

7^{èmes} JOURNEES NATIONALES D'INFECTIOLOGIE

CONGRES DE LA SOCIETE FRANÇAISE DE PARASITOLOGIE

Résistance/susceptibilité dans la trypanosomose humaine africaine

David COURTIN^a, Jacqueline MILET^a, Vincent JAMONNEAU^b, Michel COT^a et André GARCIA^c

^a UR010 Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Paris, France

^b UR177 IRD, Montpellier, France

^c UR010 IRD, Cotonou, Bénin

Susceptibilité/résistance aux maladies infectieuses

Diversité de réponses de l'hôte aux agents infectieux

Infection par une même espèce de microbe

⇒ Signes cliniques variables

⇒ Individus asymptomatiques

Facteurs impliqués

- Hôte
- Microbe
- Environnement

Etude du rôle de l'hôte : études d'association

Homme: Études expérimentales impossibles

Méthodes utilisant des informations épidémiologiques et génétiques
⇒ Rôle des facteurs génétiques dans le contrôle de la maladie

- Etudes d'association (approche gène candidat) : utilisent des SNPs

Etudes d'association : comparer la fq des polymorphismes entre des cas et des témoins



Etudes d'association

Etudes familiales



Etudes Cas Témoins



Avantage: limitation des biais de stratification de populations

Désavantages: difficultés d'échantillonnage

Seul, les parents hétérozygotes sont informatifs

Avantage: échantillonnage facile

Désavantage: possibilité de biais de comparaison

Quelques exemples de gènes impliqués dans le contrôle de maladies infectieuses

Maladie	Gènes (variants)	Effet	Phénotype	Références
SIDA	CCR5 (Deletion de 32 pb) HLA B*35 et Cw*04 IL4 et IL10 (haplotypes) ...	⬇️ risque ➡️ risque ➡️ risque	Infection (VIH-1) Progression (VIH-1) Progression (VIH-1)	Dean <i>et al.</i> , 1996 Carrington <i>et al.</i> , 1999 Vasilescu <i>et al.</i> , 2003
Tuberculose	HLA DRB1*1501 NRAMP1 (haplotype) IL10 (-592A) ...	➡️ risque ➡️ risque ⬇️ risque	Tub. pulmonaire Tub. pulmonaire Tub. pulmonaire	Mehra <i>et al.</i> , 1995 Bellamy <i>et al.</i> , 1999 Shin <i>et al.</i> , 2005
Paludisme	HLA Bw53 TNF-α (-308 AA) TNF-α (-376 A) TNF-α (851, 1304) ...	⬇️ risque ➡️ risque ➡️ risque ➡️ risque	Accès sévère Accès sévère Accès sévère Accès simple	Hill <i>et al.</i> , 1991 Mc Guire <i>et al.</i> , 1994 Knight <i>et al.</i> , 1999 Flori <i>et al.</i> , 2005
THA	?			

Trypanosomose Humaine Africaine (THA) ou maladie du sommeil

- 36 pays
- 60 millions de \uparrow exposées
- 5 millions de \uparrow sous surveillance
- 2002, OMS : 300 000-500 000 estimés
- 2005, OMS : diminution du nbre cas enregistrés



Trypanosomose Humaine Africaine (THA) ou maladie du sommeil

Maladie parasitaire à transmission vectorielle

Parasites: *T.b. gambiense* et *T.b. rhodesiense*

Extracellulaires: sang, lymphe, liquide céphalorachidien

Vecteurs: mouche du genre *Glossina*

Classiquement deux formes cliniques

- f. chronique (*T. b. gambiense*)
- f. aiguë (*T. b. rhodesiense*)



*Trypanosoma
brucei gambiense*



*Trypanosoma
brucei rhodesiense*



Méthodes de lutte

Dépister et traiter
les malades

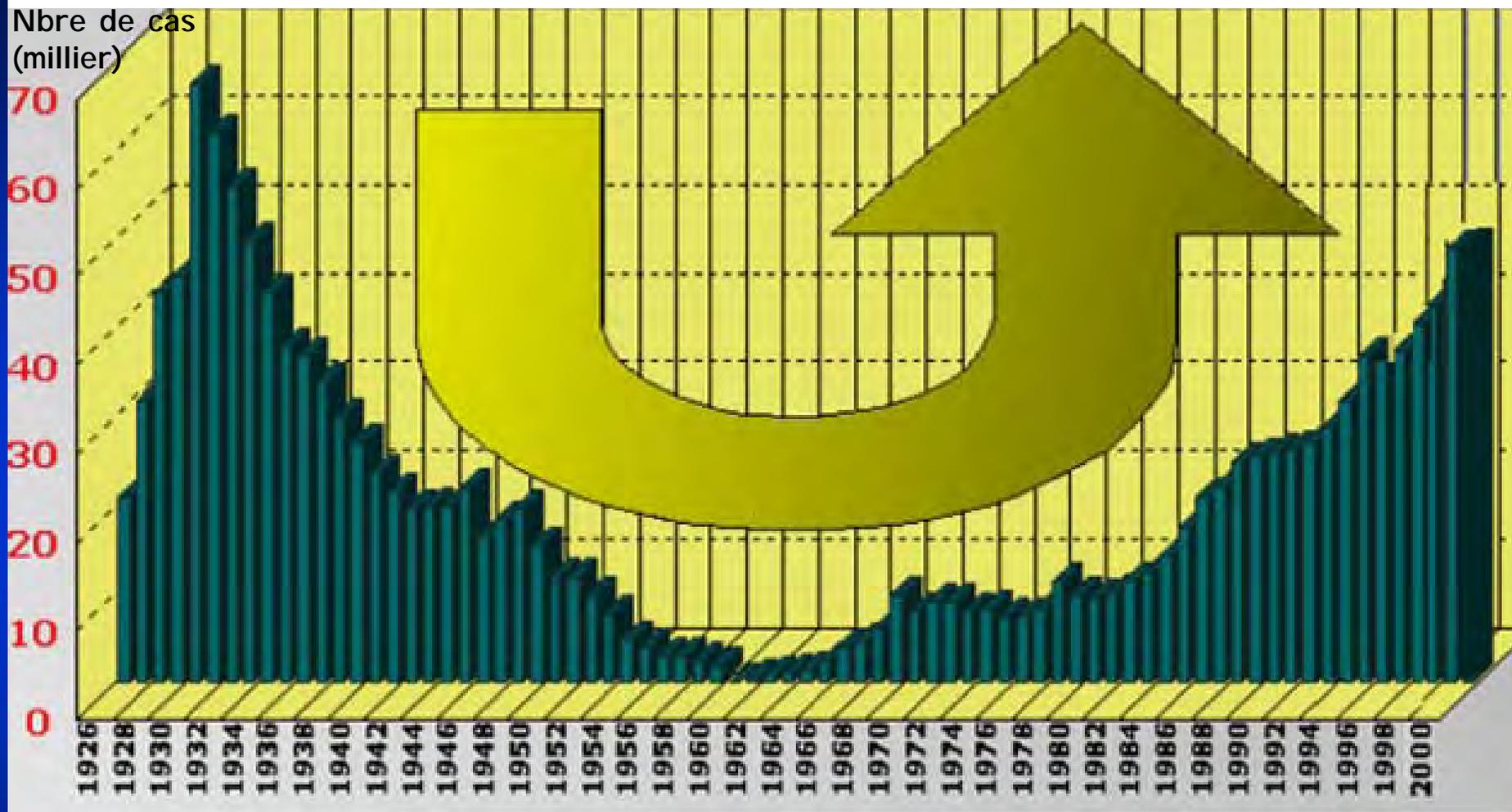
et

Lutte
antivectorielle



Tous les outils pour le contrôle de la maladie existent...

Evolution de la THA en Afrique Centrale



1934

2000

Surveillance? Outils de lutte? Modifications de l'environnement ou du comportement? Ou...

Problématique

Que faire ?

- ✓ ➤ surveillance
- ✓ Améliorer les outils de lutte
- ✓ ➤ les connaissances dans le domaine des interactions entre l'hôte, le parasite, le vecteur et l'environnement.



Diversité de réponses à l'infection par *T. b. gambiense*

Problématique : constatation de terrain

Individus sains

Séropositifs

Malades (*T. b. gambiense*)

⇒ formes classiques

⇒ formes asymptomatiques

⇒ formes aiguës

Diversité de réponses à l'infection

*Rôle du polymorphisme génétique
de l'Homme?*

**Etude de la prédisposition génétique à la THA en Côte
d'Ivoire (Afrique de l'Ouest)**

Zone d'étude et populations

Zones d'étude

1^{ère} étude (2000) **Foyer de Sinfra (Côte d'Ivoire)**



Population d'étude :

- 190 anciens malades et 315 témoins**
- Groupe familial (GF)
(n= 277 (102 cas + parents))
 - Groupe cas témoins (GCT)
(n=225 (88 cas et 137 témoins))

Choix des gènes candidats :

- Etudes expérimentales
- Etudes immunologiques

***TNF- α* et *IL-10* (6 SNPs)**

Détection des polymorphismes :

- Amplification de séquence d'ADN
- Digestion enzymatique

Analyses statistiques

- Analyse d'association sur population générale (GF+GCT, Schaid *et al.*, 1999) : régression logistique conditionnelle

Facteurs de risque : durée d'exposition, âge et le groupe ethnique

- Analyse d'association avec stratification sur facteurs de risque : régression logistique conditionnelle

Résultats

Résultats de l'analyse d'association dans la population totale non stratifiée

Génotypes	Cas (%)	Témoins (%)	Résultats de l'association
<i>IL-10</i>₋₅₉₂ (C/A)			
CC	52 (0,38)	57 (0,24)	
CA	63 (0,45)	123 (0,52)	
AA	37 (0,27)	57 (0,24)	OR _{AA and AC vs. CC} = 0,61; CI ₉₅ [0,39–0,93]; p = 0,02

***TNF- α* ₋₃₀₈ (G/A)**

Tendance (effet à risque AA)

***TNF*₋₂₃₈ G/A**

***TNF*₋₁₀₃₁ T/C**

***TNF*₊₄₈₈ G/A**

***IL10*₋₁₀₈₂ G/A**

Pas d'association

Résultats

Résultats de l'analyse d'association après stratification sur les facteurs de risque

Polymorphismes	Durée d'exposition*			
	≤10 ans		>10 ans	
	OR; [CI95]	P	OR; [CI95]	P
IL-10 ₋₅₉₂ (C/A) AA et AC vs. CC	0,89; [0,41–1,95]	0,79	0,51; [0,29–0,89]	0,011
TNF-α ₋₃₀₈ (G/A) AA vs. GG	9,57; [1,02–90,13]	0,048	0,8; [0,22–3,13]	0,78

* Même tendance observée en stratifiant sur l'âge

Pas d'association après stratification sur le groupe ethnique

Discussion

Individus porteurs $IL-10_{-592 A}$ \Rightarrow risque diminué de THA

$IL-10_{-592}$ et autres maladies infectieuses

- ✓ **SIDA** (Shin *et al.*, 2000; Vasilescu *et al.*, 2003)
- ✓ **Lèpre** (Santos *et al.*, 2002)
- ✓ **Tuberculose** (Shin *et al.*, 2005)

Rôle fonctionnel de $IL-10_{-592 C/A}$

- ✓ **Allèle A diminution de l'expression de IL-10** (Rosenwasser *et al.*, 1997)

Discussion

IL-10 et maladie du sommeil

Homme

- ✓ ➔ [IL-10] chez les malades
 - Plasma (Rhind *et al.*, 1997; Courtin *et al.*, 2006)
 - LCR (Lejon *et al.*, 2002)

Modèles expérimentaux

- ✓ Immunomodulateur (Namangala *et al.*, 2001)
- ✓ Effet protecteur contre les pathologies neuro-inflammatoires (Sternberg *et al.*, 2005)

Discussion

Individus homozygotes mutés $TNF-\alpha_{-308}$ AA \Rightarrow risque augmenté de THA

$TNF-\alpha_{-308}$ et autres maladies parasitaires

- ✓ Paludisme (Mac Guire *et al.*, 1994; Knight *et al.*, 1999)
- ✓ Leishmaniose (Cabrera *et al.*, 1995)
- ✓ Maladie de Chagas (Rodrigues-Perez *et al.*, 2005)

Rôle fonctionnel du $TNF-\alpha_{-308}$ G/A

- ✓ Allèle A augmentation de l'expression du $TNF-\alpha$ (Wilson *et al.*, 1997)

Discussion/Conclusion

TNF- α et maladie du sommeil

Homme

- ✓ ↗ [TNF- α] chez les malades
(Okomo-Assoumou *et al.*, 1995; Rhind *et al.*, 1997; Courtin *et al.*, 2006)
- ✓ ↗ associée avec la sévérité de la THA (Okomo-Assoumou *et al.*, 1995)

Modèles expérimentaux

- ✓ Effet trypanolytique (Lucas *et al.*, 1994)
- ✓ Contrôle sur la croissance des trypanosomes
(Daulouède *et al.*, 2001)

Conclusion

Mise en évidence du rôle de 2 polymorphismes dans la diversité de réponses à l'infection par *T. b. gambiense*

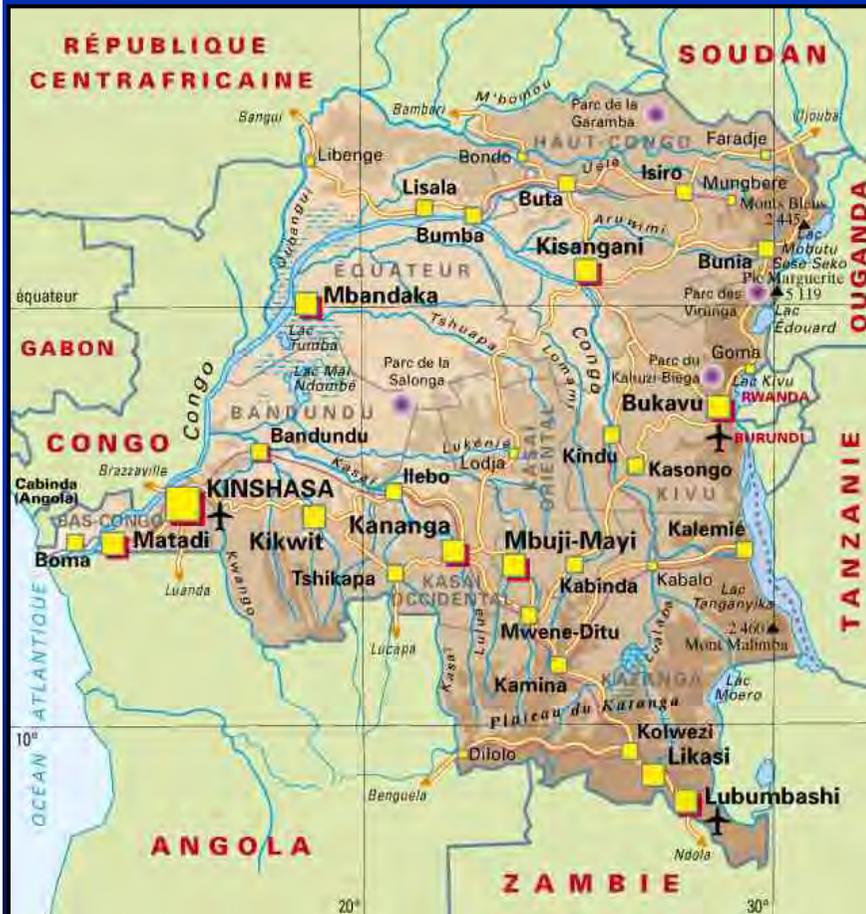
Etude de la prédisposition génétique à la THA en République Démocratique du Congo (Afrique Centrale)

Objectifs: ↪ Confirmation des résultats de l'étude ivoirienne
↪ Nouveaux gènes candidats

Zone d'étude et populations

Zones d'étude

2^{ème} étude (2003)
Foyer de Bandundu (RDC)



Population d'étude :

- groupe familial (n=353)
- 135 cas + parents

Choix des gènes candidats :

- Etudes expérimentales
- Etudes en immunologie de la THA

IL-10, TNF- α , IL-1- α , IL-4, IL-6, IL-8 et IFN- γ

Séquençage des gènes sur 32 individus :

- Recherche des SNPs

Sélection de SNPs : fq allélique > 5% et absence de DL

Génotypage des SNPs sélectionnés :

Amorces et sondes fluorescentes

Analyse statistique

Test de Déséquilibre de Transmission

- Association entre les SNPs et la THA, a été testée en utilisant le logiciel FBAT (Family-based association test)

Résultats

Recherche de SNPs et sélection des SNPs

Gènes	Localisation chromosomique	Nbre de SNPs identifiés	Nombre de SNPs sélectionnés
<i>IL1α</i>	2q14	32	4
<i>IL4</i>	5q31.1	5	3
<i>IL6</i>	7p21	17	3
<i>IL8</i>	4q12-q13	10	3
<i>IL10</i>	1q31-q32	9	2
<i>TNFα</i>	6p21.3	16	3
<i>IFNγ</i>	12q14	10	4
	Total	99	22

Résultats

Analyse d'association : 7 gènes candidats (22 SNPs)

Gène	Identifiant du SNP	Allèle	Fq	Nb F	Valeur observée	Valeur attendue	P	
<i>IL-6</i>	4339	T	0,143	34	10,000	20,750	<u>0.0006*</u>	↘ risque
		C	0,857					
<i>IL-1-α</i>	5417	T	0,194	37	35,000	25,333	0.009	↗ risque
		C	0,806					

Aucune association entre les autres SNPs et la THA (*IL-10*₋₅₉₂ et *TNF-α*₋₃₀₈ inclus)

* Valeur significative avec correction tests multiples

Discussion

Individus porteurs $IL-6_{4339 T} \Rightarrow$ risque diminué de THA

$IL-6_{4339}$ et autres maladies infectieuses

✓ A notre connaissance aucune association

Rôle fonctionnel de $IL-6_{4339}$?

✓ $IL-6_{4339}$ situé sur l'exon 5 de l'IL-6 sur le 201ème aa (synonyme Phe/Phe)

Altération de la stabilité de l'ARN, épissage ?

✓ Déséquilibre de liaison avec un autre SNP fonctionnel?

Discussion

IL-6 et maladie du sommeil

Homme

- ✓ [IL-6] ↗ chez les malades
 - Plasma (Courtin *et al.*, 2006)
 - LCR (Lejon *et al.*, 2002)
- ✓ IL-6 et perméabilité de la barrière hémato-méningée (De Vries *et al.*, 1996)

Modèles expérimentaux

- ✓ Effet protecteur contre les pathologies neuro-inflammatoires (Sternberg *et al.*, 2005)

Discussion

Individus porteurs *IL-1- α* $_{5417 T}$ \Rightarrow tendance risque augmenté de THA

IL-1- α et maladie du sommeil

- ✓ Activation des macrophages au début de l'infection (Sternberg *et al.*, 2004)
- ✓ Recrutement des leucocytes dans le SNC (Ching *et al.*, 2005)
- ✓ IL-1- α et perméabilité de la barrière hémato-méningée (De Vries *et al.*, 1996)

Conclusion

2 SNPs intéressants ayant des effets dans la diversité de réponses à l'infection

Comparaison des deux études

*Résultats de l'étude ivoirienne non confirmés dans l'étude congolaise
(TNF- α et IL-10)*

Absence de répliation : fréquente dans les études d'association

ex: TNF- α ₋₃₀₈

	Présence d'association	Absence d'association
Paludisme	Gambie Mac Guire <i>et al.</i> , 1994	Kenya Knight <i>et al.</i> , 1999
Maladie de Chagas	Mexique Rodrigues-Perez <i>et al.</i> , 2005	Pérou Beraun <i>et al.</i> , 1998

Quelles peuvent être les origines de ces discordances?

Comparaison des deux études

Origines de ces discordances?

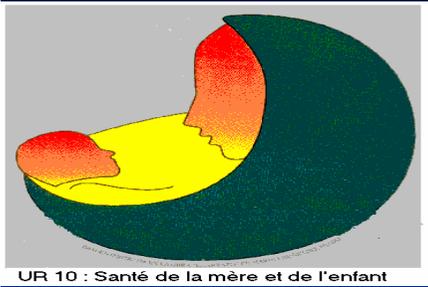
- ✓ Complexité du contrôle génétique du système immunitaire
- ✓ Hétérogénéité phénotypique
- ✓ Facteurs environnementaux et comportementaux
- ✓ Différence de puissance entre les études

Conclusion / perspectives

Identification pour la première fois de polymorphismes génétiques de l'hôte associés à une diversité de réponses à l'infection par *T. b. gambiense*

- ✓ Etudier *IL-6*₄₃₃₉ et *IL-1- α* ₅₄₁₇ dans la population ivoirienne
- ✓ Rôle fonctionnel
- ✓ Etude de nouveaux gènes candidats
- ✓ Analyse de liaison génétique

Améliorer les connaissances des interactions hôte-parasite et potentiellement aider à la mise en place de nouveaux outils de lutte



UR 10 : Santé de la mère et de l'enfant



Remerciements

- UR 010, IRD, Paris, Cotonou
- UR 177, IRD, Montpellier
- Programme National de Lutte contre la THA (Côte d'Ivoire)
- Institut Pierre Richet (Côte d'Ivoire)
- UR 399, INSERM, Marseille
- UR 550, INSERM, Paris
- Programme National de Lutte contre la THA (RDC)
- Centre National de Génotypage, Evry