



**HAL**  
open science

## Caractérisation de la diversité génétique d'*Ehrlichia ruminantium* à l'échelle mondiale par l'approche MLVA et MLST

Nathalie Vachier, Karine Huber, Nadia Haddad, Damien Meyer, Ludovic Pruneau, Angélique Saldana, Héloïse Pilet, Moez Berrich, Rim Bouchouicha, Valérie Pinarello, et al.

### ► To cite this version:

Nathalie Vachier, Karine Huber, Nadia Haddad, Damien Meyer, Ludovic Pruneau, et al.. Caractérisation de la diversité génétique d'*Ehrlichia ruminantium* à l'échelle mondiale par l'approche MLVA et MLST. Colloque Conjoint Parasitologie-Célébration Vet 2011, Nov 2011, Antananarive, Madagascar. 2011. hal-02811250

**HAL Id: hal-02811250**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02811250>**

Submitted on 6 Jun 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.

NATHALIE VACHIER<sup>1</sup>, KARINE HUBER<sup>2</sup>, NADIA HADDAD<sup>3</sup>, DAMIEN F MEYER<sup>3</sup>, LUDOVIC PRUNEAU<sup>3</sup>, ANGELIQUE SALDANA<sup>1</sup>, HELOISE PILET<sup>3</sup>, MOEZ BERRICH<sup>3</sup>, RIM BOUCHOUICHA<sup>3</sup>, VALERIE PINARELLO<sup>3</sup>, CATHERINE CARASCO-LACOMBE<sup>3</sup>, MELANIE MAGAN<sup>3</sup>, HASSANE ADAKAL<sup>4</sup>, HENRI-JEAN BOULOUIS<sup>5</sup>, DOMINIQUE MARTINEZ<sup>2</sup> et THIERRY LEFRANCOIS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIRAD, UMR15 CIRAD, site de Duclos Prise d'Eau, 97170 Petit-Bourg, Guadeloupe; <sup>2</sup>CIRAD, UMR15 CIRAD, Montpellier, France, <sup>3</sup>UPE, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, UMR BIPAR, ENVA, ANSES, UPEC, USC INRA, 94703 Maisons-Alfort, France, <sup>4</sup>CIRDES Laboratoire de Biotechnologie (URBIO), 559, 3-51 Avenue du Gouverneur Louveau, B.P. 454, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

## INTRODUCTION

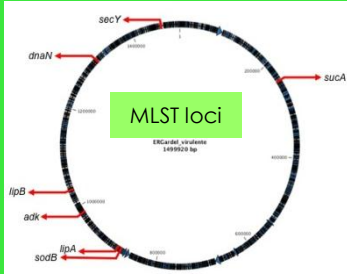
- ✓ *Ehrlichia ruminantium*, ER: agent de la cowdriose, maladie tropicale des ruminants
- ✓ Présente en Afrique Sub-saharienne, dans l'Océan indien & dans la Caraïbe
- ✓ Caractérisation génétique mono-locus: ciblant les gènes *pCS20* & *map-1*
- ✓ Manque d'efficacité des vaccins liés à la grande diversité génétique

## OBJECTIFS: pour le modèle ER

- ✓ Développer des outils d'épidémiologie moléculaire ciblant les zones ayant des séquences en tandem répétées en nombre variable, VNTRs (Variable Number of Tandem Repeats)
- ✓ Caractériser la diversité génétique par MLVA (Multi-Locus VNTR Analysis) & MLST (Multi-Locus Sequence Typing)

## METHODES

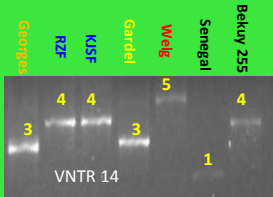
- ✓ Pour typage MLST: 5 gènes *lipA*, *lipB*, *secY*, *sodB* & *sucA*



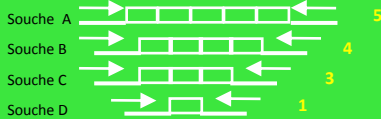
Souches d'ER de référence & échantillons de terrain

PCR nichée ciblant les 5 gènes

Séquençage des produits de PCR & Analyse des séquences



- ✓ Pour typage VNTRs:



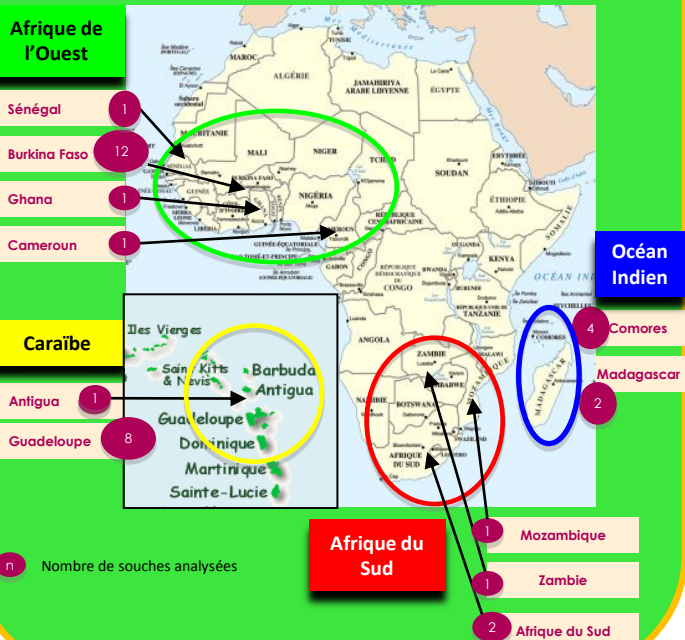
Tailles différentes des produits de PCR

- Dessin des amorces & optimisation des PCR simples & nichées en utilisant les souches ER de référence Gardel et Welgevonden
- Obtention d'un profil allélique avec 7 loci ciblant les VNTRs: MLVA
- Détermination d'un index de discrimination (I.D.) sur 21 souches:

$$I.D. = 1 - \frac{1}{N(N-1)} \sum_{j=1}^S nj(nj-1)$$

$N$  = nbre total de souches  
 $n_j$  = nombre de souches avec même profil allélique

- ✓ Souches d'origines différentes analysées par MLST & MLVA



## DEVELOPPEMENT DES PCR NICHEES CIBLANT LES VNTRs

- ✓ Basés sur les données du génome des souches de Gardel et Welgevonden
- ✓ 21 VNTRs choisis en utilisant la base de données des séquences répétées (<http://minisatellites.u-psud.fr>)

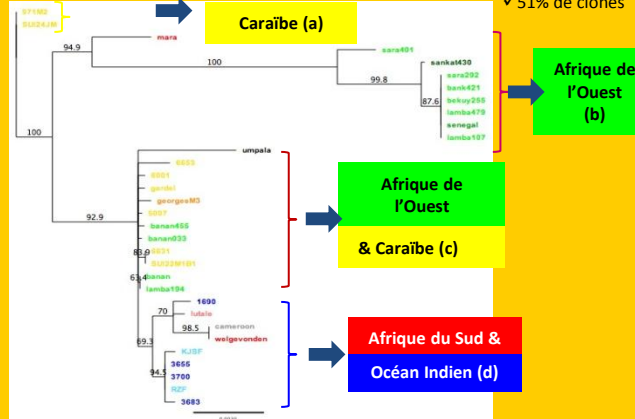
- ✓ 7 PCR nichées développées avec succès sur 21 souches: Utilisation directe sur échantillons de terrain: Tiques & organes

- ✓  $ID_{global} = 0.97$  pour les 7 VNTRs 3 à 7 allèles par VNTR

$0.59 < ID_{individual} < 0.78$   $ID > 0.76$  pour 3 VNTRs

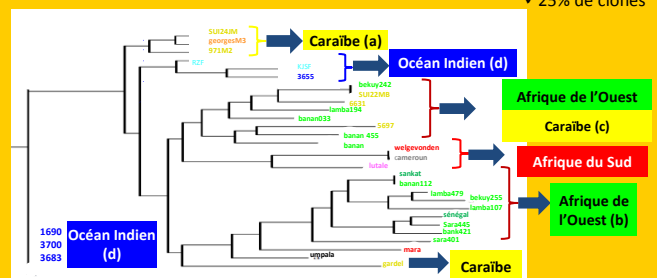
## Caractérisation génétique d'ER par MLST & VNTRs

### Arbre MLST NJ



- ✓ 51% de clones
- ✓ 2 groupes distincts avec souches de la Caraïbe (Guadeloupe) (a) & d'Afrique de l'Ouest (b)
- ✓ 1 groupe défini par des souches d'Afrique de l'Ouest (BF) et de la Caraïbe (Guadeloupe /Antigua)(c)
- ✓ Souches de Madagascar (RZF & KISF) & Comores (1690, 3655, 3700 & 3683) proches des souches d'Afrique du Sud (Welgevonden & Lutale)(d)

### Arbre MLVA NJ sur 7 VNTRs



- ✓ 25% de clones
- ✓ Même groupes pour souches Caraïbe (a), Afrique de l'Ouest (b), Afrique de l'Ouest & Caraïbe(c)
- ✓ Groupes distincts pour souches de l'Océan Indien (d)
- ✓ Forte discrimination au sein des groupes(b) & (c)
- ✓ 2 souches caribéennes appartiennent au groupe (c) par MLST différent par MLVA

## CONCLUSION & PERSPECTIVES

- ✓ Développement d'outils moléculaires pour les études de phylogénie
- ✓ Identification de groupes associés aux origines géographiques
- ✓ Confirmation de l'origine des souches de la Caraïbe en provenance d'Afrique de l'Ouest
- ✓ Identification d'événements génétiques récents par MLVA pour les souches de la Caraïbe & de l'Océan Indien
- ✓ Souches supplémentaires de l'Océan Indien pour confirmer la structuration des souches
- ✓ Etudes en cours à l'échelle régionale: Caraïbe & Océan Indien