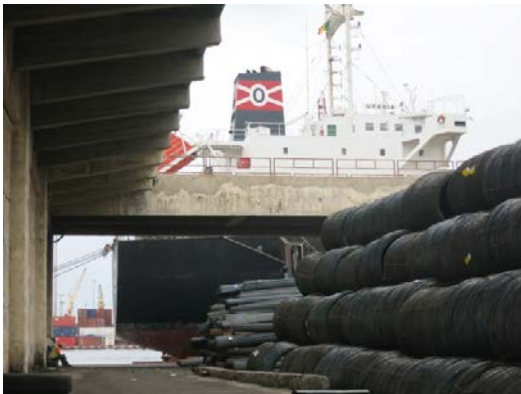
Méthodes d'échantillonnage



Méthodes d'échantillonnage



Part 2: *Toxoplasma gondii* in invasive and native small mammals from Senegal



International port of Dakar, Senegal

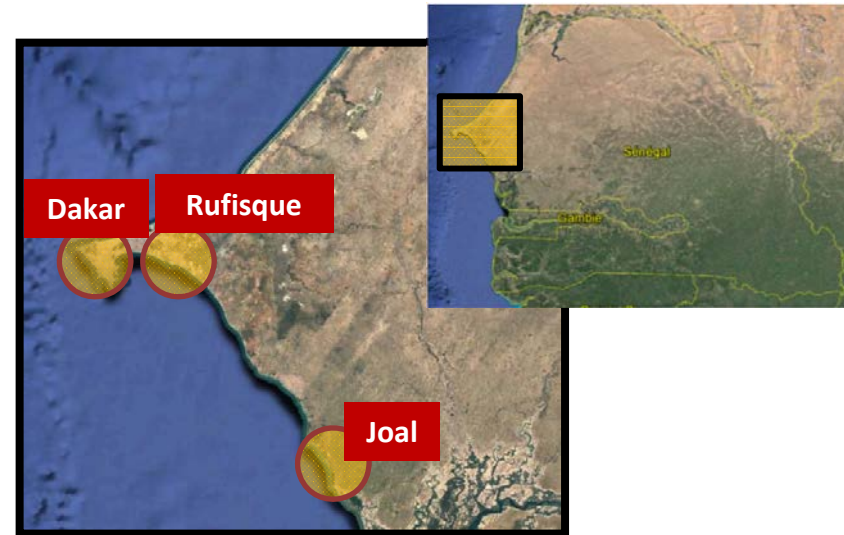
Part 2 : *Toxoplasma gondii* in invasive and native small mammals from Senegal

Study context

841 small mammals from Senegal in 3 coastal regions

CBGP

August 2015 to February 2017
Chancira Project (Joal and Rufisque)
Volunteer C. Stragier (Dakar)



Mus musculus domesticus
(N=681)



Rattus rattus (N=80)



Cricetomys gambianus (N=47)



Crociodura olivieri (N=33)

Serum and brain

A => comparison of **Serology** and **PCR** for identification of chronic *T. gondii* carriers

B => prevalence

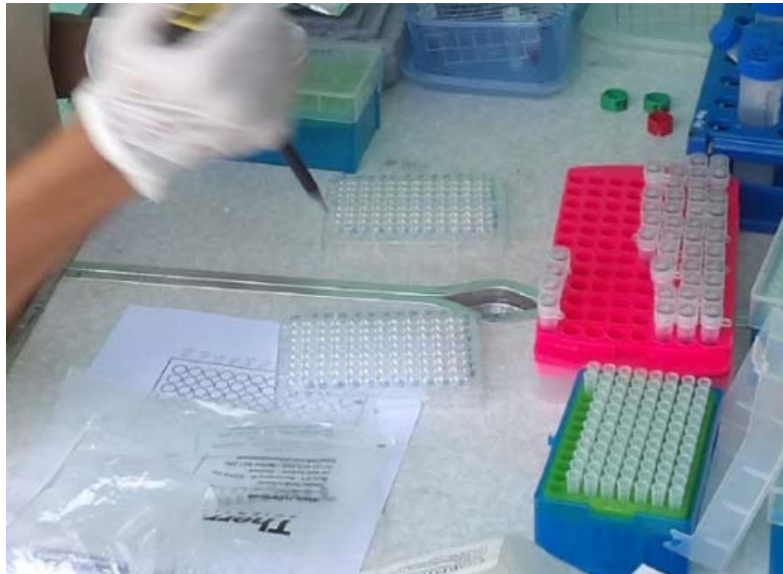
C => genotyping of strains

Part 2 : *Toxoplasma gondii* in invasive and native small mammals from Senegal

A- Serology vs. PCR and prevalence: **Materials & methods**

Modified Agglutination Test (MAT)

Dilutions : 1/20 (positive threshold) ;
1/40 ; 1/100 ; 1/800



PCR for *Hammondia hammondi*,
Hammondia heydorni and *Neospora caninum* for MAT positive samples

Real-time PCR

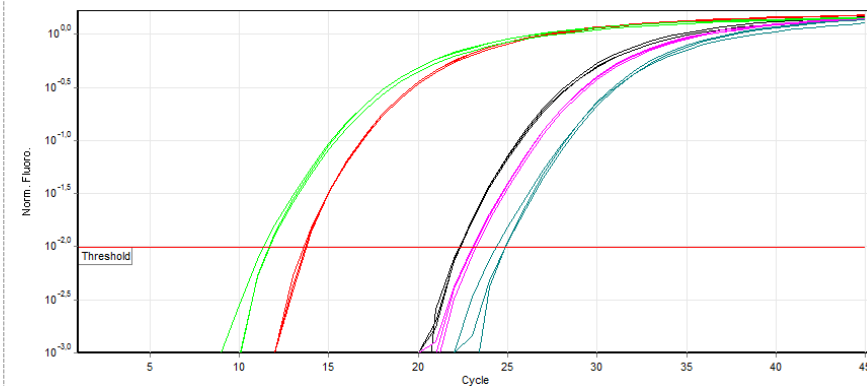
DNA extraction from the brain

TAQMAN probe

Amplified Genomic Region: AF146527

(529 bps, 200 to 300 copies)

in duplicate for each sample



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

PCR for *Hammondia hammondi* and
Hammondia heydorni for PCR positive samples

Part 2 : *Toxoplasma gondii* in invasive and native small mammals from Senegal

A- Serology vs. PCR and prevalence: Results

58 MAT positive individuals (7.1%) => no cross reaction

110 PCR positive individuals (13.1%) => 2 PCR positive for *H. heydorni*

MAT vs qPCR for each species :

<i>M. m. dom</i>		qPCR	
		pos	neg
MAT	pos	8	24
	neg	81	556

<i>R. rattus</i>		qPCR	
		pos	neg
MAT	pos	0	2
	neg	3	73

<i>C. olivieri</i>		qPCR	
		pos	neg
MAT	pos	4	5
	neg	0	18

<i>C. gambianus</i>		qPCR	
		pos	neg
MAT	pos	11	4
	neg	2	30

Part 2 : *Toxoplasma gondii* in invasive and native small mammals from Senegal

A- Serology vs. PCR and prevalence: Results

Species	Seroprevalence (MAT) in %	Molecular prevalence (qPCR) in %	Kappa coefficient (-1 to 1)	Confidence interval (at 95%)	Agreement - according to Landis and Koch -
<i>R. rattus</i> (N=79)	2.6	3.8	-0.03	[-0.062 ; -0.002]	Disagreement
<i>M. m. domesticus</i> (N=681)	4.8	13.1	0.067	[-0.017 ; 0.150]	Poor
<i>C. olivieri</i> (N=34)	35.5	15.1	0.516	[0.181 ; 0.851]	Moderate
<i>C. Gambianus</i> (N=45)	31.9	27.7	0.695	[0.471 ; 0.920]	Good
	P<0.001	P<0.001			

Part 2 : *Toxoplasma gondii* in invasive and native small mammals from Senegal

A- Serology vs. PCR and prevalence: Discussion

Cricetomys gambianus MAT : 31.9% - qPCR : 27.7 %
longer lifespan (more than 10 years) , wider living range, coprophagia



Crocidura olivieri MAT : 35.5% - qPCR : 15.1 %
longer lifespan, continuous contact with soil



Mus musculus domesticus MAT : 4.8% - qPCR : 13.1%
short lifespan



Rattus rattus MAT : 2.6% - qPCR : 3.8%
short lifespan, limited contact with soil



Part 2 : *Toxoplasma gondii* in invasive and native small mammals from Senegal

A- Serology vs. PCR and prevalence: Discussion

Serology (modified agglutination test MAT)

Specificity: cross-reaction with coccidians such as *Neospora* or *Hammondia* (Gondim et al., 2017) – Unspecific results

Sensitivity: absence of Ab in congenital transmission - recent infection - undetectable levels of Ab

Quantitative PCR

Specificity: cross-reaction with *Hammondia* (Schaes et al., 2008)

Sensitivity: tissue-cysts burden in tissues

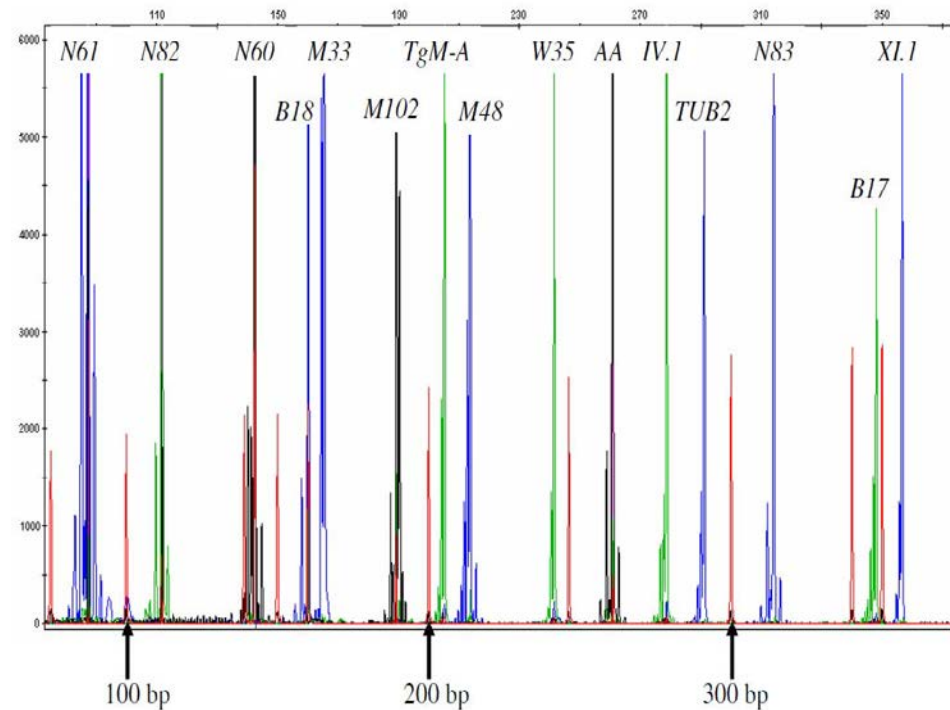
Part 2 : *Toxoplasma gondii* in invasive and native small mammals from Senegal

B- Genetic characterization: Materials & methods

Genotyping technique

Brains for which the
parasite load was
sufficiently high by qPCR
(C_t value ≤ 32)

Analysis of 15
microsatellite markers



Ajzenberg et al., 2010 *Journal Of Clinical Microbiology*

Part 2 : *Toxoplasma gondii* in invasive and native small mammals from Senegal

B- Genetic characterization: Results

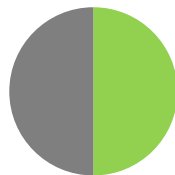
841 small mammals => 110 small mammals PCR + => **12 genotypes**

=> first data on genotypic diversity of *T. gondii* in Senegal fauna

Joal-Fadiouth (n=1)



Rufisque (n=2)

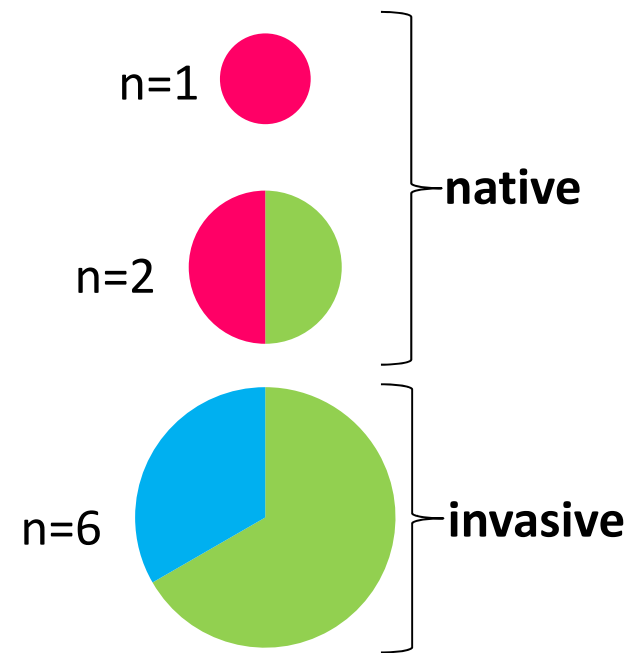
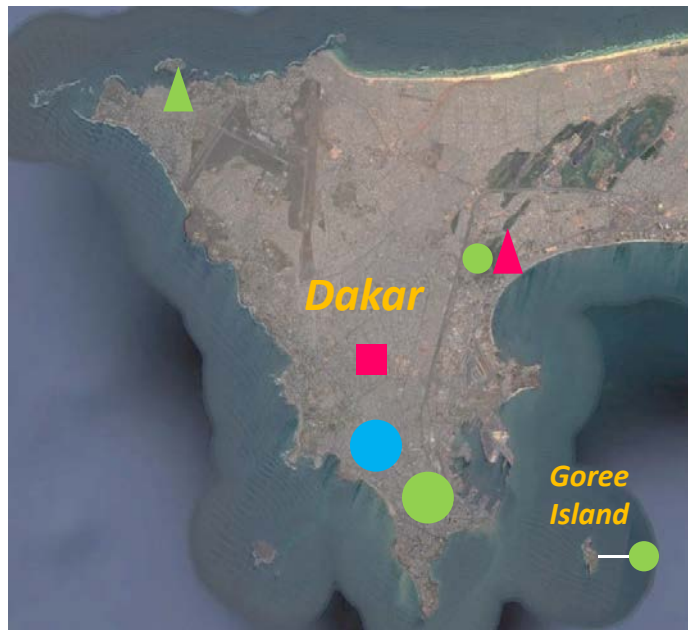


Dakar (n=9)



Part 2 : *Toxoplasma gondii* in invasive and native small mammals from Senegal

B- Genetic characterization: Results



Part 2 : *Toxoplasma gondii* in invasive and native small mammals from Senegal

B- Genetic characterization: Discussion

OPEN ACCESS Freely available online



Additional Haplogroups of *Toxoplasma gondii* out of Africa: Population Structure and Mouse-Virulence of Strains from Gabon

Aurélien Mercier¹, Sébastien Devillard², Barthélémy Ngoubangoye³, Henri Bonnabau⁴, Anne-Laure Bañuls⁵, Patrick Durand⁵, Bettina Salle³, Daniel Ajzenberg^{1,6}, Marie-Laure Dardé^{1,6*}



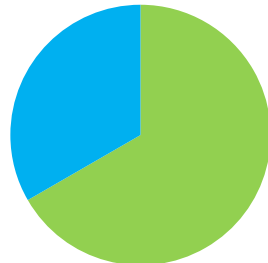
C. olivieri



C. gambianus



M. m. domesticus



Africa 1



Africa 1



Africa 1



Africa 1 lineage lethal in natural populations of house mice?

Part 2 : *Toxoplasma gondii* in invasive and native small mammals from Senegal

Conclusions and perspectives

MAT vs. qPCR

High number of PCR positive *M. m. domesticus* not detected by MAT...

=>Recommend using qPCR instead of MAT in this species

Unavailability of a Gold Standard...

=>Experimental studies on wild small mammals

Prevalence according to species

Consistent with an environmental source of infection (correlation with risk of exposure)

Toxoplasma gondii in invasive vs. native small mammals

Possible partition of *T. gondii* strains by host species (invasive vs. native)

=>Confirm on larger sample

=>Experimental studies on wild small mammals