

Nom de l'équipe et du Directeur : UMR INSERM 1094 Neuroépidémiologie Tropicale / Pr Preux

Précision sur l'encadrement (Nom du ou des encadrants) : Thèse en co-direction Dr A Mercier (UMR INSERM 1094 – Limoges) & Pr ML Dardé (UMR INSERM 1094 – Limoges)

Mots clés : *Toxoplasma gondii* – diversité – introgression génomique – épidémiologie – France – Afrique

Profil et compétences recherchées : Le ou la candidat(e) doit avoir suivi un cursus universitaire dans les sciences de la vie (ex : biologie des organismes), avoir de bonne connaissances en génétique des populations et plus largement en écologie. Des compétences en épidémiologie, parasitologie, biologie moléculaire seraient également appréciées. Il ou elle doit avoir un niveau d'anglais correct et posséder un intérêt particulier pour le milieu tropical, le travail de terrain et une curiosité pour la zoologie (comportement, diversité des espèces).

Titre du sujet : Phénomènes d'introgression dans la diversité génétique de *Toxoplasma gondii* entre la région Nouvelle Aquitaine et l'Afrique de l'Ouest et Centrale : des influences humaines et environnementales.

Description de la problématique de recherche : L'infection par *Toxoplasma gondii* est une zoonose ubiquitaire à l'épidémiologie complexe. Elle peut toucher l'ensemble des espèces homéothermes par plusieurs voies de transmission. La contamination s'effectue principalement par voie orale : soit par ingestion d'oocystes excrétés dans l'environnement par les félidés (hôtes définitifs), soit par consommation de tissus contaminés par des kystes. Chez l'homme, l'infection concerne un quart de la population mondiale. Elle est généralement bénigne chez l'immunocompétent, néanmoins des formes graves, cérébrales ou viscérales, et des atteintes oculaires ont été décrites. Cette variabilité clinique serait liée à l'état immunitaire du patient, mais aussi à des déterminants génétiques de virulence de la souche responsable de l'infection. Au cours des 20 dernières années, une distribution géographique particulière de la diversité génétique dans les populations de ce parasite, dont les déterminants restent à comprendre, a été mise en évidence à travers le monde. Cette structure spatiale se caractérise par une diversité beaucoup plus importante en Amérique du Sud associée à des souches à l'origine de manifestations cliniques plus sévères voire létales en comparaison avec l'Europe et l'Amérique du Nord [1, 2, 3]. La diversité génétique du toxoplasme en Asie et en Afrique demeure très peu explorée. Cependant le peu de données disponibles sur cette parasitose en Afrique de l'Ouest et Centrale suggère une prévalence humaine et animale élevée et une sévérité inhabituelle de l'infection toxoplasmique chez l'homme [4, 5, 6]. Des études montrent une relation entre le génotype infectant et les manifestations cliniques, en particulier en Amérique du Sud [7]. Dans un monde globalisé, comprendre comment la diversité génétique du pathogène se structure et évolue s'impose comme une thématique émergente dans l'étude de l'épidémiologie de la toxoplasmose. Le rôle de facteurs anthropiques dans l'évolution de cette diversité a été montré dans le cadre de travaux de recherche préliminaires de l'équipe. Une étude menée en Guyane française [8] montre que l'anthropisation d'un milieu aboutit à une modification de la diversité génétique locale du toxoplasme. Elle met en évidence la possibilité d'introgressions de souches sauvages (plus virulentes pour l'homme) dans l'environnement anthropisé, entraînant des risques potentiels en santé humaine [3, 8]. À une échelle intercontinentale, des cas de toxoplasmose sévère, inhabituelle chez l'immunocompétent en Europe, ont été identifiés en France métropolitaine suite à la consommation de viandes de cheval importées depuis le continent américain [9, 10]. La globalisation des échanges semble provoquer des situations à risque encore peu explorées et qui constituent des défis nouveaux en santé humaine et animale. La circulation des hôtes qu'elle soit naturelle (migration aviaire), ou anthropique (transport de produits carnés, de végétaux souillés d'oocystes, introduction d'animaux vivants tels que les chats ou les rongeurs) pourrait être source d'introduction de génotypes du toxoplasme potentiellement plus virulent et d'échanges génétiques accrus entre population d'un continent à l'autre. Ces hypothèses évoquées dans la littérature scientifique restent à démontrer.

Thématiques Domaine Contexte : Parasitologie – Travail de terrain – Épidémiologie moléculaire

Objectifs : Le projet a pour objectif général sur les trois ans à venir d'évaluer l'impact des disséminations d'origines anthropique et environnementale des souches de *T. gondii* sur sa diversité génétique et génomique dans les réservoirs animaux et leurs implications en épidémiologie humaine entre la région Nouvelle-Aquitaine et l'Afrique de l'Ouest et Centrale. La Nouvelle Aquitaine partage avec l'Afrique de l'Ouest et Centrale une longue histoire d'échanges commerciaux maritimes depuis le commerce triangulaire au travers des villes portuaires de Bordeaux et de La Rochelle jusqu'à nos jours. Par ailleurs, d'importantes voies migratoires d'oiseaux relient ces régions avec la présence en région Nouvelle Aquitaine de plusieurs sites de nidification d'oiseaux migrateurs venus d'Afrique. L'ampleur de ces échanges et la diversité des flux observés entre ces deux aires géographiques pourraient ainsi favoriser le transfert de génotypes virulents d'une région à l'autre et l'apparition de génotypes recombinants. Dans un contexte d'écologie de la santé, les objectifs spécifiques de ce projet seront : (i) la comparaison de la diversité génétique des populations de toxoplasme chez l'animal en

Nouvelle-Aquitaine et en Afrique de l'Ouest (Sénégal et Bénin) et Centrale (Gabon), (ii) la mise en évidence de flux de gènes et de la reconstitution de l'histoire évolutive du toxoplasme entre ces régions d'étude, (iii) l'évaluation en modèle murin de la virulence des souches isolées et (iv) l'analyse génomique des remaniements (recombinaisons) opérés au sein des génotypes décrits en rapport avec leur expression phénotypique (virulence chez la souris).

Méthode : Les souches de toxoplasmes seront isolées dans les zones qui constituaient des « ponts » d'échanges génétiques entre ces régions, telles que les zones portuaires actuelles et passées (comptoirs coloniaux) et les zones de regroupements d'oiseaux migrateurs. L'isolement du parasite sera réalisé à partir du cœur et/ou du cerveau d'animaux séropositifs domestiques, péridomestiques (rongeurs) et sauvages (petits mammifères et oiseaux), prélevés de façon opportuniste. L'isolement se fera par inoculation à la souris de laboratoire du broyat des organes cibles. Des données existent déjà pour la France (CNR toxoplasmose et CRB *Toxoplasma*) et le Sénégal (travaux d'une thèse qui se termine en 2018), mais seront complétées par des échantillonnages plus spécifiques dans les zones d'intérêts. Le génotypage des souches se fera par une technique d'analyse multilocus du génome basée sur 15 marqueurs microsatellites, mise au point dans notre laboratoire et reconnue à l'international [11]. Les données de génétique des populations seront analysées de manière à estimer les flux de gènes entre les différentes régions et environnements étudiés. Une confrontation avec les données génétiques d'un grand nombre de souches du Portugal, d'Amérique du sud et des Caraïbes disponibles permettra d'évaluer l'impact de ces échanges durant l'époque moderne. Ces travaux seront réalisés à partir d'analyses phylogénétiques sur la base du génome des souches obtenues ou déjà isolées. En parallèle les génotypes obtenus seront confrontés à l'ensemble des données génétiques et cliniques collectées à travers le monde par l'équipe dont celles de patients africains du CNR toxoplasmose. Le séquençage complet [12] des souches obtenues permettra d'explorer les introgressions génomiques et leur impact sur les caractéristiques phénotypiques des souches.

Résultat attendu : Ce projet de thèse apportera des éléments utiles et indispensables à la compréhension de l'éco-épidémiologie de la toxoplasmose dans les différentes régions d'étude (prévalence, identification de réservoirs, circulation du parasite dans l'environnement, facteurs de risque). Dans la mesure du possible, ce travail tendra vers une meilleure appréciation des risques en santé humaine pour les régions d'étude, et ce par la confrontation des données collectées aux données génétiques et cliniques disponibles pour les cas de toxoplasmose chez l'homme.

Références bibliographiques :

- [1] Su C, Khan A, Zhou P, Majumdar D, Ajzenberg D, Dardé ML, Zhu XQ, Ajioka JW, Rosenthal BM, Dubey JP, Sibley LD. Globally diverse *Toxoplasma gondii* isolates comprise six major clades originating from a small number of distinct ancestral lineages. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(15):5844-9.
- [2] Khan A, Jordan C, Muccioli C, Vallochi AL, Rizzo LV, Belfort R Jr, Vitor RW, Silveira C, Sibley LD. Genetic divergence of *Toxoplasma gondii* strains associated with ocular toxoplasmosis, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(6):942-9.
- [3] Carme B, Bissuel F, Ajzenberg D, Bouyne R, Aznar C, Demar M, Bichat S, Louvel D, Bourbigot AM, Peneau C, Neron P, Dardé ML. Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. *J Clin Microbiol*. 2002;40(11):4037-44.
- [4] Mercier A, Devillard S, Ngoubangoye B, Bonnabau H, Bañuls AL, Durand P, Salle B, Ajzenberg D, Dardé ML. Additional haplogroups of *Toxoplasma gondii* out of Africa: population structure and mouse-virulence of strains from Gabon. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4(11):e876.
- [5] Gilbert RE, Dunn DT, Lightman S, Murray PI, Pavesio CE, Gormley PD, Masters J, Parker SP, Stanford MR. Incidence of symptomatic *Toxoplasma* eye disease: aetiology and public health implications. *Epidemiol Infect*. 1999;123(2):283-9.
- [6] Giroud P, Le Gac P, Gaillard JA, Roger F. Existence of toxoplasmosis as a disease of adults, whether as a febrile disease or as a boutonneuse fever type of exanthematous infection; test by inoculation of *Toxoplasma*. *Bull Soc Pathol Exot Filiales*. 1953;46:319-23.
- [7] Rudzinski M, Khoury M, Couto C, Ajzenberg D. Reactivation of ocular toxoplasmosis in non-hispanic persons, Misiones Province, Argentina. *Emerg Infect Dis*. 2016;22(5):912-3.
- [8] Mercier A, Ajzenberg D, Devillard S, Demar MP, de Thoisy B, Bonnabau H, Collinet F, Boukhari R, Blanchet D, Simon S, Carme B, Dardé ML. Human impact on genetic diversity of *Toxoplasma gondii*: example of the anthropized environment from French Guiana. *Infect Genet Evol*. 2011;11(6):1378-87.
- [9] Pomares C, Ajzenberg D, Bornard L, Bernardin G, Hasseine L, Dardé ML, Marty P. Toxoplasmosis and horse meat, France. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(7):1327-8.
- [10] Aroussi A, Vignoles P, Dalmay F, Wimel L, Dardé ML, Mercier A, Ajzenberg D. Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in horse meat from supermarkets in France and performance evaluation of two serological tests. *Parasite*. 2015;22:14.
- [11] Ajzenberg D, Collinet F, Mercier A, Vignoles P, Dardé ML. Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates with 15 microsatellite markers in a single multiplex PCR assay. *J Clin Microbiol*. 2010;48(12):4641-5.
- [12] Lorenzi H, Khan A, Behnke MS, Namasivayam S, Swapna LS, Hadjithomas M, Karamycheva S, Pinney D, Brunk BP, Ajioka JW, Ajzenberg D, Boothroyd JC, Boyle JP, Dardé ML, Diaz-Miranda MA, Dubey JP, Fritz HM, Gennari SM, Gregory BD, Kim K, Saeij JP, Su C, White MW, Zhu XQ, Howe DK, Rosenthal BM, Grigg ME, Parkinson J, Liu L, Kissinger JC, Roos DS, Sibley LD. Local admixture of amplified and diversified secreted pathogenesis determinants shapes mosaic *Toxoplasma gondii* genomes. *Nat Commun*. 2016;7:10147.