



**HAL**  
open science

**Recherche d'agents infectieux circulant dans une communauté d'hôtes, intérêt pour la conservation des PNHs et risque d'émergence de maladies zoonotiques au Centre De Primatologie du CIRMF et dans les sanctuaires de PNHs (au Gabon)rimatologie du CIRMF (Gabon)**

Barthélémy Ngoubangoye

► **To cite this version:**

Barthélémy Ngoubangoye. Recherche d'agents infectieux circulant dans une communauté d'hôtes, intérêt pour la conservation des PNHs et risque d'émergence de maladies zoonotiques au Centre De Primatologie du CIRMF et dans les sanctuaires de PNHs (au Gabon)rimatologie du CIRMF (Gabon). Microbiologie et Parasitologie. Université de Lyon, 2017. Français. NNT : 2017LYSE1112 . tel-01790345

**HAL Id: tel-01790345**

**<https://theses.hal.science/tel-01790345v1>**

Submitted on 12 May 2018

**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.



N°d'ordre NNT : 2017LYSE112

## **THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON**

opérée au sein de  
**l'Université Claude Bernard Lyon 1**

**Ecole Doctorale 341**  
**Evolution, Ecosystèmes, Microbiologie, Modélisation**

**Spécialité de doctorat** : Micro-organismes, interactions, infections

Soutenue publiquement le 13/07/2017, par :

**Barthélémy Ngoubangoye**

---

Recherche d'agents infectieux circulant dans une communauté d'hôtes, intérêt pour la conservation des PNHs et risque d'émergence de maladies zoonotiques au Centre De Primatologie du CIRMF et dans les sanctuaires de PNH au Gabon

---

Devant le jury composé de :

Lina, Gérard      Professeur, UCBL1

**Président**

Charbonnel, Nathalie DR2, INRA / EFPA

**Rapporteur.e**

Vittecoq, Marion CR, Tour de Valat

**Examinatrice**

Pontier, Dominique Professeur, UCBL1

**Directrice de thèse**

Renaud, François DRCE, CNR / IRD

**Co-directeur de thèse**

Leroy, Eric DR1, CIRMF / IRD

**Invité**

## UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université	M. le Professeur Frédéric FLEURY
Président du Conseil Académique	M. le Professeur Hamda BEN HADID
Vice-président du Conseil d'Administration	M. le Professeur Didier REVEL
Vice-président du Conseil Formation et Vie Universitaire	M. le Professeur Philippe CHEVALIER
Vice-président de la Commission Recherche	M. Fabrice VALLÉE
Directrice Générale des Services	Mme Dominique MARCHAND

### COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard	Directeur : M. le Professeur G.RODE
Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux	Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON
Faculté d'Odontologie	Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation	Directeur : M. X. PERROT
Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : Mme la Professeure A-M. SCHOTT

### COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies	Directeur : M. F. DE MARCHI
Département Biologie	Directeur : M. le Professeur F. THEVENARD
Département Chimie Biochimie	Directeur : Mme C. FELIX
Département GEP	Directeur : M. Hassan HAMMOURI
Département Informatique	Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE
Département Mathématiques	Directeur : M. le Professeur G. TOMANOV
Département Mécanique	Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID
Département Physique	Directeur : M. le Professeur J-C PLENET
UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives	Directeur : M. Y.VANPOULLE
Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon	Directeur : M. B. GUIDERDONI
Polytech Lyon	Directeur : M. le Professeur E.PERRIN
Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique	Directeur : M. G. PIGNAULT
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. le Professeur C. VITON
Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education	Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : M. N. LEBOISNE

## Remerciements

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont rendu possible la réalisation de ce travail et à celles qui ont participé de près ou de loin à l'aboutissement de ces travaux de thèse. Mes remerciements vont d'abord à l'endroit du Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF) qui s'est investi dans ma formation depuis le cursus vétérinaire, les spécialisations en expérimentation animale, chirurgie osseuse vétérinaire et ce projet de thèse. Par le CIRMF, je voudrai remercier **Le Docteur Eric Leroy, Directeur Général du CIRMF**, qui a pensé qu'il était bénéfique pour cette institution de couronner mon expertise vétérinaire d'un manteau de chercheur. De façon privilégiée, mes remerciements vont également à l'endroit **de Madame le Professeur Dominique Pontier** pour cette histoire qui est d'abord la vôtre. Alors que je découvrais la recherche et l'écologie, vous m'avez fait confiance et inculqué méthodiquement la démarche et la rigueur scientifique qui ont suscité en moi un profond intérêt pour la recherche. Une thèse entière ne suffira pas pour exprimer l'admiration que j'ai pour vous. « Nous avons commencé dans la Moïse, mais nous pétons la calamine aujourd'hui ». De même, je tiens spécialement à remercier notre Co-Directeur de thèse, **le Docteur François RENAUD**, pour sa confiance et sa disponibilité. Ces années d'apprentissage à vos côtés ont renforcé le goût du travail bien fait et la quête du perpétuel questionnement. Merci pour cette expérience très enrichissante que j'espère se poursuivra.

**Le Professeur Antoine Andremont** et le **Docteur Nathalie Charbonnel** pour leur enthousiasme et la spontanéité avec laquelle ils ont accepté d'être les rapporteurs de cette thèse.

**Le Professeur Gérard Lina, le Docteur Marion Vittecoq et le Docteur Eric Leroy** pour l'honneur qu'ils m'ont témoigné en acceptant de faire partie de ce jury. Profonde reconnaissance.

Parce que toutes les personnes ayant contribué de loin ou de près à ce travail sont des vases d'honneur à mes yeux, je voudrai m'excuser pour des éventuels oublis qui ne témoignent rien d'autre que l'imperfection humaine qui m'habite. Je voudrai remercier :

**Luc et Odile Perino.** Je ne saurai vous remercier tellement votre apport est inestimable. Vous êtes des amis sur qui je peux compter en toute circonstance. J'espère que nous aurons encore beaucoup de choses à vivre, mes chers parents Français.



**Les Docteurs Franck Prugnolle, David Fouchet, Virginie Rougeron, Gaël Darren Maganga, Anne laure Banulus et Monsieur Arsene Mabika** pour votre co-encadrement, votre patience et vos qualités pédagogiques.

**Le Dr Gaël Darren Maganga** pour la formation en virologie et l'amitié sans cesse renouvelée.

**Le Dr Larson Boundenga** avec qui j'ai partagé les couloirs de ce sentier de l'apprentissage. Ne pouvant te remercier à la hauteur de ton soutien, je te remercie de trouver dans la faiblesse de mes écrits, la marque du témoignage de ce qui nous lie.

**Le Dr Illich Mombo** pour ces années partagées dans l'apprentissage et ton amitié.

**Le Dr Augustin Mouinga Ondeme** dit « AMO »; mon complice et ma doublure.

**Le Professeur Jean Bernard LEKANA**, mon cher aîné pour ses conseils pertinents, sa disponibilité, la bonne humeur et « l'héritage ».

**Les Docteurs Thierry Tsoumbou, Vacky Otor Bertony, Martial Gboyou, Geraldine Leyogho.** Parce que ce projet vous a permis de mener vos thèses vétérinaires; il est aussi le vôtre. Merci pour les moments passés dans cette aventure.

**Les Docteurs Anais Herbert, Thierry Tsoumbou, Michel Halbwx et Laurent Dravignet** pour votre soutien lorsque je ne pouvais pas accomplir mes fonctions vétérinaires.

**Céline Arnathau, Cécile Cassan, Nancy Makoundoum** pour votre assistance au laboratoire.

**Monsieur le Professeur Tristan Ferry, Mme Helene Meugnier** pour vos conseils, votre assistance technique.

**Ma famille Lyonnaise (Geoffroy et Nelly Bouanga, Michelle, Estelle) et Mme Marcelle Leroy** pour votre assistance et aide multiforme.

**Eric Willaume, Sarah et le Rotary Club Guyon** pour le soutien multiforme dont j'ai pu bénéficier durant ces travaux.

**Les membres du Centre De Primatologie (CDP), du parc de Bakoumba (LEK) et du Projet de Protection des Gorilles (PPG)** pour votre participation à ce projet et ces années de travail.

**Toutes les nombreuses personnes travaillant au CIRMF** qui m'ont manifesté leur amitié et sympathie. J'espère qu'ils sauront se reconnaître à travers ces mots.

**Mon père et ma mère, mes oncles** à qui j'exprime toute ma reconnaissance pour les sacrifices que vous avez consentis à mon égard tout au long de mes études. Merci pour votre soutien et votre présence permanente.

**Mes tantes, oncles et cousins,** pour le soutien moral et les encouragements durant toutes ces

années. Vos conseils seront toujours les bienvenus. Enfin, de façon singulière, je voudrai remercier :

**Mes chiens Loloutte et Blacky** pour m'avoir pardonné quand j'oubliais de vous nourrir à cause de la thèse. Merci ma louloutte !!

**Dr Bettina Salle:** De la haut, je sais que tu veilles sur moi. Tu me manques !!!

**Ma moitié, mon épouse, Christine Sandra Ngoubangoye née Nse Esseng.** Ton investissement est tellement multiforme que même un GLMM (Modèle Linéaire Généralisé à Effet Mixte) ne pourrait estimer ton apport dans ce travail. Merci pour cette substitution dans les responsabilités du couple quand j'ai dû m'absenter. Ces années de thèse ont eu des hauts et des bas, nul autre que toi n'a vibré au rythme de ces amplitudes. Je t'aime !!

Mes enfants **Bernice, Pasco, Josy, Barthimey, Briseis et « Barthel »**. Pour les cinq (5) premiers, j'espère que ce travail établit le fil conducteur qui tracera le chemin de la réussite dans les différents domaines que vous emprunterez. Pour le dernier, je voudrai te dire « désolé » pour n'avoir pas influencé le cours des événements afin que les choses soient différentes. Par ton expérience, je sais combien la pression parasitaire est une réalité pour les peuples vivant sous l'équateur. **Vraiment désolé, Tu me manques mon fils !!!**

## Résumé

La survie des Primates Non Humains (PNHs) est menacée par les activités humaines et les maladies infectieuses. Pour contribuer à leur conservation au Gabon, plusieurs structures dont les sanctuaires et centres de primatologie ont été mises en place. Cependant, si la gestion des risques sanitaires n'est pas prise en compte et les conditions d'accompagnement réglementées, ces structures qui visent la sauvegarde des PNHs pourraient constituer de véritables carrefours d'échanges de parasites entre espèces de PNH, Homme et/ou microfaune. Ainsi, pour mieux comprendre la nature et l'ampleur du problème, notre travail de thèse avait pour but d'évaluer les risques sanitaires et zoonotiques chez des groupes d'hôtes de deux (2) sanctuaires et d'un (1) centre de primatologie au Sud-est du Gabon. En combinant les études épidémiologiques sur le terrain à la fois chez l'Homme et l'animal, le séquençage, les analyses phylogénétiques ainsi que la modélisation statistique, nos travaux se sont attelés à comprendre (i) la circulation d'agents infectieux entre espèces et (ii) les stratégies parasitaires dans ces nouveaux contextes de communautés créés par les activités humaines. Nous nous sommes intéressés à trois (3) modèles parasitaires, à savoir ; un (1) procaryote (*Staphylococcus aureus*) et deux (2) eucaryotes dont un agent pathogène à transmission vectorielle (*Plasmodium* spp) et un groupe viral à transmission directe ou indirecte (paramyxovirus). Nos résultats révèlent une grande diversité plasmodiale circulant chez les PNHs (9 espèces) et montrent que la spécificité d'hôtes observée jusqu'à présent en milieu naturel est rompue. Si aucun plasmodium simien n'a été trouvé chez l'Homme, le spectre d'hôtes de *P. falciparum* s'agrandit avec sa mise en évidence pour la première fois chez le Mandrill (*Mandrillus sphinx*). Nos résultats révèlent également une large diversité génétique de *Staphylococcus aureus* composée de souches généralistes et spécialistes, la circulation de souches SARM (*S. aureus* résistant à la méticilline) principalement *via* les souches généralistes, entre groupes d'hôtes traités et non traités aux antibiotiques et décrivent quinze (15) nouvelles souches. Pour les paramyxovirus, aucune infection n'a été identifiée mais la question du patron de circulation épidémique ou endémique est posée. En conclusion, cette étude montre que dans ces structures (i) les conditions écologiques de franchissement inter-espèces des parasites sont réunies et (ii) que ces dernières permettent le développement d'infections encore jamais observées en milieu naturel. Ces conditions de promiscuité entre espèces favorisent la sélection d'espèces parasitaires à large spectre d'hôtes (i.e., généralistes) mais aussi l'occurrence de souches bactériennes résistantes à la méticilline qui se propagent *via* la communitarisation des parasites, notamment dans la microfaune interagissant avec les PNHs traités aux antibiotiques ou à partir de l'Homme.

**Mots clefs :** PNHs, conservation, sanctuaires, franchissement de barrière d'espèces, risques sanitaires, risques zoonotiques, antibiotiques, *Plasmodium*, Paramyxovirus, *Staphylococcus aureus*.

## Abstract

The survival of Non-human Primates (NHPs) is threatened by human activities and infectious diseases. To participate in their conservation in Gabon, several facilities among which sanctuaries and the *Centre De Primatologie* (CDP) of the *Centre International de Recherches Médicales de Franceville* (CIRMF) have been created. However, if the management of health risks is not taken into account and the supportive conditions are not regulated, these facilities which aim to preserve NHPs could become real crossroads for the transmission of parasites between NHP species, humans and/or microfauna. Therefore, to better understand the nature and the extent of the problem, our thesis work aimed to evaluate the health and zoonotic risks in groups of hosts from two (2) sanctuaries and one (1) primatology center in the south-east of Gabon. By combining epidemiological studies on the field both in humans and animals, sequencing and phylogenetic analyses as well as statistical modelling, our work aimed to understand (i) the circulation of infectious agents between species and (ii) the parasitic strategies in the new context of these communities created by human activities. We focused on three (3) parasitic models, namely: one (1) prokaryote (*Staphylococcus aureus*) and two (2) eukaryotes among which one pathogenic agent with vectorial transmission (*Plasmodium* spp) and a viral group with direct or indirect transmission (paramyxovirus). Our results highlight a great plasmodial diversity circulating in NHPs (9 species) and show that the specificity of hosts observed up until now in their natural habitat is broken. No simian plasmodium was found in humans, however the specter of hosts of *P. falciparum* grows with the new addition of mandrills (*Mandrillus sphinx*). Our results also reveal a large genetic diversity of *Staphylococcus aureus* composed of general and specialized strains, the circulation of SARM strains (*S. aureus* resistant to methicillin) mainly *via* the general strains, between groups of treated and non-treated hosts to antibiotics. Fifteen (15) new strains are described. Regarding paramyxoviruses, no infection was identified but we raise the question of epidemic or endemic circulation models. To conclude, this study shows that in these facilities (i) the ecological conditions required for inter-species crossing of parasites are gathered and (ii) these conditions allow the development of infections previously never observed in the natural environment. These conditions of promiscuity between species favor the selection of parasitic species with a large specter of hosts (i.e., generalists) but also the occurrence of bacterial strains resistant to methicillin which spread *via* the communitarisation of parasites, especially in microfauna interacting with NHPs treated with antibiotics or humans.

**Key words:** NHPs, conservation, sanctuaries, hosts switching, health risks, zoonotic risks, antibiotics, *Plasmodium*, Paramyxovirus, *Staphylococcus aureus*.

## ABBREVIATIONS

**ADN:** Acide DésoxyriboNucléique  
**AIC:** Akaike Information Criterion  
**AR :** *Avulavirus* et *Rubulavirus*  
**ARN:** Acide RiboNucléique  
**BeIPV:** Belinga Paramyxovirus  
**BSG:** Basiginine  
**CDC:** Centers for Disease Control and Prevention  
**CDP :** Centre De Primatologie  
**CIRMF :** Centre International de Recherches Médicales de Franceville  
**DLST :** Double Locus Sequences types  
**EBOV:** Ebola Virus  
**ECOFAC:** Ecosystème des Forêts d'Afrique Centrale  
**HEV:** Hendra Virus  
**HIV:** Human Immunodeficiency Viruses  
**IgG:** Immunoglobuline G  
**ICTV:** International Committee on Taxonomy of Viruses  
**IUCN:** International Union for Conservation of Nature  
**LCMV:** Lymphocytic ChorioMeningitis Virus  
**MARV:** Marburg Virus (Virus de Marburg)  
**MEGA:** Molecular Evolutionary Genetics Analysis  
**MLG:** Modèle Linéaire Généralisé  
**MLST:** Multi Locus Sequences Types  
**PCR:** Polymérase Chain Réaction  
**PGFV :** Projet Gorille du Fernand Vaz  
**PLFA:** Polymorphisme de Longueur des Fragments Amplifiés  
**PNE :** *Pneumovirus*, et *Metapneumovirus*  
**PNHs :** Primates Non Humains  
**PPG :** Projet de Protection des Gorilles  
**PVL :** Panton-Valentine Leukocidin  
**RDC :** République Démocratique du Congo  
**RH5:** Reticulocyte binding protein Homologue 5  
**RMH:** Respiro-, Morbilli- and Henipaviruses  
**SARM:** Staphylocoque Aureus Resistant à la Meticeline  
**SCC:** Staphylococcal Cassette Chromosome  
**SIV:** Simian Immunodeficiency Viruses  
**UICN :** Union Internationale pour la Conservation de la Nature  
**WCS:** Wildlife Conservation Society  
**WHO:** World Health Organization  
 $\chi^2$  : Chi-squared

## LISTE DE FIGURES

<b>Figure 1:</b> Classification de l'ordre des primates .....	6
<b>Figure 2:</b> Richesse globale, répartition et pourcentage d'espèces de PNH menacées et en disparation dans le monde .....	7
<b>Figure 3 :</b> Illustration de la diversité d'espèces de PNHs du Gabon.....	11
<b>Figure 4:</b> Les Parcs nationaux du Gabon .....	12
<b>Figure 5:</b> Réservoir parasitaire des PNHs : Helminthes, protozoaires, champignons .....	14
<b>Figure 6:</b> Phylogénie des chauves-souris .....	17
<b>Figure 7:</b> Illustration de quelques espèces de chauves-souris du Gabon.....	19
<b>Figure 8 :</b> Classification des rongeurs .....	24
<b>Figure 9:</b> Illustration de la diversité des rongeurs myomorphes du Gabon,.....	27
<b>Figure 10:</b> Le paludisme dans le monde.....	31
<b>Figure 11:</b> Classification des Plasmodium spp ches les primates .....	32
<b>Figure 12:</b> Diversité plasmodiale en circulation chez les primates .....	34
<b>Figure 13:</b> Spécificité hôte-parasites des Plasmodiums du groupe Laverania .....	37
<b>Figure 14:</b> Structure du staphylocoque doré.....	42
<b>Figure 15:</b> Les mécanismes d'évasion immunitaire de la protéine A .....	42
<b>Figure 16:</b> Carte du gène spa .....	44
<b>Figure 17:</b> Illustration de l'acquisition de la cassette SCCmec .....	44
<b>Figure 18:</b> Composition de la cassette SCCmec .....	47
<b>Figure 19:</b> Composition des complexes gène mec A et gène mec ccr .....	48
<b>Figure 20:</b> Répartition des 5 principaux clones communautaires. ....	52
<b>Figure 21:</b> Principaux clones communautaires du S. aureus en Afrique .....	53

<b>Figure 22:</b> Organisation du virion des paramyxovirus. ....	56
<b>Figure 23:</b> Organisation génomique de quelques virus de la famille des Paramyxoviridae. .	57
<b>Figure 24 :</b> Sites d'étude.....	67
<b>Figure 25:</b> Contrôle sanitaire d'un chimpanzé au parc de Lékédi.....	68
<b>Figure 26:</b> Bilan des échanges parasitaires entre les 4 grands groupes d'hôtes étudiés.....	167

## Liste de tableaux

<b>Tableau 1:</b> Diversité des PNHs du Gabon.....	10
<b>Tableau 2:</b> Bilan des espèces de chauves-souris décrites au Gabon .....	20
<b>Tableau 3:</b> Inventaire des rongeurs myomorphes et musaraignes décrit au Gabon .....	27
<b>Tableau 4 :</b> Correspondance MLST (ST) et spa typing de quelques clones majeurs .....	53
<b>Tableau 5 :</b> Classification des Paramyxoviridae .....	55
<b>Tableau 6 :</b> Diversité des paramyxovirus .....	58
<b>Tableau 7:</b> Quelques cas de zoonoses liées aux paramyxovirus enregistrés dans les programmes d'habituation de gorilles de montagne et sanctuaire de PNHs.....	62
<b>Tableau 8:</b> Récapitulatifs des principaux résultats obtenus dans notre travail de thèse.....	149



# TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	1
Première partie Généralités .....	4
Chapitre I : Les modèles hôtes de l'étude.....	6
I. LES PRIMATES .....	6
I.1 CLASSIFICATION ET DISTRIBUTION.....	6
I.2 BIO-ÉCOLOGIE ET RISQUE INFECTIEUX.....	7
I.3 LES PRIMATES NON-HUMAINS DU GABON .....	9
I.4 LES PRIMATES NON-HUMAINS ET LES PARASITES .....	13
II. LES CHIROPTÈRES .....	16
II.1. DÉFINITION ET CLASSIFICATION .....	16
II.2 BIO-ÉCOLOGIE DES CHIROPTÈRES.....	17
II.3: LES CHAUVES-SOURIS DU GABON.....	18
II.4 CHAUVES-SOURIS, RÉSERVOIR D'AGENTS PATHOGÈNES ET SOURCE DE ZONOSE.....	21
III LES RONGEURS MYOMORPHES .....	24
III.1 DÉFINITION ET CLASSIFICATION .....	24
III.2 BIO-ÉCOLOGIE DES RONGEURS MYOMORPHES.....	25
III.3 LES RONGEURS MYOMORPHES ET MUSARAIGNES DU GABON.....	26
III.4 RONGEURS, RÉSERVOIRS ET SOURCES D'AGENTS PATHOGÈNES POUR L'HOMME.....	28
Chapitre II : Les modèles parasites de l'étude.....	30
I. Les Plasmodium spp .....	31
I.1 DÉFINITION ET CLASSIFICATION .....	31
I.2 DIVERSITÉ DU GENRE PLASMODIUM CHEZ NOS MODÈLES D'ÉTUDES.....	32

I.3 FRANCHISSEMENT DE BARRIÈRES INTERSPÉCIFIQUES .....	38
II. Staphylococcus aureus .....	39
II.1 DÉFINITION ET CLASSIFICATION.....	39
II.2 HISTORIQUE .....	40
II.3 ÉCOLOGIE .....	40
II.4 STRUCTURE .....	41
II.5 DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE ET CARACTÉRISATION DE SOUCHES.....	45
II.6 STAPHYLOCOCCUS AUREUS ET NOTRE COMMUNAUTÉ D'HÔTES.....	47
II.7 LES SARM .....	47
II.8 Correspondances MLST et Spa types de quelques clones.....	53
II.9 TRANSFERT INTER-ESPÈCES .....	54
III. LES PARAMYXOVIRUS .....	54
III.1 DÉFINITION ET CLASSIFICATION .....	54
III.2 STRUCTURE ET ORGANISATION DU GÉNOME.....	56
III.3 DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE .....	57
III.4 ECO-EPIDÉMIOLOGIE DES PARAMYXOVIRUS.....	59
III.4 LES PARAMYXOVIRUS ET LES MODÈLES HÔTES DE CETTE ÉTUDE.....	60
III.5 Transmission interspécifique.....	61
Deuxième partie : Approche Méthodologique .....	63
I. PRÉSENTATION DU SUJET DE THÈSE .....	64
I.1 PROBLÉMATIQUE .....	64
I.2 OBJECTIFS DE LA THÈSE .....	65
II. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	66
II.1 AUTORISATION ÉTHIQUE .....	66

II.2 SITES D'ÉTUDE .....	67
II.3 ECHANTILLONNAGE .....	67
II.4 ÉTUDES MOLÉCULAIRES .....	68
II.5 ANALYSES STATISTIQUES.....	70
Troisième partie : Résultats .....	71
Chapitre 1 : Diversité et circulation de Plasmodium spp dans les programmes et projets de conservations de PNHs.....	73
RÉSUMÉ.....	74
Article 1: The host specificity of ape malaria parasites can be broken in confined environments ....	76
Chapitre 2 : Diversité génétique et circulation du Staphylococcus aureus dans les sanctuaires et aires de conservation de PNHs .....	85
RÉSUMÉ.....	86
Article 2: Spread and persistence of methicillin-resistant strains of Staphylococcus aureus: the importance of host spectrum.....	88
Chapitre 3 : Diversité, circulation et persistance de paramyxovirus dans les sanctuaires et aires de conservation de PNHs .....	127
RÉSUMÉ.....	128
Article 3: No evidence of paramyxoviruses circulating in Non-Human Primates sanctuaries and Primatology center in Gabon.....	130
Quatrième partie : Discussion Générale .....	147
I. PLASMODIUM SPP .....	150
I.1 PRÉVALENCE ET DIVERSITÉ PARASITAIRE .....	150
I.2 TRANSMISSION INTER ESPÈCES .....	151
I.3 RISQUE ZONOTIQUE ET RISQUE POUR LA CONSERVATION DES ESPÈCES .....	154
II. STAPHYLOCOCCUS AUREUS.....	155
II.2 TRANSMISSION INTER ESPÈCE.....	160

II.3 RISQUE ZONOTIQUE ET RISQUE POUR LA CONSERVATION DES ESPÈCES....	161
III. ABSENCE D'INFECTION À PARAMYXOVIRUS .....	164
Conclusions et perspectives.....	166
Annexes .....	171
Annexe1: Analyse SNP des infections à <i>Plasmodium falciparum</i> et <i>Plasmodium praefalciparum</i> chez les hôtes inattendus.....	172
Annexe 2: Liste des articles produit en collaboration durant les années de Thèse.....	173
Annexe 3: Communications scientifique.....	175
Références Bibliographiques.....	176

« Pour le cancer du sein par exemple, entre l'apparition de la première cellule cancéreuse et le premier nodule senti par la femme ou son médecin, il se produit 8 ans et 3 mois (...) Le cancer atteint une masse de 1 milliards de cellules (soit un gramme ou 1 cm de diamètre) vers la 8ème année de son évolution c'est alors qu'il devient décelable. Mais ce stade de détection est bien trop éloigné du seuil d'irréversibilité (1 million de cellules).

Enquêtes de santé, 2010 - **André Gernez**

Pour la pérennisation de mon espèce et d'autres PNHs, il est possible d'agir bien avant : c'est le principe de la prévention active pourtant défendu par vous humains»

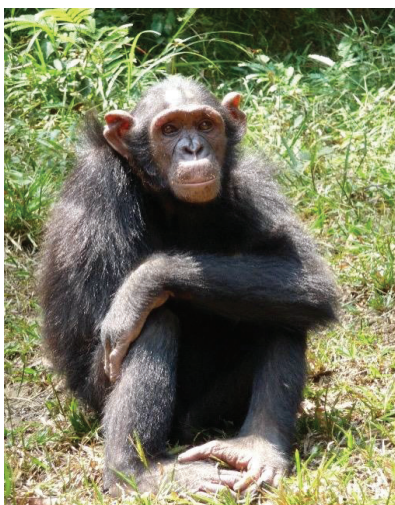


Photo Parc de la Lékédi, 2013.



# INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les maladies infectieuses émergentes, alimentées par les perturbations anthropiques, constituent une grave menace pour la santé mondiale et pour la conservation de la biodiversité (Cleaveland et al., 2002; Daszak et al., 2000; Gilardi et al., 2015). La relation phylogénétique entre l'Homme et les primates non humains (PNHs) couplée avec l'expansion exponentielle des populations et des activités humaines dans les habitats des PNHs, a donné lieu à un potentiel exceptionnel d'échanges d'agents pathogènes (Gillespie et al., 2008) alors que près de 60% des maladies induites par ces agents sont des zoonoses et environ 70% d'entre elles proviennent de la faune sauvage (Taylor et al., 2001a). Bien que de nombreux agents pathogènes circulent de façon asymptomatique dans les populations de Grands Singes, une partie de ces agents ont une action délétère sur la santé des individus lorsque d'autres conduisent à des taux de mortalité élevés au point de mettre en danger les espèces (Gillespie et al., 2008; Leendertz et al., 2006). En effet, si la perte d'habitat et le braconnage sont des menaces reconnues pour la survie des Grands Singes (Gilardi et al., 2015; Goldberg et al., 2008a), les maladies infectieuses se sont imposées comme la troisième cause du défi qu'est la conservation de la biodiversité faunique. A titre d'exemple, le classement du Gorille des plaines de l'Ouest (*Gorilla gorilla gorilla*) dans la liste rouge des espèces menacées de l'UICN<sup>1</sup> (IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.4. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)) est la conséquence de l'hécatombe des Grands Singes causées par la souche Zaïre du virus Ebola ; des milliers de chimpanzés communs (*Pan troglodytes troglodytes*) et de gorilles de plaine en Afrique centrale ont en effet été décimés (Bermejo et al., 2006; Genton et al., 2012; Leroy et al., 2004; Walsh et al., 2003).

Alors que le rapprochement entre l'Homme et les PNHs n'a jamais été aussi bien promu à travers le tourisme, les activités scientifiques ou les programmes de conservation qui favorisent la promiscuité et les contacts répétés entre ces espèces, le risque de transmission de nouveaux agents pathogènes humains et de nouvelles maladies aux Grands Singes sauvages immunologiquement naïfs devient très préoccupant (Calvignac-Spencer et al., 2012) du fait de leur proximité phylogénétique (Calvignac-Spencer et al., 2012). En effet, même si le tourisme et la recherche ont indéniablement contribué à la conservation des Grands Singes *via* leur valeur scientifique et économique et que les programmes de conservation à travers les sanctuaires œuvrent pour la protection de la biodiversité faunique,

---

<sup>1</sup> UICN=Union International pour la conservation de la nature

ces activités peuvent avoir des conséquences inattendues sur la santé et la survie des Grands Singes en facilitant notamment les échanges d'agents infectieux (**Macfie and Williamson, 2010**).

De climat chaud et humide, le Gabon est un pays d'Afrique centrale doté d'une faune et flore importante qui ont justifié la création d'un réseau de 13 Parcs Nationaux en 2002 (<http://www.parcsgabon.org>). Ainsi, en concédant près de 11% de son territoire, le Gabon souhaite, *via* la conservation, le développement de l'écotourisme basé sur une gestion durable de ses écosystèmes. Cependant, même si le taux de déforestation est relativement faible (**Hansen et al., 2008; Tchatchou et al., 2015**), la pression du braconnage reste importante (**Bachand, 2013; Dilger et al., 2013**) au point de justifier la mise en place de quelques aires de protection et de conservation appelées "sanctuaires"<sup>2</sup> tels que le Parc de la Lékédi, le Projet de Protection des Gorilles ou le Centre De Primatologie (CDP) du CIRMF (Centre International de Recherche sur les Maladies, Franceville) au Sud-Est du Gabon. Cependant, ces sanctuaires, qui constituent une solution pour les orphelins de PNHs, peuvent être à l'origine d'un rapprochement spatial d'espèces ne cohabitant pas en milieu naturel (exemple des gorilles et chimpanzés, les seconds pouvant être prédateurs des premiers). De même, en réunissant autant d'individus sur un espace limité, les sanctuaires créent de grands groupes à forte densité chez plusieurs espèces et permettent des contacts étroits et une promiscuité non seulement entre différentes espèces de PNHs, mais aussi entre l'Homme et l'animal. Or il est connu que les fortes densités de population, le degré de promiscuité et la fréquence des contacts entre individus (par exemple entre soigneurs et PNHs dans les protocoles d'habituation à but touristique) sont autant de facteurs qui favorisent la circulation et la transmission de pathogènes (**Altizer et al., 2003; Smith et al., 2009**). Ainsi, ce qui apparaissait comme étant une solution pour la préservation et la protection des orphelins et par ricochet des espèces, pourrait s'avérer être un problème de santé publique. En effet, des cas d'échanges de parasites mortels entre Homme et PNHs ont déjà été rapportés avec des conséquences cliniques non négligeables. A titre d'exemple, nous pouvons citer les cas de décès d'un gorille suite à une co-infection avec une souche de *Staphylococcus aureus* humaine (**Nagel et al., 2013**), l'infection et l'affection mortelle de chimpanzés habitués (pour les visites touristiques) par des paramyxovirus humain en Côte d'Ivoire (**Köndgen et al.,**

---

<sup>2</sup> **Sanctuaires** : ils désignent ici les programmes qui prennent en charge les orphelins de primates non humains issus du braconnage. Dans ces programmes, ces orphelins sont nourris, soignés et resocialisés en vue de leur réintroduction.



2008) ou encore en Uganda où il a été rapporté un échange de bactéries gastro-intestinales entre l'Homme et les chimpanzés (Goldberg et al., 2007). Il apparaît donc important et crucial que les questions liées à la circulation des pathogènes au sein des différentes espèces hôtes, à l'adaptation des agents infectieux et aux risques infectieux soient prises en compte dans les programmes de conservation et dans la mise en place des sanctuaires de différentes espèces animales.

Le Centre De Primatologie (CDP) du CIRMF, le Parc de la Lékédi et le Projet de Protection des Gorilles représentent des environnements exceptionnels de par leur diversité communautaire (Hommes, Primates Non Humains, chauves-souris, micromammifères) et leur mode de fonctionnement qui favorise la promiscuité et les contacts directs (PNHs & soigneurs) ou indirects entre espèces (soigneurs ou PNHs & chauves-souris et/ou micromammifères ; chauves-souris & micromammifères). A travers un système « modèle » d'interaction hôte-parasite incluant trois groupes d'espèces hôtes (Primates, micromammifères et chauves-souris) et trois types d'agents infectieux (un protozoaire : *Plasmodium* spp ; une bactérie : *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré) et une famille de virus : les paramyxovirus), nous proposons d'apporter notre contribution pour comprendre :

- (i) la circulation d'agents infectieux au sein des communautés d'espèces dans les conditions de sanctuaires et autres systèmes de conservation de la faune représentés par nos 3 sites d'études,
- (ii) les stratégies parasitaires dans ces nouveaux contextes de communautés créés par les activités humaines.

Les enseignements tirés de ce modèle d'étude pourront être transposés à des systèmes plus complexes (parcs, programmes de conservation nationaux) pour une meilleure prise en compte et gestion du risque sanitaire dans le « management » et la médecine de la conservation.

Avant d'aborder ces questions dans la seconde partie de notre travail, nous proposons dans un premier temps de présenter à travers une synthèse bibliographique nommée « Généralités », nos modèles d'études, à savoir : les modèles hôtes (Primates, micromammifères et chauves-souris) et les modèles parasites (*Plasmodium* spp, *Staphylocoque aureus* et les paramyxovirus).



**Première partie :  
Généralités**

# Chapitre I :

## Les modèles hôtes de l'étude



# I. LES PRIMATES

## I.1 CLASSIFICATION ET DISTRIBUTION

L'ordre de primates constitue un groupe des mammifères majoritairement arboricole principalement rencontré dans les forêts subtropicales (Bouhallier and Berge, 2006; Estrada et al., 2017). Ils se caractérisent par des yeux situés en avant de la face, des membres à cinq doigts avec des ongles aplatis selon les espèces, une main à pouce opposable permettant la préhension (Hartwig, 2002; Maiolino et al., 2011; Pouydebat et al., 2006), une gestation relativement longue et un cerveau généralement bien développé traduisant un développement énorme de la capacité crânienne par rapport au poids corporel (Dawson et al., 2000; Honacki et al., 1982; Wilson and Reeder, 2005). Initialement basée sur l'analyse des caractères morphologiques, anatomiques, physiologiques et comportementales (Carroll, 2003; Kaessmann et al., 2001; Sussman, 1991), la classification des primates a été plusieurs fois révisée à la lumière des outils moléculaires. Ainsi, grâce aux analyses phylogénétiques qui permettent de retracer les liens de parentés entre organismes, l'ordre de primates est aujourd'hui subdivisé en deux sous-ordres : les *Strepsirhini* (Prosimiens) et les *Haplorhini* (Perelman et al., 2011) (Figure 1).

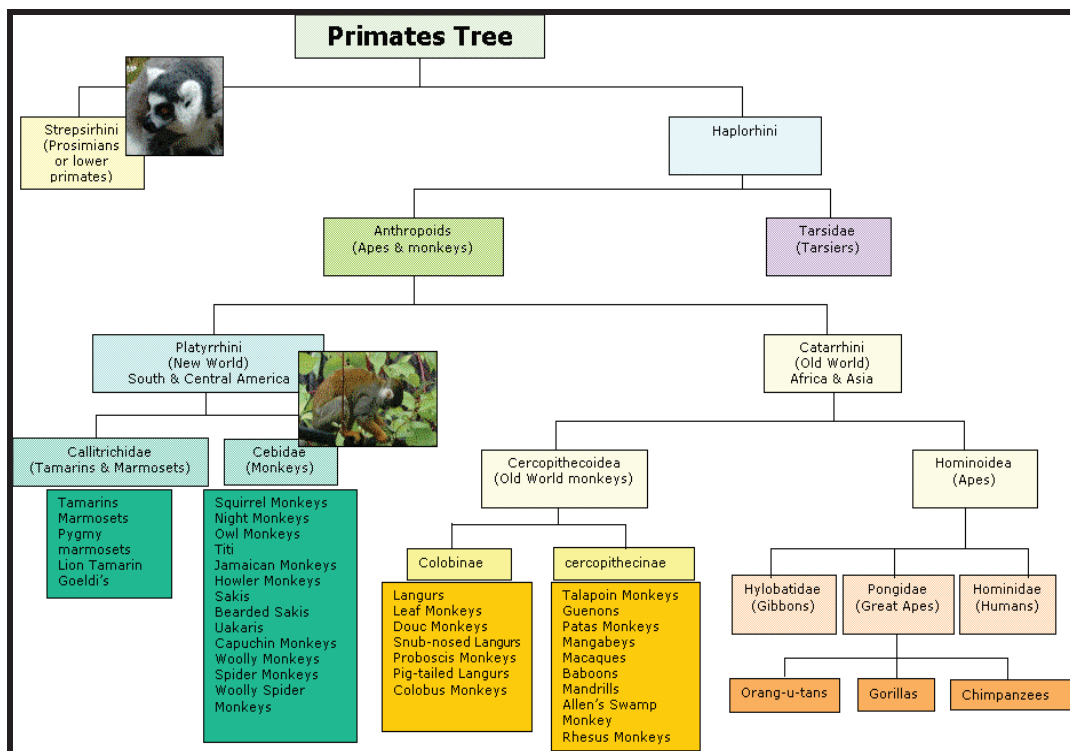
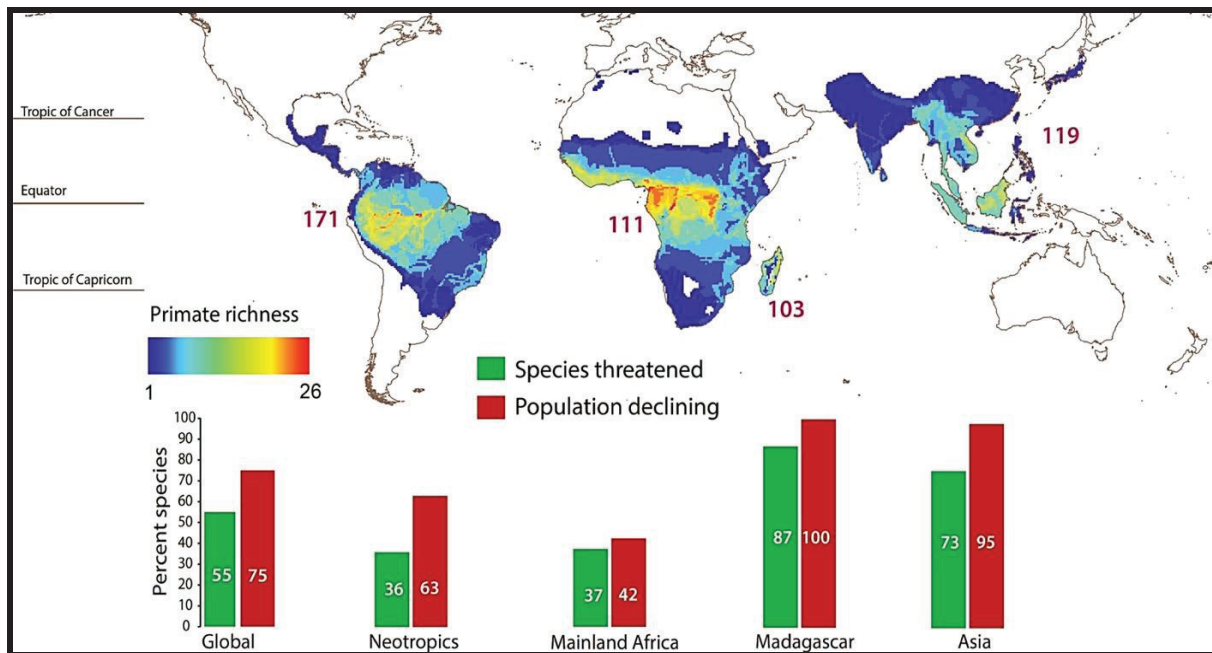


Figure 1: classification de l'ordre des primates (<http://www.easytorecall.com>)

Ces deux sous-ordre (*Strepsirhini* et *Haplorhini*) comprennent près d’une cinquantaine de genres répartie en plusieurs familles, comptant au total près de 200 espèces dont l’Homme (Lorenz et al., 2005; Wilson and Reeder, 2005). Excepté l’Homme, les autres espèces de primates dit Primates Non Humain (PNHs) ne sont réparties que dans les régions intertropicales d’Afrique, d’Amérique et d’Asie comme illustré **figure 2**. Cependant, beaucoup d’espèces sont en déclin et d’autres menacées d’extinction (Estrada et al., 2017; IUCN, 2014) (Figure 2).



**Figure 2:** Richesse globale (Nombre d’espèces dans chaque région, en rouge), répartition et pourcentage d’espèces de PNH menacées et en disparation dans le monde (en vert) (Estrada et al., 2017)

## I.2 BIO-ÉCOLOGIE ET RISQUE INFECTIEUX

### I.2.1 Socialité, densité, territorialité

La vie en groupe social présente des avantages comme la protection vis-à-vis des prédateurs (Mooring and Hart, 1992). Elle représente aussi un coût notamment en termes de risque infectieux. En effet, la taille des groupes sociaux, la densité de population, le degré de promiscuité entre individus et la fréquence des contacts au sein et entre groupes sont autant de facteurs qui affectent la transmission et la persistance<sup>3</sup> des pathogènes dans une population donnée (Nunn and Altizer, 2003). Une méta-analyse portant sur diverses données de PNHs a

<sup>3</sup> Persistance : C’est le fait pour un pathogène de demeurer de façon continue dans une population

montré que le facteur « taille de groupe » avait un effet positif significatif sur la prévalence du paludisme (**Nunn and Heymann, 2005**). Une corrélation positive entre persistance parasitaire et densité de la population a été également mise en évidence (**Nunn and Altizer, 2003**). Chez les primates, les espèces sociales seraient exposées à une pression parasitaire d'autant plus importante que la taille du groupe social, la densité et le nombre de contacts sont élevés (**Côté and Poulinb, 1995; Majolo et al., 2008; Nunn and Altizer, 2003**).

La relation entre parasites et taille de la population doit être nuancée par le mode de transmission des parasites. Selon (**Côté and Poulinb, 1995**), la persistance d'un agent pathogène peut également être modulé par son mode de transmission. On distingue les agents pathogènes à transmission densité-dépendante, dont la circulation est effectivement corrélée à la densité de la population hôte, et les agents à transmission fréquence-dépendante (exemple des maladies sexuellement transmissibles) dont la prévalence n'est pas dépendante de la densité d'hôtes mais du taux de contact entre hôtes (**Eadie and Fryxell, 1992; Smith et al., 2009**). Bien que la circulation des agents pathogènes « densité-dépendant » soit favorisée par une grande taille de population hôte, cette relation n'est pas toujours linéaire et peut être modulée par d'autres effets comme la saison (**Smith et al., 2009**). La circulation des agents pathogènes « fréquence-dépendant » va être favorisée par la fréquence de contact à risque (**Loehle, 1995; Thomas et al., 2012**).

Par ailleurs, une autre méta-analyse a montré une corrélation positive entre la territorialité et diversité parasitaire chez différentes espèces de primates (**Nunn and Dokey, 2006**). Des résultats similaires sont obtenus par **Ezenwa (2004)** établissent une corrélation positive entre surexploitation du domaine vital et diversité parasitaire. En effet, l'occupation et l'exploitation permanente d'un site peuvent altérer les qualités sanitaires du site ou des ressources (eau, aliments) et favoriser la persistance des parasites (**Nunn and Dokey, 2006**).

### **I.2.2 Structure sociale**

Certaines classes d'individus, du fait de leur statut social, sont plus fréquemment au contact d'un parasite que d'autres. **Roussel et al. (2015)** ont mis en évidence deux voies de transmission (morsure vs sexuelle) pour le virus d'immunodéficience simienne (SIV), mais la transmission par contact agressif (morsures) est largement prédominante dans la population de Mandrill (*Mandrillus sphenx*) étudiée : elle intervient principalement entre mâles, bien plus agressifs que les femelles, et très secondairement entre mâles et femelles. En effet, pour accéder aux femelles, les mâles s'engagent dans des interactions agressives qui favorisent la transmission du SIV par morsure. Par ailleurs, chez de nombreuses espèces de PNHs, les

mâles dominants impliqués dans la défense du territoire ou la sexualité sont plus exposés aux infections parasitaires que les autres membres du groupe (**Habig and Archie, 2015; Hausfater and Watson, 1976; Poulin, 1996**). Une corrélation positive entre le taux de stéroïdes (testostérone et cortisol) et la diversité parasitaire a été mise en évidence chez les chimpanzés mâles (**Muehlenbein et al., 2005; Muehlenbein and Watts, 2010**). Les corticoïdes, synthétisés suite à un stress social (compétition, agression), favorisent la sensibilité aux agents pathogènes par leurs effets immunodépresseurs (**Muehlenbein and Watts, 2010**). L'hypothèse proposée par **Zahavi (1975)** est que les mâles investiraient plus dans leur succès reproducteur *via* le développement des caractères sexuels secondaires qui seraient très coûteux en termes d'énergie, alors que les femelles investiraient dans les fonctions immunes. Ce choix d'allocation de ressources vers la reproduction chez les mâles *via* le développement des caractères sexuels secondaires (théorie d'Hamilton et Zuk) (**Hamilton and Zuk, 1982**) se fait aux dépens du développement de l'immunité : c'est le principe du handicap d'immunocompétence (**Folstad and Karter, 1992; Sheldon and Verhulst, 1996**).

### **I.2.3 Système d'appariement**

Chez les PNHs, les systèmes d'accouplement vont de la monogamie stricte chez les gibbons (Hylobatidae) aux relations multimâles/multifemelles chez les chimpanzés (*Pan troglodytes*), les bonobos (*Pan paniscus*) ou les mandrills (**Rowe, 1996**). L'accouplement permet la circulation d'agents pathogènes à transmission sexuelle ou par contact (**Kokko et al., 2002; Sherman et al., 1988**). A l'aide d'un modèle mathématique, **Kokko et al. (2002)** montrent que la polygamie est un facteur de risque dans la transmission des maladies sexuellement transmissibles (**Kokko et al., 2002**). **Thrall et al. (2000)** aboutissent à la même conclusion : chez les espèces polygames, les sujets à fort succès reproducteur sont soumis à un risque infectieux plus important.

## **I.3 LES PRIMATES NON-HUMAINS DU GABON**

### **I.3.1 Diversité**

Les deux (2) sous-ordres de primates sont représentés au Gabon par une diversité d'espèces retrouvées dans d'autres régions (e.g., Gorilles, chimpanzés) et une espèce endémique, à savoir : le Cercopithèque à queue de soleil (*Cercopithecus solatus*) (**Figure 3.d**) découverte en 1983 (**Harrison, 1988**).

### I.3.1.1 Le sous ordre des *Strepsirrhini* (Prosimiens)

Ce sous-ordre est représenté au Gabon par la famille des *Galagidae* avec le genre *Galago* qui comprend cinq (5) espèces (*Galagoides allensis*, *Galagoides demidoffi*, *Galagoides thomiasi*, *Galagoides elegantus*, *Galagoides dwarty* (**Charles-Dominique, 1977; Jean Wickings et al., 1998**) et la famille de *Lorisidae* avec le genre *Perodicticus* représenté par *Perodicticus potto* communément appelé Potto de Bosman (**Pimley et al., 2005**) qui n'a été décrit qu'au Nord-Est du pays (**Charles-Dominique, 1974; Oates, 1984**).

### I.3.1.2 Le sous ordre des *Haplorhini*

Il est représenté au Gabon par deux familles :

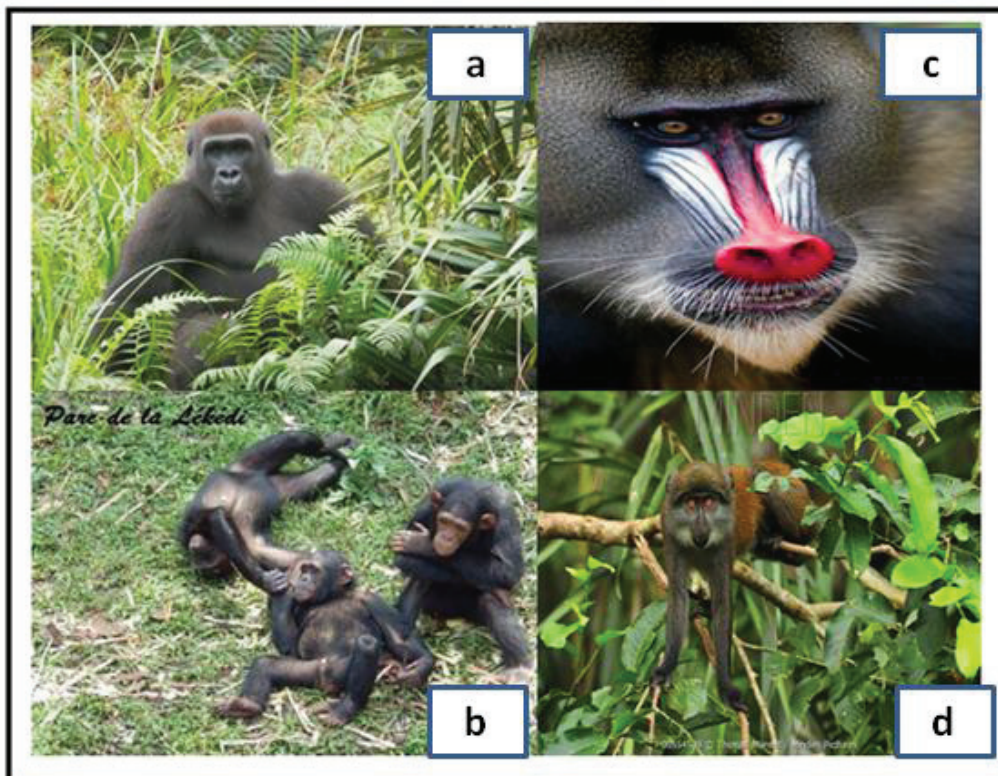
- ❖ **La famille des *Cercopithecidae*** : ou "singes à queue" (*cercos*: queue; *pithecos*: singe) représentée par les sous-familles des *Cercopithecinae* qui comprend les genres *Cercopithecus* (**Gautier-Hion, 1975; Wilks, 1990**), le genre *Miopithecus* avec l'espèce *Miopithecus ogoouensis* (Gautier-Hion et al., 1999), le genre *Cercocebus* (**Gautier-Hion et al., 1999**) et le genre *Mandrillus* représenté par l'espèce *Mandrillus sphinx* (figure 3.c) (**Gautier-Hion, 1975; Setchell and Jean Wickings, 2005**) et la sous famille des *Colobinae* avec le genre *Colobus* avec les espèces (**Gautier-Hion et al., 1999**). Le tableau 1 donne plus de détails sur les espèces correspondantes.
- ❖ **La famille des *Hominidae*** avec le genre *Homo* représenté par l'espèce *Homo sapiens*, le genre *Gorilla* avec la sous-espèce *Gorilla g. gorilla* (**Gautier-Hion et al., 1999**) appelé communément gorille de plaine (figure 3.a), et le genre *Pan* représenté par la sous-espèce *Pan t. troglodytes* (**Tutin and Fernandez, 1984**)(Figure 3.b).

**Tableau 1:** Diversité des PNHs du Gabon

Sous-ordre	Familles	Espèces	références
<b><i>Strepsirrhini</i> (Prosimiens)</b>	<i>Galagidae</i>	<i>Galagoides allensis</i> ,	(Charles-Dominique, 1977;
		<i>Galagoides demidoffi</i> ,	Jean Wickings et al., 1998)
		<i>Galagoides thomiasi</i> ,	
		<i>Galagoides elegantus</i> ,	
		<i>Galagoides dwarty</i>	
	<i>Lorisidae</i>	<i>Perodicticus potto</i>	(Pimley et al., 2005)



<b>Haplorhini</b>	<i>Cercopithecidae</i>	<i>Cercopithecus cephus</i>	(Gautier-Hion, 1975; Wilks, 1990)
		<i>Cercopithecus monanigripes</i>	
		<i>Cercopithecus nictitans</i>	
		<i>Cercopithecus pogonias</i>	(Harrison, 1988)
		<i>Cercopithecus solatus</i> ,	
		<i>Cercopithecus neglectus</i>	
		<i>Miopithecus ogoouensis</i>	(Gautier-Hion et al., 1999)
		<i>Cercocebus torquatus</i>	
		<i>Cercocebus agilis</i>	
		<i>Colobus guereza</i>	
		<i>Colobus santanus</i>	(Setchell and Jean Wickings, 2005)
	<i>Mandrillus sphinx</i>		
	<i>Hominidae</i>	<i>Gorilla g. gorilla</i>	(Gautier-Hion et al., 1999; Tutin and Fernandez, 1984)
		<i>Pan t. troglodytes</i>	
		<i>Homo sapiens</i>	



**Figure 3** : Illustration de la diversité d'espèces de PNHs du Gabon, (Photo Parc Lékédi)

(a= *Gorilla g. gorilla* ; b= *Pan t. troglodytes* ; c= *Mandrillus Sphinx* ; d= *Cercopithecus solatus*

### I.3.2 Conservation des PNHs au Gabon

Le Gabon, qui se situe dans le versant de la forêt équatoriale, partage avec le Congo la plus grande réserve de primates, soit environ 80 000 individus (Oates, 1996). Cependant, ce riche patrimoine est fortement menacé par les activités humaines (Estrada et al., 2017; Haurez et al., 2013) et les maladies infectieuses, dont les deux épidémies du virus Ebola apparues entre 2001 et 2005 qui ont décimé la population des Grands Singes (Bermejo et al., 2006; Leroy et al., 2004; Walsh et al., 2003). A ces facteurs s'ajoute une autre pression permanente et culturelle qui est le braconnage. En 2002, le gouvernement Gabonais a entrepris, avec la participation de Wildlife Conservation Society (WCS), de créer 13 parcs nationaux (Figure 4) représentant 3 millions d'hectares, soit 11,25% du territoire (<http://www.parcsgabon.org>).

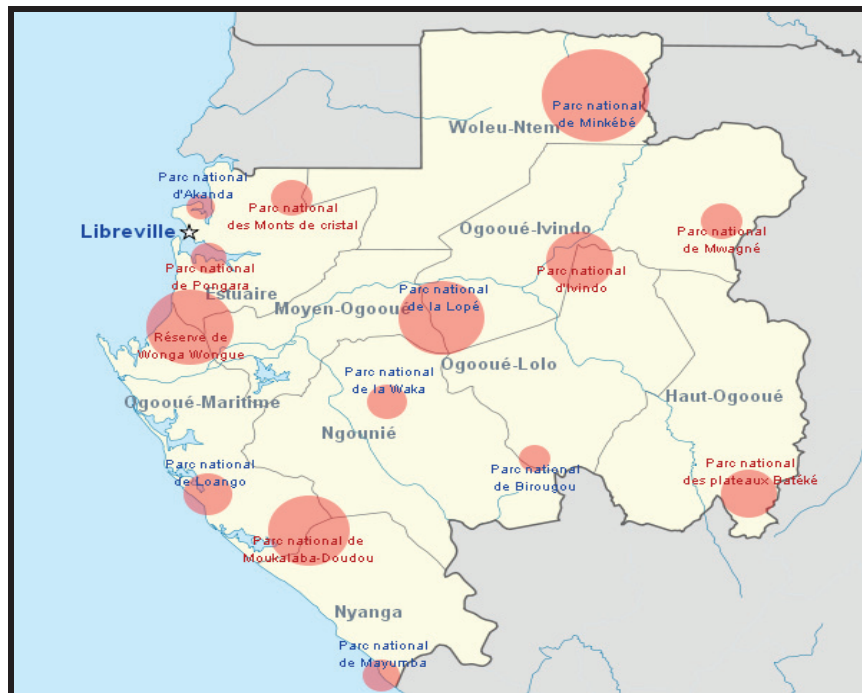


Figure 4: Les Parcs nationaux du Gabon (<http://www.parcsgabon.org>)

Outre ces structures étatiques dédiées à la conservation de la faune et la flore en général, d'autres projets et structures privées sont exclusivement consacrés à la conservation des PNHs :

- ❖ Les sanctuaires de PNHs (on en dénombre à ce jour trois (3), à savoir : le Projet de Protection des Gorilles (PPG) de la fondation Aspinall ([www.aspinallfoundation.org](http://www.aspinallfoundation.org)), le sanctuaire du Parc de Lékédi du groupe Eramet ([12](http://www.eramet-</a></li></ul></div><div data-bbox=)

[comilog.com/Infrastructures-et-loisirs.html](http://comilog.com/Infrastructures-et-loisirs.html)), le Projet gorille du Fernand vaz (PGFV) ([www.gorillasgabon.org](http://www.gorillasgabon.org)).

❖ Le Centre De Primatologie du CIRMF ([www.cirmf.org](http://www.cirmf.org)).

## **I.4 LES PRIMATES NON-HUMAINS ET LES PARASITES**

### **I.4.1 PNHs comme réservoirs parasitaires**

Les PNHs hébergent une diversité de parasites incluant les helminthes, les protozoaires, les champignons, les parasites gastro-intestinaux et sanguins. A partir de quatre espèces de PNH dont le Chimpanzé, le Gorille, l'Orang-outan et le Gibbon, Keita et al. (**Keita et al., 2014**) illustrent le rôle de réservoir de parasite joué par les PNHs (**Figure 5**).

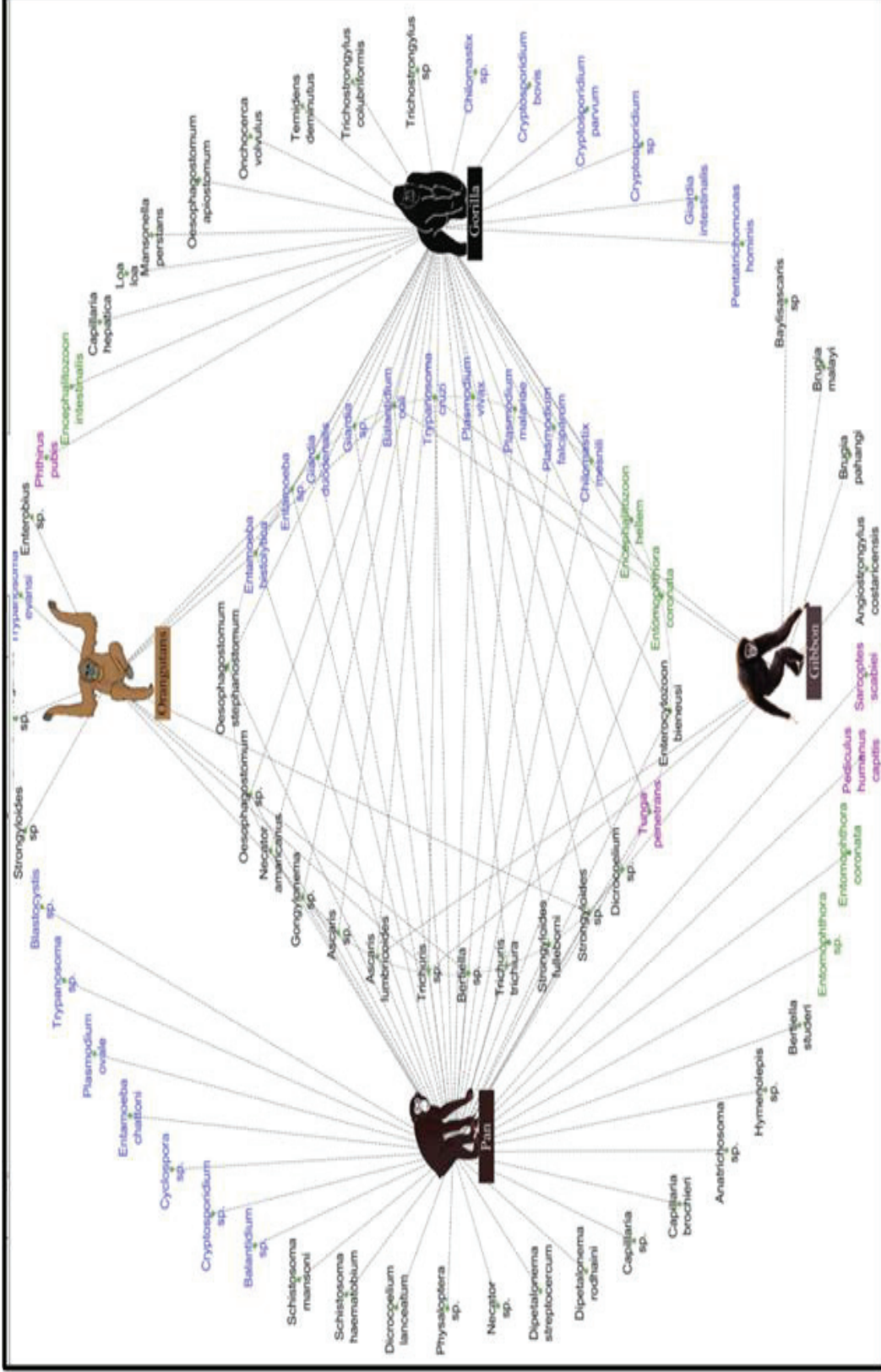


Figure 5: Réservoir parasite des PNHs : Helminthes (noir), protozoaires (bleu), champignons (vert) (Keita et al., 2014)

#### I.4.2 PNHs, sources de zoonoses

La proximité génétique entre l'Homme et les PNHs, plus particulièrement les Grands Singes, pourrait expliquer le nombre croissant d'agents pathogènes échangés entre ces groupes d'espèces (**Brown, 1997; Raoult, 2012**). Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et le *Plasmodium*, tous deux responsables des deux grands fléaux en Afrique (sida et paludisme), sont de très bons exemples d'échanges de pathogènes des PNHs vers l'Homme. En effet, il est établi à ce jour que le VIH est d'origine zoonotique simienne (**Hahn et al., 2000; Peeters et al., 1989**). La proximité phylogénétique entre le SIV chimpanzé et le VIH-1<sup>4</sup> soutient l'hypothèse selon laquelle le VIH-1 serait issu d'une transmission interspécifique à partir du chimpanzé (**Keele et al., 2006; Peeters et al., 1989**). Les conditions de cette transmission restent à préciser. Concernant le paludisme, plusieurs auteurs ont formulé différentes hypothèses sur l'origine du *P. falciparum* (parasite humain) : oiseaux (**Waters et al., 1991**), chimpanzé (**Duval et al., 2010; Rich et al., 2009**) ou bonobo (**Krief et al., 2010**). Il est admis à ce jour que les deux parasites les plus virulents de l'Homme appartenant au genre *Plasmodium* (*P. falciparum* et *P. vivax*) seraient apparus chez l'homme *via* un transfert horizontal des Grands Singes africains vers l'Homme (**Liu et al., 2010; Liu et al., 2014; Prugnolle et al., 2010; Prugnolle et al., 2011a; Prugnolle et al., 2013**). Ce passage interspécifique aurait été favorisé par les activités de certaines espèces de moustiques vecteurs ; ainsi deux (2) espèces d'anophèles anthro-zoonophiles<sup>5</sup> (*An moucheti* et *An vinckei*) pourraient être à l'origine de ce transfert (**Paupy et al., 2013; Prugnolle et al., 2013**).

Concernant les deux (2) épidémies de fièvre hémorragique au Gabon et au Congo entre 2000 et 2005 liées au virus Ebola, l'hypothèse du réservoir potentiel admise est la chauve-souris (**Leroy et al., 2009; Leroy et al., 2005**). Cependant, à partir des enquêtes épidémiologiques, il a été montré que les premières victimes étaient les chasseurs qui avaient manipulé les carcasses de gorilles et chimpanzés morts (**Leroy et al., 2009**). Un autre exemple d'infection humaine à partir d'agents infectieux d'origine simienne est celui des *Foamy virus*. En séquençant le gène de l'intégrase des *Foamy virus* retrouvé chez les gorilles, les cercopithecques et les chasseurs mordus par des primates au Gabon, **Mouinga-Ondeme et al. (2012)** ont montré que ces agressions étaient suivies de contamination humaine. Une observation similaire a été faite par **Gessain et al. (2013)** pour le *Foamy virus* et aussi pour

---

<sup>4</sup> VIH-1 : Il existe deux principaux types de virus : le VIH 1 et le VIH2. Le VIH1 est le plus répandu dans le monde

<sup>5</sup> Anophèles anthro-zoonophile : anophèle piquant aussi bien les humains que les animaux



les virus HTLV-3 et HTLV-4, en accord avec **LeBreton et al. (2014)** qui attribuent l'origine du HTLV humain au gorille.

## II. LES CHIROPTÈRES

### II.1. DÉFINITION ET CLASSIFICATION

L'ordre des chiroptères (Chiroptera), communément appelés chauves-souris, est un groupe constitué de mammifères doués de vol (seul ordre des mammifères doués du vol actif) comptant près de 1200 espèces (soit le quart des mammifères vivants) et formant le plus important ordre des mammifères après celui des rongeurs (**Wilson and Reeder, 2005**). La classification des chiroptères a co-evolué avec le développement des outils utilisés. La classification initiale structurait l'ordre des chiroptères en deux sous-ordres à savoir les *Mégachiroptères* et les *Microchiroptères*. Cette classification basée sur les critères morphologiques impliquait une origine commune de l'écholocation et du vol chez les chauves-souris (**Simmons and Geisler, 1998**). Le développement des outils de phylogénie moléculaire a permis dans un second temps d'établir une relation phylogénétique entre les microchiroptères rhinolophoides et les mégachiroptères (*Yinpterochiroptera*) (**Maganga, 2012; Teeling et al., 2002; Teeling et al., 2000**). La classification actuelle établit désormais que l'ordre des chiroptères comprend deux sous-ordres et quatre superfamilles (**Maganga, 2012; Teeling et al., 2002; Teeling et al., 2005**):

- ❖ Le sous-ordre *Yinpterochiroptera* : comptant près de 57 genres, il comprend la superfamille des *Rhinolophoidea* et six familles (*Pteropodidae* ou mégachiroptères, *Rhinolophidae*, *Hipposideridae*, *Megadermatidae*, *Craseonycteridae* et *Rhinopomatidae*).
- ❖ Le sous-ordre des *Yangochiroptera* : comptant près de 145 genres, il comprend les superfamilles des *Emballonuroidea*, *Noctillionoidea* et *Vespertillionoidea* et les familles des *Emballonuridae*, *Nycteridae*, *Phyllostomidae*, *Mormoopidae*, *Noctillionidae*, *Furipteridae*, *Thyropteridae*, *Mystacinidae*, *Myzopodidae*, *Vespertillionidae*, *Molossidae* et *Natalidae*.

La figure 6 donne plus des détails sur la phylogénie des chiroptères.

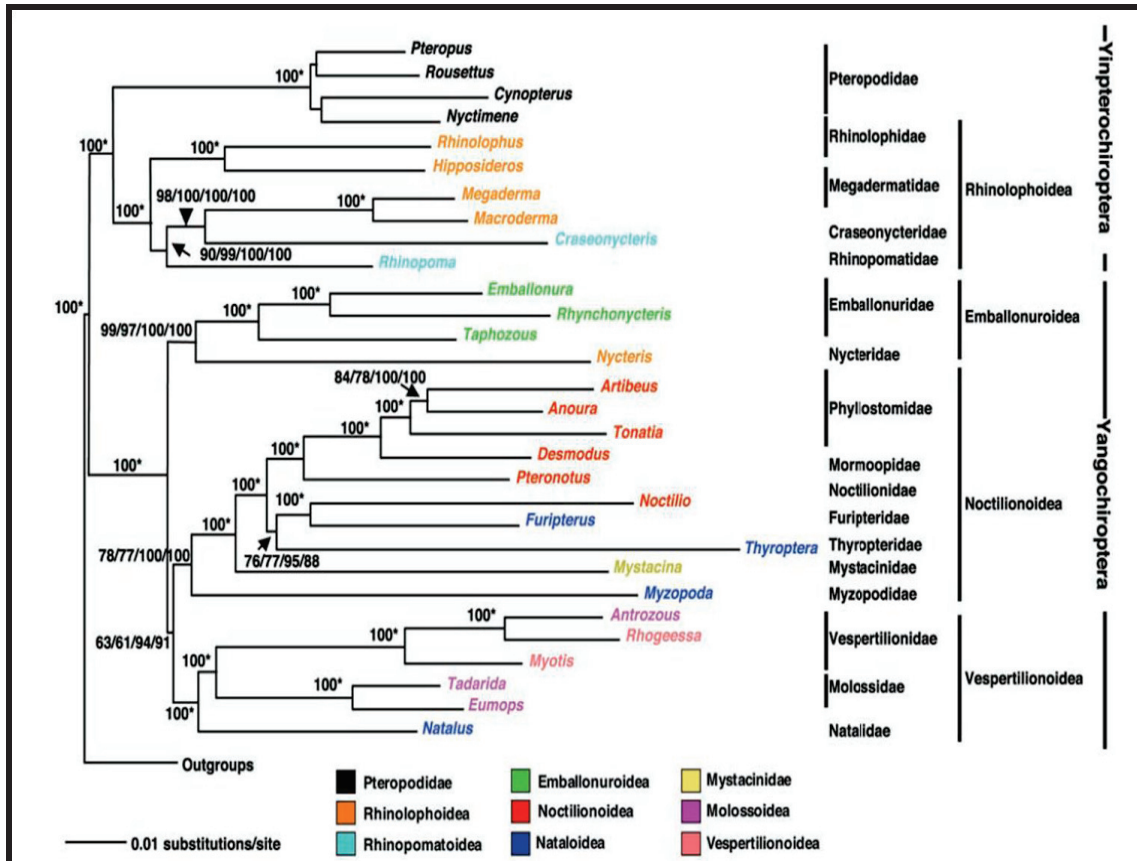


Figure 6: Phylogénie des chauves-souris (Teeling et al., 2005)

## II.2 BIO-ÉCOLOGIE DES CHIROPTÈRES

Les chauves-souris occupent différents types d'habitats pouvant être des feuillages, crevasses ou grottes (Kunz et al., 2003; Monadjem et al., 2010). Leurs régimes alimentaires sont également variés. On distingue les frugivores (notamment des mégachiroptères dont *Epomops franqueti*, *Hypsignathus monstrosus*, ou *Podocarpus* (Fleming et al., 2003; Marshall and William, 1982), les nectarivores (*Megaloglossus woermanni*) (Fleming, 1992), les frugivores opportunistes (*Epomophorus gambianus*) (Boulay and Robbins, 1989), les insectivores (*Vespertilionidae*, *Emballonuridae* et *Molossidae* (Arlettaz et al., 1995; Rydell, 2006) et les carnivores (*Megadermatidae* et *Nycteridae*) (Fleming et al., 2003). La quête des ressources alimentaires ou de conditions climatiques favorables conduisent souvent certaines espèces à migrer. Ainsi, certaines espèces surtout celles des régions tempérées migrent régulièrement (Chesser and Levey, 1998; Fleming et al., 2003; Marshall, 1983). Les systèmes d'accouplement sont aussi très variés, allant de la monogamie à la polygynie qui est le patron d'accouplement le plus commun chez la plupart des espèces de chauves-souris (McCracken and Wilkinson, 2000; Wilkinson, 1985). L'organisation sociale quant à elle va d'individus solitaires aux petits groupes d'environ 50 individus comme *Epomops franqueti*

(Crampton and Barclay, 1998) ; Cependant la plupart des genres sont grégaires, à l'exemple de genres *Eidolon* ou des espèces nichant dans les grottes, telles que *Hipposideros caffer* ou *Rousettus aegyptiacus* forment de très grandes colonies de plusieurs milliers d'individus (Marshall, 1983). Les analyses de données écologiques de divers espèces révèlent que les chauves-souris sont un groupe de mammifères longévifs ; la durée de vie est positivement corrélée avec l'hibernation, la masse corporelle et l'utilisation occasionnelle des grottes, mais diminue avec le taux de reproduction et n'est pas influencée par le régime, La taille de la colonie ou la source de l'enregistrement (Wilkinson and South, 2002).

### II.3: LES CHAUVES-SOURIS DU GABON

Peu d'études ont été menées sur la diversité des chauves-souris au Gabon. Les informations disponibles sont essentiellement issues des études des espèces réalisées dans le Nord-Est du pays (Brosset, 1966) et dans le complexe de Gamba sur la côte Ouest (Rodriguez et al., 2006) ou à partir d'études portant sur la diversité virale chez les chauves-souris (Maganga, 2012; Maganga et al., 2011). Les espèces décrites au Gabon à ce jour sont présentées dans le tableau 2.

#### II.3.1 Le sous-ordre Yinpterochiroptera

Le sous-ordre *Yinpterochiroptera* est représenté par plusieurs familles :

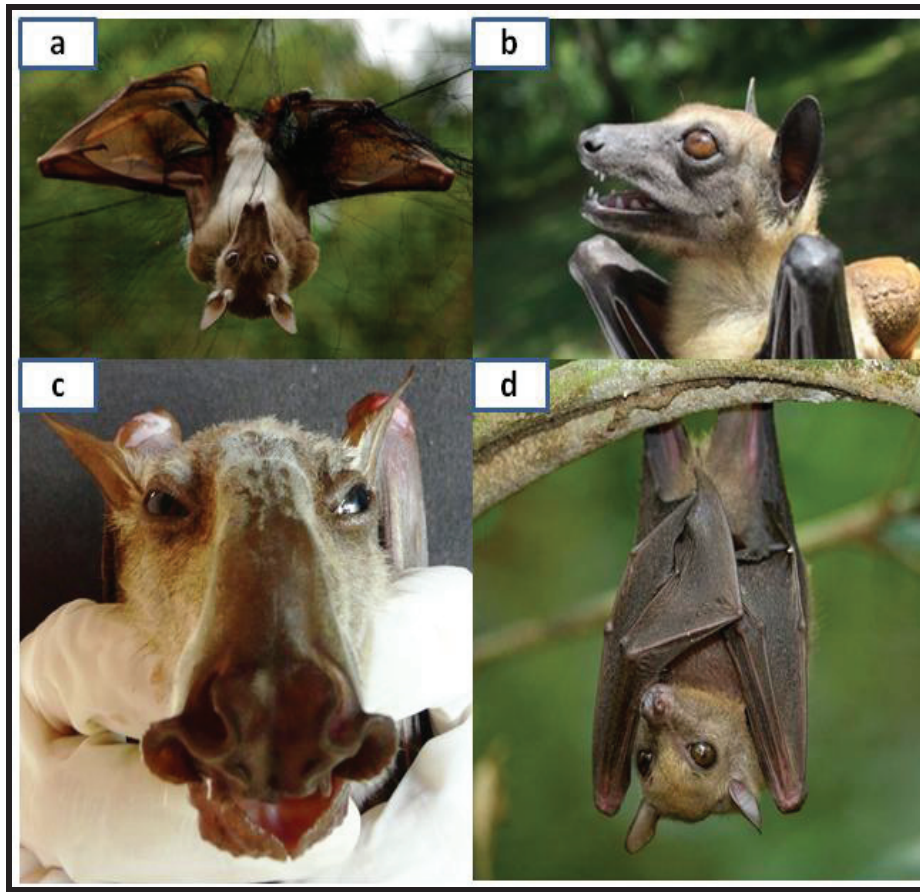
- ❖ *Pteropodidae* ou mégachiroptères, comprenant des chauves-souris essentiellement frugivores. Les espèces de cette famille sont remarquables par la taille du corps plus grand que les microchiroptères, deux griffes sur l'aile, le premier et le second doigt, une tête d'aspect canin, de grands yeux bruns et l'absence de feuilles nasales (Maganga, 2012). Cette famille est représentée au Gabon par diverses espèces dont *Epomops franqueti* (Figure 7.a), *Hypsignathus monstrosus* (Figure 7.c), *Megaloglossus woermanni*, *Myonycteris torquata* (Figure 7.d), *Scotonycteris zenkeri*, *Rousettus aegyptiacus* (Rodriguez et al., 2006), *Micropteropus pusillus*, *Eidolon helvum* (Figure 7.b) (Drexler et al., 2012; Maganga et al., 2011).
- ❖ *Hipposideridae*, représentée par *Hipposideros gigas* et *Hipposideros caffer/ruber* (Drexler et al., 2012; Rodriguez et al., 2006)
- ❖ *Rhinolophidae*, représentée par le genre *Rhinolophus* avec les espèces *Rhinolophus alcyone* (Maganga, 2012; Maganga et al., 2014a).



### II.3.2 Le sous-ordre Yangochiroptera

Encore appelés microchiroptères, ce sont des chauves-souris insectivores se distinguant des mégachiroptères par un corps plus petit et un système d'écholocation à ultrasons qui leur permet de se déplacer. Les familles et espèces décrites au Gabon sont :

- ❖ *Vespertilionidae*, représentée par *Glauconycteris beatrix*, *Glauconycteris poensis*, *Neoromicia brunneus*, *Kerivoula phalaena*, (Rodriguez et al., 2006) *Miniopterus inflatus* (Drexler et al., 2012; Maganga et al., 2014a)
- ❖ *Nycteridae*, représentée par les espèces *Nycteris arge* et *Nycteris grandis* (Rodriguez et al., 2006)
- ❖ *Emballonuridae*, comprenant 7 espèces en Afrique mais une seule espèce, *Coleura afra* a été rapportée au Gabon à ce jour par (Drexler et al., 2012; Maganga et al., 2014a).



**Figure 7:** Illustration de quelques espèces de chauves-souris du Gabon, (a= *Epomops franqueti*; b= *Eidolon helvum*; c= *Hypsignathus monstrosus*; d= *Myonycteris torquata*)

Le tableau 2 donne plus de détails sur les espèces de chauves-souris décrites au Gabon.

**Tableau 2:** Bilan des espèces de chauves-souris décrites au Gabon

<b>Sous-ordre</b>	<b>Familles</b>	<b>Espèces</b>	<b>références</b>
<b>Yinpterochiroptera</b>	<b>Pteropodidae</b>	<i>Epomops franqueti</i> <i>Hypsignathus monstrosus</i> <i>Megaloglossus woermanni</i> <i>Myonycteris torquata</i> , <i>Scotonycteris zenkeri</i> <i>Rousettus aegyptiacus</i> <i>Casinycteris argynnis</i> <i>Eidolon helvum</i> <i>Micropteropus pusillus</i> <i>Myonycteris torquata</i> <i>Scotonycteris zenkeri</i>	(Rodriguez et al., 2006) (Maganga, 2012) (Leroy et al., 2005) (Towner et al., 2007) (Brosset, 1966)
	<b>Hipposideridae</b>	<i>Hipposideros gigas</i> <i>Hipposideros caffer</i> <i>Hyposiederus beatus</i> <i>Hyposiederus Cyclops</i>	(Brosset, 1966; Maganga, 2012; Rodriguez et al., 2006)
<b>Yangochiroptera</b>	<b>Rhinolophidae</b>	<i>Rhinolophus alcyone</i> <i>Rhinolophus landeri</i>	(Maganga, 2012)
	<b>Vespertilionidae</b>	<i>Glauconycteris beatrix</i> <i>Glauconycteris poensis</i> <i>Neoromicia brunneus</i> <i>Kerivoula phalaena</i> <i>Miniopterus inflatus</i> <i>Mimetillus moloneyi</i> <i>Pipistrellus nanus</i> <i>Myotis bocagei</i> <i>Glauconycteris variegata</i> <i>Kerivou lalanosa harrisoni</i>	(Rodriguez et al., 2006) (Maganga, 2012) (Brosset, 1966)
	<b>Nycteridae</b>	<i>Nycteris arge</i> , <i>Nycteris grandis</i> <i>Nycteris hispida</i> <i>Nycteris nana</i>	(Brosset, 1966; Brosset, 1988; Rodriguez et al., 2006)
	<b>Emballonuridae</b>	<i>Coleura afra</i> <i>Taphozous mauritanus</i> <i>Saccolaimus peli</i>	(Brosset, 1966; Maganga, 2012)
	<b>Molossidae</b>	<i>Mops condylurus</i>	(Pourrut et al., 2009a)

## II.4 CHAUVES-SOURIS, RÉSERVOIR D'AGENTS PATHOGÈNES ET SOURCE DE ZONOSSES

L'ordre des chéropères est l'un des groupes de mammifères souvent incriminés pour (i) abriter une grande diversité de pathogènes et (ii) constituer une source d'infections pour l'Homme (zoonoses).

### II.4.1 Chauve-souris et biodiversité parasitaire

La diversité des parasites hébergés par les chauves-souris couvre un large éventail comprenant les virus, bactéries, champignons et parasites sanguin. Pour le cas de virus, les chauves-souris sont connu comme un important réservoir (**Calisher et al., 2006; Luis et al., 2013; Smith and Wang, 2013**). Des cas d'infections virales de chauves-souris sont couramment rapportés tant pour des virus à ADN qu'à ARN. Concernant les virus à ADN on peut citer les parvovirus identifiés chez les espèces *Eidolon helvum* en Afrique de l'ouest, *Artibeus jamaicensis* et *Artibeus lituratus* en Amérique centrale (**Canuti et al., 2011**) ou l'herpès virus chez *Myotis lucifugus* aux Philippines, en Afrique et chez *Rousettus aegyptiacus* en Hongrie (**Jánoska et al., 2011; Molnár et al., 2008; Watanabe et al., 2009; Wibbelt et al., 2007**). Pour les virus à ARN, les virus *Parainfluenza* isolés chez *Rousettus leschenaulti* en 1971 en Inde (**Pavri et al., 1971**), le virus de la rage isolé en 1987 chez un chiroptère au Canada (**Rosatte, 1987**) ou récemment les virus Ebola décrit chez les chauves-souris frugivores (*Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti*, et *Myonycteris torquata*) (**Leroy et al., 2005**) et le virus Marburg décrit chez *Rousettus aegyptiacus*, *Rhinolophus eloquens* et *Miniopterus inflatus* (**Kuzmin et al., 2010; Towner et al., 2007**) sont des exemples d'une longue liste. Les chauves-souris hébergent également de nombreuses bactéries dont le staphylocoque doré décrit chez *Eidolon helvum* au Nigeria (**Akobi et al., 2012**), *Mycobacterium*, *Brucella*, *Leptospira*, *Coxiella burnetti* et *Borrelia* décrits respectivement chez *Tadarida brasiliensis*, *Desmodus*, *Pteropus*, *Eptesicus serotinus*, *Eidolon helvum* et *Pipistrellus pipistrellus* (**Hill and Smith, 1984; Hoar et al., 1998**). Concernant la diversité bactérienne, 30 espèces de bactéries anaérobiques ont été identifiées à partir des intestins et estomacs de chauves-souris vampires *Desmodus rotundus* au Costa Rica (**Chaverri, 2006**) ; 26 espèces de bactéries ont été identifiées chez 502 chauves-souris frugivores, 29 hématophages et 11 nectarivores au Mexique (**Galicía et al., 2014**).

Outre les virus et bactéries, les chauves-souris sont également porteuses de champignons et des parasites sanguins. *Histoplasma capsulatum*, qui est un champignon intracellulaire a été isolé à partir d'organes et du contenu intestinal de chauves-souris *Geomyces destructans* (**Blehert et al., 2009; Buchen, 2010**). *Plasmodium cyclopsi* et *P. voltaicum* décrits chez

*Hipposideros cyclops* et *Myonycteris angolensis* en Guinée (Schaer et al., 2013) et au Congo (Adam and Landau, 1970) sont connus comme parasites de chauves-souris. *Epomops buettikoferi*, *Hypsignathus monstrosus*, *Micropteropus pusillus* ou *Myonycteris leptodon* ont été trouvés infectés par des *Homosporidae* du genre *Hepatosistis* (Schaer et al., 2013). En Malaisie et en suisse, les filaires du genre *Litomosa* ont été identifiées respectivement chez *Pteropus vampyrus* (Ramachandran et al., 1966) et chez *Tadarida taeniotis* (Tibayrenc et al., 1979).

Excepté des rares cas connus à l'exemple du syndrome de « white nose » causé par un champignon du genre *Geomyces* spp. ayant entraîné une importante mortalité de chauves-souris en hiver 2006-2007 aux Etats Unis (Blehert et al., 2009; Gargas et al., 2009), les chiroptères sont connus pour leur capacité à juguler les infections ou héberger de façon asymptomatique une large diversité parasitaire. Pour expliquer la compétence de ce système immunitaire énigmatique, divers hypothèses ont été émises dont (i) celle liée à sa longévité (comparativement à d'autres mammifères de petite taille, tels que le rat ) qui ferait que les chauves-souris acquièrent au fil des infections répétées, une immunité progressivement robuste (Luis et al., 2013; Turmelle et al., 2010). Une autre hypothèse est (ii) celle liée à l'adaptation au vol dont l'évolution du génome aurait induit par inadvertance des effets sur la fonction immunitaire et l'espérance de vie (Brunet-Rossinni and Austad, 2004; Luis et al., 2013). En comparant les génomes des espèces *Myotis davidii* et *Pteropus alecto* aux autres mammifères, Zhang et al. (2013) ont découvert que les gènes qui permettent aux chauves-souris de voler leur confèrent également un système immunitaire ultra performant. Chez les espèces de chauves-souris étudiées (*Myotis davidii* et *Pteropus alecto*), il manquait des fragments de gènes. Ces fragments sont impliqués dans les réactions immunitaires extrêmes qui entraînent outre la mort du virus, celles tissus et cellules de l'hôte. (ii) Dans une étude autre récente, Zhou et al. (2016) ont identifié chez *Pteropus alecto*, deux (2) interférons qui stimulent la production de centaines d'autres protéines combattant les infections virales et renforçant ainsi la réponse immunitaire. Alors que Chez les autres mammifères et l'homme qui comprend 12 interférons, l'activation de ces protéines ne se fait qu'en réaction à une infection, chez les chauves-souris, les interférons sont activés en permanence.

#### **II.4.2 : Chauves-souris, source de zoonoses**

L'ordre des chiroptères est l'un des groupes de mammifères souvent incriminés pour son rôle de réservoir dans les affections humaines. Ce statut de réservoir est bien illustré dans l'étude réalisée à partir d'une compilation de bases de données par Luis et al. (2013) qui ont montré que le nombre de virus hébergés par les chauves-souris était plus important que celui hébergés

par les rongeurs. De même, le nombre moyen de virus hébergé par chauvesouris était plus important que la moyenne chez les rongeurs (4,51 vs 2.71). Du fait de l'échantillonnage (66 espèces de chauves-souris contre 81 espèces de rongeurs), cette comparaison peut être relativisée mais le potentiel zoonotique des chauves-souris est largement défendu par d'autres auteurs (**Calisher et al., 2006; Smith and Wang, 2013**) et illustré à travers plusieurs études. Dans les épidémies d'Ebola qui ont décimé autant les humains que les PNHs durant les cinq (5) flambées épidémiques à EBOV (Zaire Ebola virus) entre 2001 et 2005 au Gabon et au Congo (**Bermejo et al., 2006; Walsh et al., 2003**), la détection de l'ARN viral et des anticorps IgG contre la souche EBOV chez trois espèces de chauves-souris frugivores (*Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti*, et *Myonycteris torquata*) (**Leroy et al., 2005**) est une découverte majeure dans la recherche du réservoir. Cette hypothèse de réservoir du virus Ebola chez les chauves-souris frugivores est confortée par d'autres études détectant des anticorps IgG contre la souche EBOV chez les chauves-souris *Epomops franqueti*, *Hypsignathus monstrosus*, *Myonycteris torquata*, *Micropteropus pusillus*, *Mops condylurus* et *Rousettus aegyptiacus* au Gabon en 2009 (**Pourrut et al., 2009b**), en Afrique de l'ouest chez *Epomops franqueti*, *Epomophorus gambianus*, *Hypsignathus monstrosus*, *Eidolon helvum* et *Nanonycteris veldkampii* (**David et al., 2012; Hayman et al., 2008**), et en Chine chez *Miniopterus schreibersii*, *Cynopterus sphinx*, *Rousettus leschenaulti*, *Pipistrellus pipistrellus* et *Myotis spp.* (**Yuan et al., 2012**). En 2009, Leroy et al. (2009) ont établi un lien entre l'épidémie au virus Ebola à Luebo, en République Démocratique du Congo (RDC), et la migration massive de chauves-souris frugivores, suggérant une contamination humaine à partir des chauves-souris chassées et consommées dans la région (**Leroy et al., 2009**). Par ailleurs, le rôle des chauves-souris comme potentiel réservoir du virus de Marburg (MARV) est également évoqué après la détection des anticorps et des séquences nucléotidiques spécifiques de MARV chez *Rousettus aegyptiacus*, *Rhinolophus eloquens* et *Miniopterus inflatus* au Kenya, au Gabon, en RDC (**Kuzmin et al., 2010; Pourrut et al., 2005; Swanepoel, 2007; Towner et al., 2007**) et en Ouganda chez *Rousettus aegyptiacus* (**Towner et al., 2009**). Plus récemment, Maganga et al. (2011) ont montré que la séquence de MARV obtenue chez une Rousette d'Égypte (*Rousettus aegyptiacus*) au Gabon était proche des souches humaines isolées en RDC et en Ouganda (**Maganga et al., 2011**).

Dans les affections à coronavirus, les séquences provenant des souches isolées chez des chauves-souris du genre *Rhinolophus* (*R. ferrumequinum*, *R. macrotis*, *R. pearsoni*, *R. sinicus*) et *Hipposideros* avaient 88 à 94% de similarité au niveau nucléotidique avec les



souches isolées respectivement chez les humains et les civettes (Lau et al., 2005; Li et al., 2005; Tang et al., 2006).

### III LES RONGEURS MYOMORPHES

#### III.1 DÉFINITION ET CLASSIFICATION

Les rongeurs myomorphes (*Myomorpha*) sont un groupe de mammifères appartenant au sous-embanchement des vertébrés, à la classe des mammifères et à l'ordre des *Rodentia* qui comprend plus du quart de toutes les espèces de mammifères dont le rat (*Ratus* sp.), la souris (*Mus musculus*) ou le hamster (famille des *Cricetinae*) (Figure 8). C'est le groupe de mammifères le plus diversifié devant celui de chauves-souris (Duplantier, 1982). L'organisation des myomorphes a récemment évolué. Dans la précédente classification, le sous-ordre *Myomorpha* comprenait 5 familles (*Dipodidae*, *Geomyidae*, *Heteromyidae*, *Muridae*, *Myoxidae*). La classification révisée érige les familles *Muridae* et *Dipodidae* en deux super-familles dont celles des *Dipodoidea*, comprenant la famille des *Dipodidae* ou « rats sauteurs », et des *Muroidea* avec six familles (*Calomyscidae*, *Cricetidae*, *Muridae*, *Nesomyidae*, *Platacanthomyidae* et *Spalacidae*). (<http://www.itis.gov>). Dans le cadre de cette étude, nous nous intéresserons à deux groupes de micromammifères à savoir les familles de *Muridae* et la famille des *Soricidae* (musaraigne).

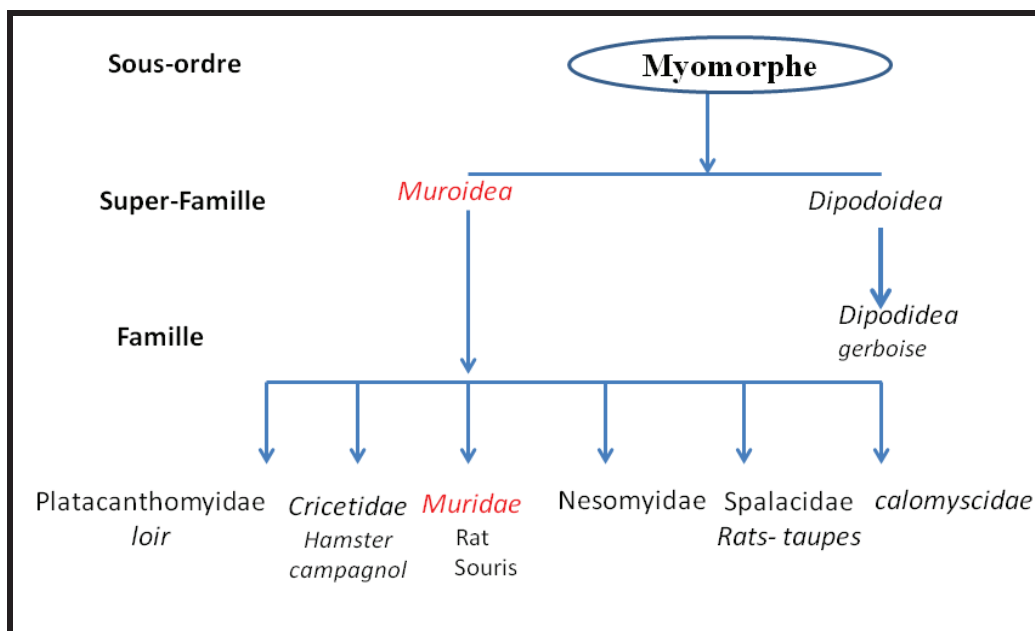


Figure 8 : Classification des rongeurs

### III.2 BIO-ÉCOLOGIE DES RONGEURS MYOMORPHES

Les rats sauvages vivent en colonies dans les terriers mais l'appartenance à un terrier dépend des ressources, de la densité ou du niveau de prédation (**Genest-Villard, 1980**). Comme chez de nombreux mammifères, la taille du domaine vital<sup>6</sup> des individus est proportionnelle au taux métabolique de base, fonction du poids corporel, du régime alimentaire, du coût de la locomotion, ainsi que la disponibilité alimentaire de l'environnement (**Clutton-Brock and Harvey, 1978**). Duplantier a montré que chez les espèces les plus abondantes au Nord-Est du Gabon (*Hylomyscus stella*, *Hylomyscus fumosus*, *Praomys tullbergi minor*, *Deomys ferrugineus*), les domaines vitaux augmentaient avec la taille des espèces chez les mâles, atteignant jusqu'à près de 8000m<sup>2</sup> pour les deux dernières, alors que celui des femelles atteint 2500m<sup>2</sup> en moyenne (**Duplantier, 1989**). En Centrafrique, Genest-Villard et al. (1978) ont montré que chez *Hyboinys univittatus* et *Deomys ferrugineus*, les mâles, plus lourds, avaient des domaines vitaux plus grands que les femelles (**Genest-Villard, 1978**). On peut donc penser que les individus vont étendre leur zone de fourragement ou de chasse suivant la richesse de l'environnement. Les *Muridae* sont majoritairement omnivores avec des régimes alimentaires composés de fruits, graines, insectes (**Duplantier, 1982; Genest-Villard, 1980**) voire même de matières animales. L'examen du contenu stomacal de souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*) considérée comme herbivore a révélé que la matière animale constituait jusqu'à 34 % de son alimentation (**Landry, 1970**). La matière animale et des aliments divers ont été également retrouvés dans l'estomac de *Praomys tullbergi minor* et de *Lophuromys sikapusi* en Centrafrique (**Genest-Villard, 1980**). Ainsi, à l'exception de quelques rares espèces comme *Prionomys batesi* qui est strictement insectivore (ne consommant que des fourmis) ou *Stochomys longicaudatus*, presque totalement frugivore, les petits rongeurs myomorphes de forêt équatoriale ont pour la plupart un régime alimentaire assez éclectique (**Genest-Villard, 1980; Landry, 1970**).

Les systèmes de reproduction vont de la monogamie stricte (exemple du rat sauteur géant de Madagascar, *Hypogeomys antimena*) ou occasionnelle, à des systèmes polygamie, polyandrie ou polygynandrie (**Jarvis, 1981; Lallemand and d'Alfort, 1987**) dans lesquels les femelles donnent naissance à des portées ayant différents géniteurs (**Wolff and Sherman, 2008**). Par ailleurs, une combinaison de facteurs peut expliquer la forte densité de certaines colonies

---

<sup>6</sup> Domaine vitale : l'amplitude des déplacements que réalisent les mammifères lors de leurs activités quotidiennes

comme l'effet Whitten<sup>7</sup> (**Gangrade and Dominic, 1984; Jemiolo et al., 1986**) qui peut être accompagné d'un œstrus permanent des femelles présentant des ovaires polykystiques (**Bihun and Bauck, 2004**).

### III.3 LES RONGEURS MYOMORPHES ET MUSARAIGNES DU GABON

Comme dans le cas de chiroptères, l'inventaire de la biodiversité des rongeurs est loin d'être complet à cause du faible nombre d'études et du fait que les rares études menées se sont focalisées dans le milieu forestier du Nord-Est du pays (**Duplantier, 1982, 1989; Goodman et al., 2001; Nicolas et al., 2004**). En outre, certaines études ont été publiées dans des revues « cryptiques » et non accessibles (exemple des travaux de Brosset à Makoukou « Mammifères inédits récoltés au Gabon, Biol.Gab. 1:147–174. 1965 » ou Colyn dans la forêt des abeilles au centre du Gabon en 1996 « Micro-mammifères Muridae et Soricidae. Structure des peuplements: richesse et diversité spécifiques et indices d'abondance, Projet ECOFAC-CEE, AGRECO-CTFT, 1996 »).

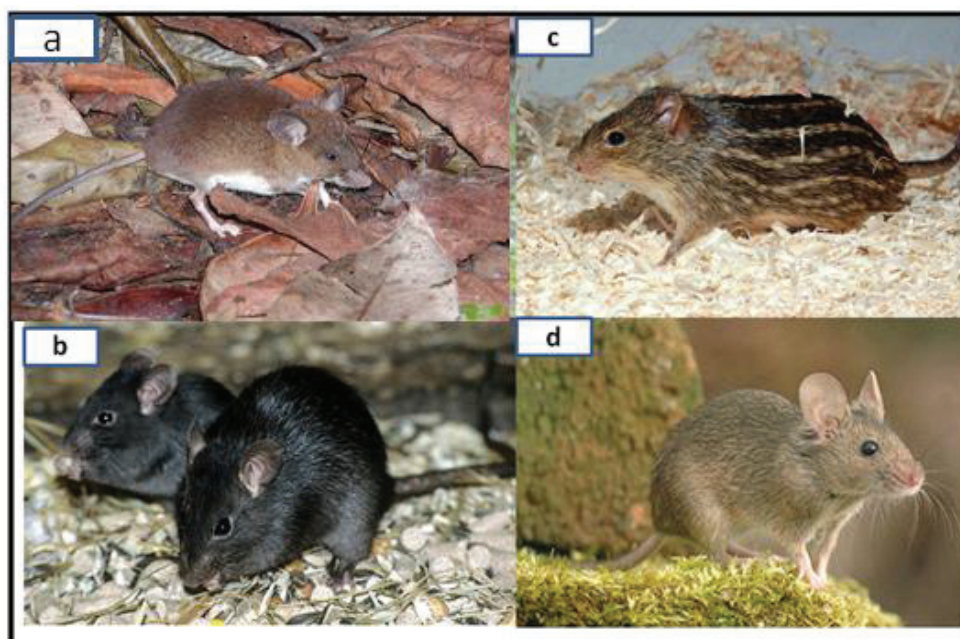
Les études disponibles rapportent toutefois une diversité d'espèces relativement variée. Dans une étude portant sur un échantillon de 1531 muridés au sud-ouest du Gabon (**Nicolas and Colyn, 2003**), 11 espèces appartenant à 8 genres ont été décrites. Les espèces *Hylomyscus stella*, *Hybomys univittatus*, *Heimyscus fumosus* et *Praomys misonnei* (**Figure 9.a**) étaient les plus abondantes. Dans la région de Makoukou au nord-Est du Gabon, 8 espèces de forêt dont *Hylomyscus stella*, *Hylomyscus fumosus*, *Hylomyseus parvus*, *Praomys tullbergi minor*, *Hybomys univittatus*, *Lophziromys sikapusi*, *Stochomys longicaudatus*, *Thamnomys rutilans* ont été décrit (**Duplantier, 1982**). La récente description de *Mus musculus domesticulus* à Franceville et Makoukou (**N'dilimabaka et al., 2015**) ou *Ratus ratus* (**Mangombi et al., 2016**) (**Figure 9.b**), la confirmation de *Heimyscus fumosus* (**Nicolas et al., 2003**) mais surtout la description récente de l'espèce *Praomys petteri* (**Nicolas et al., 2010**) montrent que la diversité des muridés connus au Gabon (**Tableau 3**) serait sans doute plus importante que celle décrite à ce jour.

Dans certaines études portant sur les rongeurs, les chercheurs ont également décrit des espèces de musaraignes qui sont des mammifères morphologiquement proches des rongeurs, mais dont la classification renvoie à l'ordre des *Soricomorpha* et à la classe des *Soricidae*. Une liste non exhaustive des espèces décrites au Gabon à ce jour est présentée dans le tableau 3

---

<sup>7</sup> Effet Whitten : Si les souris femelles sont exposées à un mâle adulte (ou à l'odeur de son urine), l'ovulation démarre et les cycles se synchronisent.





**Figure 9:** Illustration de la diversité des rongeurs myomorphes du Gabon, (a= *Praomys misonnei*; b= *Rattus rattus*; c= *Lemniscomys striatus*; d= *Mus musculus*)

**Tableau 3:** Inventaire des rongeurs myomorphes et musaraignes décrit au Gabon

Ordre	Famille	Espèces	Sources
Rodentia	Muridae	<i>Hylomyscus stella</i> ,	(Duplantier, 1982; Nicolas et al., 2004)
		<i>Hylomyscus fumosus</i> ,	
		<i>Hylomyseus parvus</i> ,	(Mangombi et al., 2016)
		<i>Praomys tullbergi minor</i> ,	(Mboumba et al., 2012)
		<i>Hybomys univittatus</i> ,	
		<i>Lophziromys sikapusi</i> ,	
		<i>Stochomys longicaudatus</i> ,	(N'dilimabaka et al., 2015)
		<i>Thamnomys rutilans</i> ,	
		<i>Heimsycus fumosus</i> ,	
		<i>Praomys misonnei</i>	(O'Brien et al., 2006)
		<i>Hylomyscus aeta</i>	
		<i>Lophuromys nudicaudus</i>	
		<i>Praomys petteri</i>	
		<i>Deomys ferrugineus</i>	
		<i>Mus musculus</i>	
		<i>Ratus ratus</i>	
<i>Lemniscomys striatus</i>			
<i>Grammomys poensis</i>			
<i>Malacomys longipes</i>			

---

<b>Soricomorpha</b> Soricidae	<i>Crocidura batesi</i>	(Nicolas et al., 2004)
	<i>Crocidura maurisca</i>	(Brosset, 1988)
	<i>Crocidura olivieri</i>	(Goodman et al., 2001)
	<i>C. crenata</i>	
	<i>Crocidura poensis</i>	
	<i>Crocidura flavescens</i>	
	<i>C. dolichura</i>	
	<i>C. goliath</i>	
	<i>C. grassei</i>	
	<i>Paracrocidura schoutedeni</i>	
	<i>Suncus remyi</i>	
	<i>Sylvisorex johnstoni</i>	
	<i>S. ollula</i>	
<i>Crocidura odorata</i>		

---

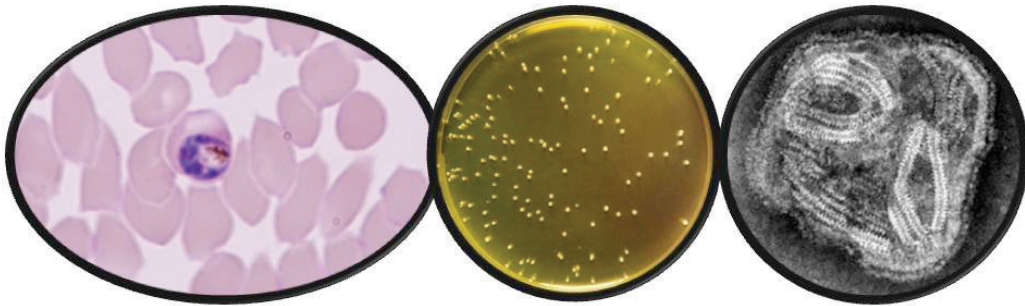
### III.4 RONGEURS, RÉSERVOIRS ET SOURCES D'AGENTS PATHOGÈNES POUR L'HOMME

Les rongeurs hébergent de nombreux agents infectieux qui leurs sont inféodés et auxquels aucun potentiel zoonotique n'est attribué. A titre d'exemple, les protozoaires du genre *Plasmodium* à savoir *Plasmodium berghei* (**Rodhain, 1952**), *Plasmodium chabaudi*, *Plasmodium vinckei*, *Plasmodium yoelli* et *Plasmodium atheruri* (**Perkins and Schall, 2002**), les Acariens *Radfordia ensifera* et *Notoedres muris* (**Webster and Macdonald, 2009**) ou les nématodes *Heligmosomum costellatum* et *Aonchotheca murissylvatici* (**Klimpel et al., 2007**) sont connus comme parasites exclusifs de rongeurs sans potentiel zoonotique. Toutefois, à l'image des chauves-souris, les rongeurs sont souvent incriminés pour leur rôle de réservoirs ou de vecteurs d'agents pathogènes potentiellement zoonotiques. Parmi ces différents agents pathogènes, certains revêtent une importance particulière du fait de leur incidence clinique. La leishmaniose causée par un protozoaire de la famille des *Trypanosomatidae* dont l'espèce *Leishmania infantum* décrite dans la population humaine au sud de la France (**le Fichoux et al., 1999; Pomares et al., 2016; Pratlong et al., 1995**) est une zoonose impliquant le rat comme réservoir potentiel (le chien demeure la principale source). En Algérie, le typage de souches isolés chez trois espèces de rongeurs a démontré qu'il s'agissait de la même souche que celle isolée chez l'homme et chez un phlébotome (*Phlebotomus papatasi*) du même foyer (**Ben Ismail et al., 1987**). L'hantavirose, due à un virus de la famille des *Bunyaviridae* (*Hantavirus*) à l'origine de fièvre hémorragique, est transmise à l'homme à partir du rat (**Heinemann et al., 2016; Mackenstedt et al., 2015**). La transmission se fait par inhalation d'aérosols, par l'urine, les fèces ou la salive (**Escutenaire and Pastoret, 2000; Van Hooste**

**and Vaerewijck, 2002).** Durant la guerre de Corée (1950-1953), plus de 3000 soldats onusiens sont affectés par la «fièvre hémorragique de Corée» (**Bourhaba et al., 2006; Escutenaire and Pastoret, 2000**) et là encore, les rongeurs sont incriminés. Il faut préciser que les récentes études montrent que les rongeurs ne sont pas les seuls réservoirs. En effet, un nombre élevé de nouveaux hantavirus provenant d'hôtes non-conventionnels, comme les chauves-souris ou les musaraignes (**Gu et al., 2014; Holmes and Zhang, 2015**) ont été détectés, mais aucun de ces autres réservoirs n'a encore été associé à une affection humaine (**Brook and Dobson, 2015; Holmes and Zhang, 2015**). L'identification pour la première fois en Afrique du Virus de la choriomeningite lymphocytaire ou (LCMV) chez le rongeur *Mus musculus domesticus* en 2014 au Gabon (**Nadine et al., 2015**) vient confirmer le rôle connu des rongeurs comme réservoir de ce virus (**El Karamany and Imam, 1990; Ledesma, 2009**).

Un autre zoonose importante est la leptospirose, qui est due à des bactéries du genre *Leptospira* comprenant plusieurs sérovars de *Leptospira interrogans* (**Mackenstedt et al., 2015**). Les leptospires sont transmis essentiellement à partir des urines des rats infectés, par inhalation d'aérosols, érosion cutanée, les muqueuses ou à partir de l'eau contaminée (**Mackenstedt et al., 2015**). En 1998 aux États-Unis, bien que la source animale n'avait pas été clairement identifiée, la contamination des Athlètes du triathlon ayant nagé dans un lac contaminé a été associée au fait que les alentours de ce lac était un lieu de refuge de la faune dont potentiellement les rats (**Prevention, 1998**). La contamination des eaux souterraines par les excréments des rongeurs et des chiens infectés a été associée à la flambée significative de leptospirose humaine au Nicaragua (**Trevejo et al., 1998**).

## Chapitre II : Les modèles parasites de l'étude



# I. LES *PLASMODIUM* SPP

## I.1 DÉFINITION ET CLASSIFICATION

Les parasites du *Plasmodium* sont des protozoaires dont le cycle de reproduction fait intervenir un hôte vertébré chez lequel se déroule la reproduction asexuée (hôte intermédiaire) et un invertébré (insecte piqueur) chez lequel se passe la reproduction sexuée (hôte définitif) (Langreth et al., 1978). Chez l'homme, les *Plasmodium* spp sont responsables du paludisme et sont transmis par la piqûre d'un moustique anophèle infecté (WHO, 2015). Le paludisme est une des maladies parasitaire les plus importantes de l'Homme à travers son histoire et continue à être une préoccupation majeure en santé publique (Perkins, 2014). En effet 214 millions de cas cliniques sont recensés chaque année et de l'ordre du milliard de personnes sont exposées au risque (Manguin et al., 2008). *Plasmodium falciparum* est l'espèce prédominante en Afrique. Elle est responsable de plus 91% de cas de décès dont 98% en Afrique subsaharienne, essentiellement des enfants en bas âge et des femmes au cours de leurs premières grossesses (WHO, 2015).

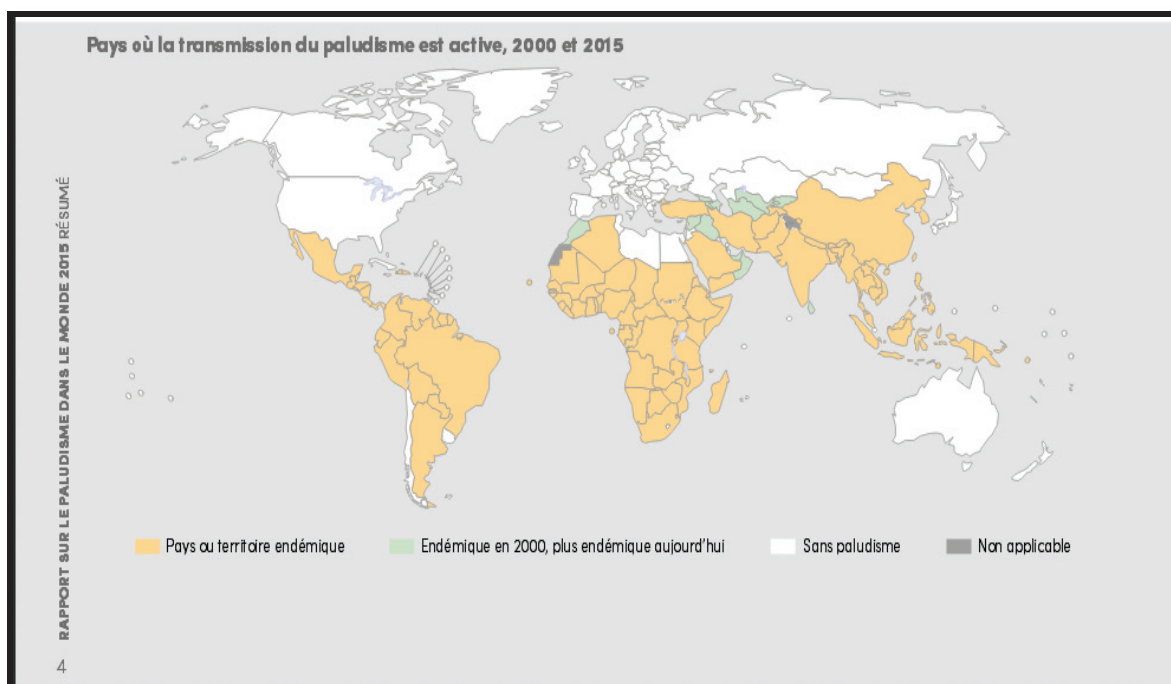


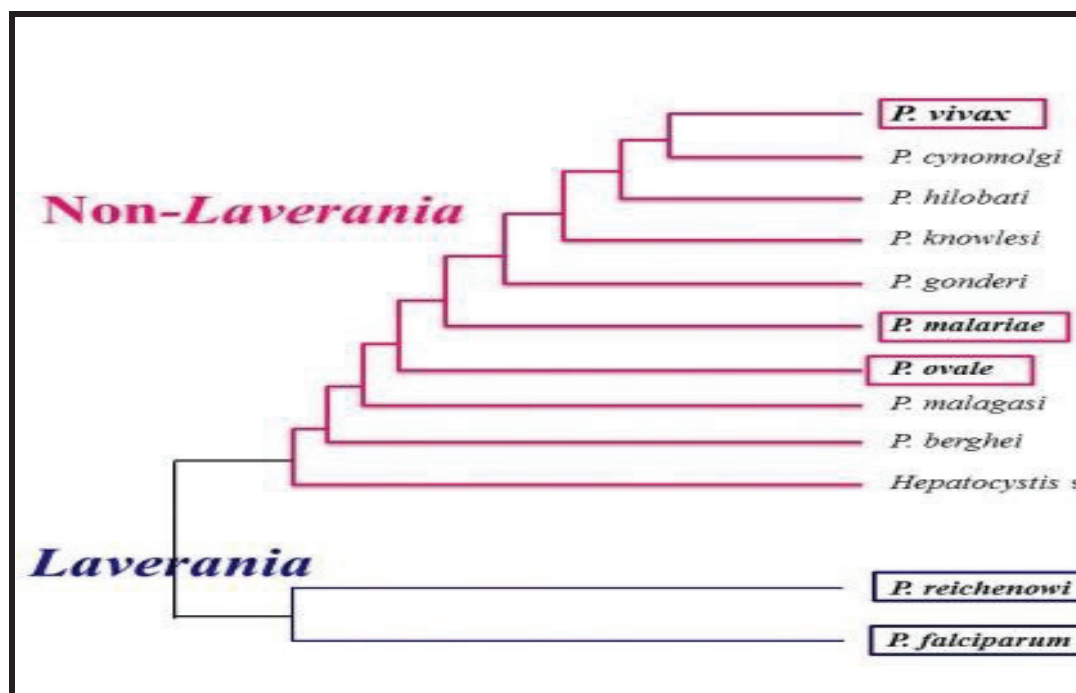
Figure 10: Le paludisme dans le monde, rapport OMS 2015(WHO, 2016)

Les *Plasmodium* spp appartiennent à l'ordre des *Haemosporida*, au sous-ordre des *Haemosporidae*, à la famille des *Plasmodiidae* et sont transmis par des moustiques de la famille des *Anophelinae* et des *Culicinae*. La famille des *Plasmodiidae* comprend près de 80 espèces (Manguin et al., 2008). Les parasites appartenant à ce groupe infectent un large

éventail d'hôtes allant des mammifères aux oiseaux et aux reptiles (Grassé, 1953). Chez les primates, le genre *Plasmodium* qui est transmis par un moustique (anophèle femelle) comprend divers espèces subdivisées en deux (2) sous-genres :

- ❖ Le sous-genre *Laverania* qui regroupe tous les parasites proches de *Plasmodium falciparum*. Avant 2009, ce groupe comprenait uniquement *Plasmodium reichenowi* et *Plasmodium falciparum*. Il compte aujourd'hui près de 8 espèces (Figures 11 et 12) (Boundenga et al., 2015; Gonzalez et al., 2013).
- ❖ Le sous-genre *Plasmodium* (non-*Laverania*) comprend toutes les autres espèces de *Plasmodium* infectant les vertébrés (Figure 12).(Duval, 2012; Manguin et al., 2008).

Ainsi, l'existence d'une telle diversité de *Plasmodium* et du grand nombre d'hôtes qu'infectent ces parasites donne autant d'arguments qui en font un bon modèle animal dans la recherche en éco-épidémiologie évolutive et dans bien d'autres domaines..



**Figure 11:** Classification des *Plasmodium* spp chez les primates (Duval, 2012), modifiée □

## I.2 DIVERSITÉ DU GENRE *PLASMODIUM* CHEZ NOS MODÈLES D'ÉTUDES

### I.2.1 Chez l'Homme

Sur toutes les espèces de *Plasmodium* répertoriées, seules cinq (5) espèces de *Plasmodium* sont connues pour infecter l'Homme et sont responsables du paludisme. Par ordre



d'importance clinique, nous présentons ces différentes espèces à savoir : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi*.

- ❖ *P. falciparum* (Welch, 1887) est l'espèce la plus fréquente et la plus virulente. Elle est responsable d'environ 90% d'infection en Afrique sub-saharienne (**WHO, 2016**). En région subtropicale la transmission est permanente en période de chaleur et d'humidité. En zone équatoriale, la transmission de ce parasites est permanente toute l'année avec cependant des recrudescences saisonnières. Récemment, Il a été reporté récemment que cette espèce est aussi capable d'infecter les Grands Singes africains (**Krief et al., 2010; Ngoubangoye et al., 2016; Pacheco et al., 2012**).
- ❖ *P. vivax* (Grassi, 1890) est responsable de fièvres bénignes. Il est aussi très répandu dans le monde et évolue avec des rechutes à long terme. Considéré comme parasites des populations d'Asie, Océanie, Amérique du Sud et Centrale (**Escalante et al., 2005; Guerra et al., 2010; Mu et al., 2005**), il a été pendant longtemps considéré comme absent en Afrique noire (excepté quelques régions) du fait que les érythrocytes des ces populations ne possèdent pas de récepteur membranaire Duffy indispensable à l'infection par *P. vivax* (**Miller et al., 1976**). Les récentes études menées en Afrique du centre et de l'Ouest (Congo, Guinée équatoriale, Cameroun, Mali) remettent en cause ces données (**Bernabeu et al., 2012; Culleton et al., 2009; Fru-Cho et al., 2014**). A l'opposé des populations noires, les Grands Singes africains sont connus pour leur sensibilité à *P. vivax* (**Kaiser et al., 2010**) avec des souches plus diversifiées que les lignées rencontrées chez l'homme en Asie (**Prugnolle et al., 2013**). En effet, il a été démontré que les Grands Singes africains sont porteur d'une grande diversité génétique de *P. vivax*-like, laissant penser que le *P. vivax*-like des singes africains seraient à l'origine de *P. vivax* chez l'homme (**Liu et al., 2014; Prugnolle et al., 2013**).
- ❖ *P. ovale* (Stephens, 1922) est aussi un agent d'une fièvre tierce bénigne ; Il semble toutefois limité aux populations d'Afrique de l'Ouest et d'Asie. Pendant longtemps ce parasite a été confondu avec *P. vivax* dont il est génétiquement proche (**Collins and Jeffery, 2005**).
- ❖ *P. malariae* (Laveran, 1881) est responsable de fièvres quartes et de troubles rénaux. Cependant, cette espèce n'est responsable que d'environ 1% des cas de paludisme. Elle est souvent décrite en Amérique du Sud notamment dans certaines tribus amérindienne.

❖ *P. knowlesi* connue pour infecter les singes asiatiques (macaques) a été découvert récemment chez l'Homme en Malaisie. Avec des taux d'infection jusqu'à 70% dans la population humaine, elle est aujourd'hui considérée comme la cinquième espèce qui infecte l'Homme en termes de nombre de cas. (Cox-Singh et al., 2008; Cox-Singh and Singh, 2008; Singh et al., 2004).

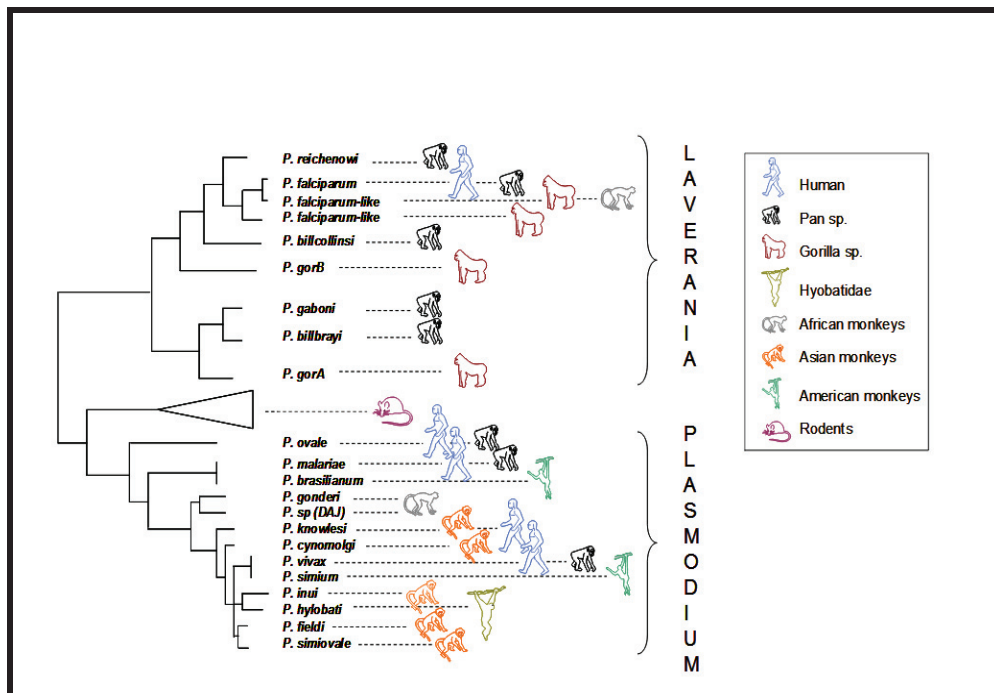


Figure 12: Diversité plasmodiale en circulation chez les primates (Gonzalez et al., 2013).

### I.2.2 Chez les Primates Non Humains (PNH) africains

L'étude des *Plasmodium* circulant chez les primates ne date pas d'hier. Dès le début du 20<sup>ème</sup> siècle, plusieurs chercheurs se sont intéressés au *Plasmodium* de primates notamment africains et ont décrit pléthore de parasites. Toutefois, ce n'est que récemment, avec le développement et l'application des outils de la biologie moléculaire et des analyses phylogénétiques que la classification des parasites du genre *Plasmodium* a été revisitée et leur diversité revue, le plus souvent à la hausse. En effet, le développement des outils moléculaires a permis de réexaminer la diversité plasmodiale circulant dans la faune sauvage (Boundenga et al., 2016; Perkins, 2014), en particulier chez les Grands Singes africains (Kaiser et al., 2010; Prugnolle et al., 2010; Prugnolle et al., 2011b) et les petits singes africains. La description du *Plasmodium gaboni* chez les chimpanzés du Gabon par une équipe du Centre International de Recherches Médicales de Franceville (Gabon) va être le début d'une nouvelle page dans la connaissance et l'histoire des *Plasmodium* de singes africains (Ollomo et al.,



2009). Les analyses phylogénétiques vont révéler que cette espèce est un ancêtre commun de *P. reichenowi* et *P. falciparum* qui infecte respectivement les chimpanzés et l'Homme, laissant paraître que l'ancêtre des Grands Singes africains était peut être infecté par les parasites du paludisme et qu'hôtes et parasites auraient pu co-évoluer (Ollomo et al., 2009). Aux travaux d'Ollomo suivront la description par Steph Rich au Cameroun de différentes lignés génétiques chez le chimpanzé ; ces lignés seront rattachés au *P. reichenowi* suggérant ainsi que l'origine de *P. falciparum* se trouverait chez les chimpanzés et qu'un transfert vers l'Homme aurait eu lieu 50000 ans avant notre ère (Rich et al., 2009) .

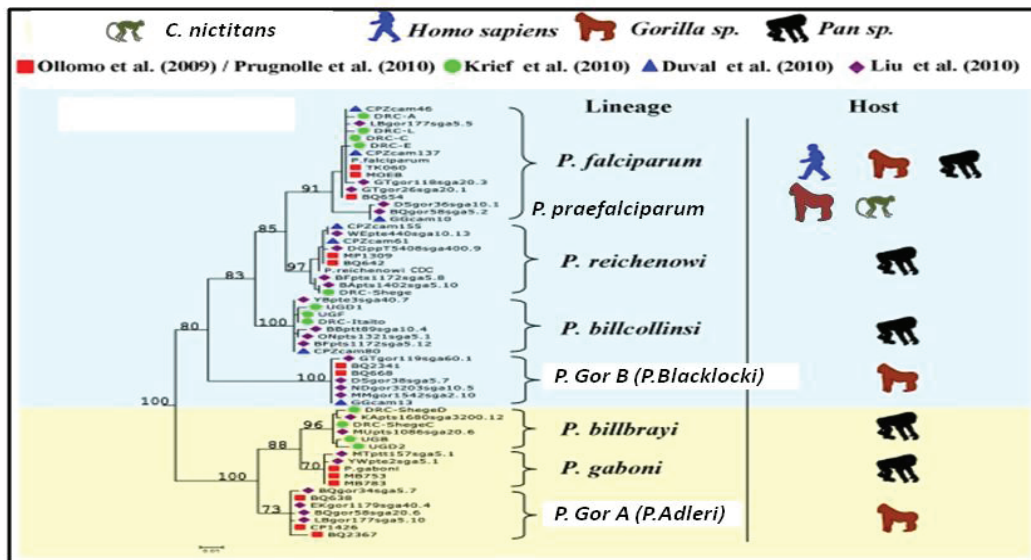
L'année 2010 va marquer l'année de remaniement profond de la diversité et de l'histoire évolutive du genre *Plasmodium* de manière générale mais plus spécialement au sein du sous genre *Laverania*. En effet, un groupe de chercheurs regroupant des gabonais et des français publie pour la seconde fois des résultats obtenus à l'aide d'un procédé originale non invasif de collecte d'échantillons (fèces). C'est ainsi qu'elle a confirmé non seulement la circulation indépendante de *P. gaboni* et *P. reichenowi* chez les chimpanzés de la sous-espèce *Pan troglodytes troglodytes* à partir des fèces, mais ils décrivent des nouvelles lignées plasmodiales infectant les gorilles d'Afrique centrale (*Gorilla g. gorilla* et *Gorilla g. diehli*) (Prugnolle et al., 2010). Les deux nouvelles lignées identifiées chez les gorilles seront nommées initialement *Plasmodium gorA* et *Plasmodium gorB* (Prugnolle et al., 2010), puis rebaptisées respectivement *Plasmodium adleri* et *Plasmodium blacklocki* en hommage au précurseurs des travaux sur les *Plasmodium* simiens (Boundenga et al., 2015; Liu et al., 2010; Rayner et al., 2011; Snounou et al., 2011). Le point marquant de cette étude a été la mise en évidence chez les gorilles du *P. falciparum*-like (Prugnolle et al., 2010) qui sera nommé après *P. praefalciparum*). Ce parasite est le plus proches parent du *Plasmodium* le plus virulent de l'homme (*P. falciparum*), alors il sera suggère et admis que *P. falciparum* (parasite humain) aurait pour origine le gorille (Liu et al., 2010; Prugnolle et al., 2010).

Au cours de cette année une autre équipe viendra confirmer la large diversité des *Plasmodium* qui infectent les bonobos et chimpanzés. Elle va ainsi mettre en évidence *P. gaboni*, *P. reichenowi*, *P. falciparum* et deux nouvelles espèces chez les chimpanzés à savoir : *Plasmodium billcollinsi* et *Plasmodium billbrayi* (Krief et al., 2010). Toutefois, la proximité génétique entre *P. billbrayi* et *P. gaboni* est telle qu'elle est considérée par certains auteurs comme étant un variant de *P. gaboni* (Liu et al., 2010; Rayner et al., 2011). De plus, cette même équipe mettre en évidence la présence de *P. falciparum* chez les bonobos suggérant ainsi que l'homme aurait acquis ce pathogène des bonobos. Cependant, des analyses plus poussée vont révéler que ces souches de *P. falciparum* présentent des gènes de résistances

aux antipaludéens classiquement donné aux Hommes pour lutter contre les infections palustres ; Ceci implique donc que les bonobos venaient d'acquérir ces parasites par transfert horizontal depuis les Hommes (**Krief et al., 2010; Rayner et al., 2011**). La capacité de *P. falciparum* à franchir la barrière d'espèce hôte va être à nouveau illustrée au cours de la même année avec une étude révélant des chimpanzés infectés par ce parasite au Cameroun (**Duval et al., 2010**).

La diversité plasmodiale chez les PNHs sera confirmée par d'autres études notamment **Liu et al. (2010)** qui vont travailler à partir d'une vaste collection d'échantillons de fèces collectés un peu partout en Afrique centrale chez les Grands Singes. Ainsi, elle va confirmer la présence d'au moins six espèces de *Plasmodium* spp dans le groupe de *Laverania* Cette diversité se caractérise cependant par une spécificité d'hotes dont trois espèces infecteraient uniquement les chimpanzés (*P. reichenowi*, *P. gaboni*, et *P. billcollinsi*) en milieu naturel et trois autres infectant uniquement les gorilles (*P. praefalciparum*, *P. adleri* et *P. blacklocki*) (**Boundenga et al., 2015; Liu et al., 2010**). Cette diversité plasmodiale chez les PNHs s'est par la suite enrichie avec l'étude de **Kaiser et al. (2010)** qui rapportent la circulation de cinq espèces chez les Grands Singes Ouest-africains en milieu forestier, il s'agira de *P. malariae-like*, *P. ovale-like*, *P. vivax-like*, *P. reichenowi* et *P. gaboni*. Ainsi donc, ses études ont montré que les espèces plasmodiales qui sont restées longtemps considérées comme propres à l'homme circulent chez les primates africains.

Les petits singes sont connus pour leur sensibilité à *Plasmodium gonderi*, *Plasmodium Daj2004*) et les *Hepaticystis* spp qui infectent les mangabeys, drills, mandrills et cercopithèques (**Cormier, 2013; Prugnolle et al., 2011b**).



**Figure 13:** Spécificité hôte-parasites des Plasmodiums du groupe Laverania  
L'arbre phylogénétique a été construit par maximum de vraisemblance basé sur 593 pb nucléotides du cytochrome (b) (Prugnolle et al., 2011a), modifié

### I.2.3 Chez les rongeurs et chauves-souris

Plusieurs espèces de *Plasmodium* sont connues pour circuler au sein du groupe des rongeurs. La majorité des *Plasmodium* sont des espèces isolées à partir de rats africains. En s'appuyant sur des analyses morphologiques, six espèces de *Plasmodium* chez les rongeurs d'Afrique ont été décrites : *Plasmodium chabaudi*, *Plasmodium vinckei*, *Plasmodium berghei*, *Plasmodium yoelii*, *Plasmodium aegyptensis* et *Plasmodium atheruri* (Schaer et al., 2013). Ces espèces sont retrouvées chez plusieurs espèces hôtes: *Grammomys surdaster*; *Praomys tulbergi*; *Thamnomys rutilans* et *Arvichanthus niloticus*. En Asie, les espèces *Petaurista petaurista grandis*, *Petaurista petaurista melanotus* et *Sciurus griseimanus* sont infectées respectivement par *Plasmodium wanetti*; *Plasmodium booliati* et *Plasmodium vassali* (Lien and Cross, 1968; Sandosham et al., 1965).

Les *Plasmodium* spp des rongeurs ont été bien étudiés au cours de ces dernières années mais on ne connaît pas grand-chose de leur écologie. ils sont considérés comme d'excellents modèle de recherche pour les études sur la biologie, l'immunologie et la chimiothérapie du genre *Plasmodium* (Cox, 1993). Toutefois, seules cinq espèces plasmodiales des rongeurs africains ont pu être caractérisées par les outils moléculaires : *P. vinckei*, *P. yoelii*, *P. chabaudi*, *P. berghei* et *P. atheruri* (Perkins et al., 2007).

Le premier *Plasmodium* de chauve-souris a été décrit en 1899 par Dionisi et a été nommé *Plasmodium melanipherum* (Coatney and Roudabush, 1936; Van Riel and Hiernaux-L'Hoëst, 1951). Ce parasite a été retrouvé chez plusieurs espèces de chauves-souris (*Miniopterus schreibersii* et *Vespertilio murinus*) et dans de nombreuses régions du monde

(Van Riel and Hiernaux-L'Hoëst, 1951). En dépit des nombreuses autres espèces identifiées, les premières espèces les mieux caractérisées ont été *P. melanipherum*, *P. pteropi*, *P. epomophori* et *P. roussetti* (Bearup and Lawrence, 1947; McGhee, 1949; Van Riel and Hiernaux-L'Hoëst, 1951) puis *Plasmodium cyclopsi* et de *Plasmodium voltaicum* chez les chauves souris africaines (Adam and Landau, 1970; Van Der Kaay, 1964). Seuls *Plasmodium cyclopsi* et *Plasmodium voltaicum* ont été étudiés à l'aide d'outils de biologie moléculaire, ce qui a permis de constater leur proximité génétique avec les parasites de rongeurs. Ces deux parasites de chauves-souris sont à présent considérés comme taxa « sœurs » de *P. berghei* et *P. yoelii* (Lutz et al., 2016) . D'autres espèces de l'ordre des Hemosporidae qui infectent les chauves-souris dont les parasites du genre *Polychromophilus*, *Hepaticocystis* et *Nycteria* (Schaer et al., 2013).

### I.3 FRANCHISSEMENT DE BARRIÈRES INTERSPÉCIFIQUES

Chez les primates, deux profils se dégagent chez les parasites du genre *Plasmodium* à savoir les sous-genres *Laverania* et *Plasmodium* (Gonzalez et al., 2013). Les parasites du sous-genre *Plasmodium* sont connus pour leur tendance généraliste et leur facilité à infecter plusieurs espèces hôtes. Cette facilité à franchir les barrières d'espèces pourrait expliquer l'émergence chez l'Homme de *Plasmodium* initialement décrit dans la population simienne. C'est le cas de *P. knowlesi* considérée comme la cinquième espèce la plus importante infectant l'Homme avec des niveaux d'infection avoisinant 70% en Asie du Sud-Est. Certains auteurs pensent que la proximité entre l'Homme et les PNHs a favorisé sans doute favorisé le passage *P. knowlesi* du macaque vers l'Homme (Antinori et al., 2013; Cox-Singh, 2012; Millar and Cox-Singh, 2015). Par ailleurs, Prugnolle et al. ; (2013), ont reporté la présence d'un *P. vivax*-like chez un voyageur d'origine caucasienne qui aurait séjourné en zone forestière, mais aussi un *P. vivax* chez un chimpanzé, démontrant ainsi les échanges de parasites entre Homme et grand singes et vice-versa (Prugnolle et al., 2013). A l'opposé, le sous-genre de *Laverania* se caractériserait par une spécificité hôte-parasite (Cserti and Dzik, 2007; Liu et al., 2010) (Figure 13). Chez les Grands Singes, aucune des études effectuées à ce jour en milieu naturel et prenant en compte un large éventail d'échantillons d'animaux sauvages n'a révélé la présence d'un *Plasmodium* du sous-genre *Laverania* qui infecterait à la fois les gorilles et les chimpanzés (Boundenga et al., 2015; Liu et al., 2010; Prugnolle et al., 2010). Ainsi, les auteurs ont conclu à une apparente spécificité d'hôtes chez les parasites du groupe *Laverania* qui serait d'ordre génétique et/ou écologiques. Du point de vue génétique cette spécificité serait due à l'interaction d'un

récepteur situé la surface des globules rouge et un ligand situe à la surface du parasite (**Rayner et al 2011**). Cette spécificité d'hôte à d'abord été attribuée à l'interaction entre l'antigène de liaison érythrocytaire PfEBA175 du parasite et le récepteur érythrocytaire hôte GYPA (Glycophorine-A) (**Martin et al., 2005**). Toutefois, cette hypothèse a été remise en cause par d'autres études qui ont suggéré que ce serait en fait l'interaction entre RH5-BSG qui serait à l'origine de la spécificité d'hôte des parasites du groupe des *Laverania* (**Wanaguru et al., 2013**). La question de savoir si cette spécificité est liée à des facteurs génétiques ou à l'influence des facteurs écologiques comme la préférence trophique des vecteurs (**Boundenga et al., 2015; Paupy et al., 2013**) reste encore énigmatique. Une première orientation pour les recherches futures est la récente étude de **Makanga et al. (2016)** qui montre que les vecteurs responsables de *Plasmodium simiens* n'ont pas de préférence d'hôtes (ils se nourrissent de toutes les espèces de PNHs).

Chez les petits singes Africains, des cas de transfert sont également documentés. **Prugnolle et al. (2011b)** ont décrit l'infection d'un Cercopithèque (*Cercopithecus nictitans*) par *P. praefalciparum* connu comme parasite de gorille. Cette étude met par ailleurs en évidence l'existence d'au moins deux types de *P. praefalciparum* 1 et 2. Le *P. praefalciparum* 1 infectant les gorilles et les petits singes (*C. nictitans*) et le *P. praefalciparum* 2 infectant uniquement les gorilles (**Gonzalez et al., 2013**). L'absence d'infection dans l'étude menée par (**Ayoub et al., 2012**) nourrit toutefois le débat sur la présence potentielle de *P. praefalciparum* chez les petits singes.

## **II. STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

### **II.1 DÉFINITION ET CLASSIFICATION**

Organisme unicellulaire procaryote dépourvu de réticulum, mitochondries et appareil de golgi. *Staphylococcus aureus* est une bactérie aéro-anaérobie facultative, oxydase négative, coagulase et catalase positives (**Baird-Parker, 1963; Liu et al., 2005**), remarquable par son aspect orné qui justifie le qualificatif « doré » de son autre appellation (**Liu et al., 2005**). Ce parasite ubiquitaire se rencontre aussi bien chez l'Homme que chez nombreuses espèces animales (**Akobi et al., 2012; Katakweba et al., 2016**). *S. aureus* est une bactérie appartenant au genre *Staphylococcus* dont l'aspect en grappes de raisin est à l'origine du radical « *staphyle* » qui est une traduction grecque de grappe de raisin (**Orenstein, 2011**)

La classification des staphylocoques a sans cesse évolué en se basant tour à tour sur la capacité des isolats à former l'acide à partir du glucose en milieu anaérobique (**Baird-Parker,**

1963), les caractères morphologiques et physiologiques de la bactérie ainsi que sur la composition de la cellule (**Baird-Parker, 1965**). Ainsi, la classification initiale plaçait le genre *Staphylococcus* dans la famille des *Micrococcaceae* (**Cordero and Zumalacárregui, 2000; Holt, 1969**) qui comprenait quatre genres (*Micrococcus*, *Stramatococcus*, *Planococcus* et *Staphylococcus*). Cette classification a laissé place à une nouvelle classification qui range les staphylocoques dans la famille des *Staphylococcaceae* (**Vos et al., 2011**), du phylum des *Firmicutes*, dans la classe des *Bacilli* et dans l'ordre des *Bacillales*. La famille des *Staphylococcaceae* comprend des bactéries à coloration Gram positif et compte cinq genres : *Jeotgalicoccus*, *Macrococcus*, *Salinicoccus*, *Nosocomiicoccus* et *Staphylococcus*, et environ une cinquantaine d'espèces et sous-espèces dont *Staphylococcus aureus* (**Euzéby, 2009**)

## II.2 HISTORIQUE

La première observation du Staphylocoque date de Louis Pasteur en 1877 (**Opinel, 2013**) mais sa description est l'œuvre du chirurgien Ecossais Alexander Ogston à partir d'un échantillon de pus en examen post-opératoire (**Orenstein, 2011**). Ces observations furent initialement nommés “*micrococci*” du grec “*kokkos*” pour graine à cause de leur forme arrondie ; puis quelques années après, il aboutit à la description des staphylocoques, par opposition aux streptocoques (coques en chaîne) (**Orenstein, 2011**). Plus tard, l'Allemand Rosenbach isola deux souches de staphylocoques différentes. Il nomma les colonies obtenues sur l'apparence de leur pigment phénotypique, c'est-à-dire en fonction de la couleur des colonies obtenues. Ainsi, *Staphylococcus aureus* était la souche de couleur «dorée» (d'où son nom commun de staphylocoque doré) et *Staphylococcus albus*, les souches de couleur blanches devenues *S. epidermidis* (**Orenstein, 2011**).

## II.3 ÉCOLOGIE

*Staphylococcus aureus* est une bactérie opportuniste, ubiquiste colonisant aussi bien les mammifères, les oiseaux que les reptiles (**Espinosa-Gongora et al., 2012; Katakweba et al., 2016**). Chez l'Homme qui est un réservoir (**Kluytmans et al., 1997a; Lamikanra et al., 1985; Noble et al., 1967**), il a un tropisme préférentiel pour les épithéliums des fosses nasales (**Amir et al., 2006; Kluytmans et al., 1997b**), de la cavité buccale, du tractus respiratoire (**Smith et al., 2001**) et la peau (**CDC., 2001; Kloos et al., 1976**). Il est retrouvé chez 23% à 60% de la population générale et jusqu'à 64% chez les enfants (**Amir et al., 2006; Smith et al., 2001**). Chez les animaux, *Staphylocoque aureus* est retrouvé chez diverses espèces d'animaux domestiques dont les chiens (**Katakweba et al., 2016; Morris et al., 2006**), les animaux d'élevages tel que le porc (**Armand-Lefevre et al., 2005**), la chèvre (**Vautor et al.,**



2005), le cheval (Haenni et al., 2010) ou les animaux des zoos (Espinosa-Gongora et al., 2012). Dans la faune sauvage, le portage a été rapporté chez plusieurs espèces dont les pigeons et les chauves-souris (Akobi et al., 2012; Katakweba et al., 2016), mais également chez les PNHs (Schaumburg et al., 2012a; Schaumburg et al., 2015). Les souches de *S. aureus*, y compris celles présentant des résistances aux antibiotiques, à l'exemple de la méticilline (SARM,<sup>8</sup>) sont également retrouvées dans l'environnement (l'eau, le sol) et les aliments (Devoyod et al., 1969; Sexton et al., 2006; Smith et al., 2010).

## II.4 STRUCTURE

Elle est composée de différents éléments organisés dont la capsule, la paroi, les flagelles ou le cytoplasme (Figure 14). Nous présenterons deux éléments d'intérêt pour notre travail, à savoir la paroi bactérienne et le cytoplasme:

### II.4.1 La paroi bactérienne

Elle comprend différents éléments constitutifs dont la protéine A. La protéine A est un composant de surface dont la synthèse est codée par le gène *spa* utilisé pour typer les souches (Frenay et al., 1996; Koreen et al., 2004). Elle est synthétisée par plus de 90% de souches d'origine humaine ou biotype A, et un peu moins par les souches d'origine animale (Avril et al., 2000). Elle est absente chez les staphylocoques à coagulase négative, sauf chez ceux d'entre eux qui possèdent une nucléase thermostable. La protéine A est anti-phagocytaire car il semblerait qu'elle soit capable de se fixer de façon non spécifique au « fragment Fc<sup>9</sup> » de presque toutes les Immunoglobulines (Kobayashi and DeLeo, 2013; Lowy, 1998) pour empêcher la phagocytose.

---

<sup>8</sup> SARM= *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (antibiotique de la famille des bêta-lactamines)

Fragment Fc<sup>9</sup> : c'est la région caudale de l'anticorps qui en se fixant aux récepteurs de surface cellulaire appelé « Fc », permet d'activer le complément et les activités du système immunitaire.

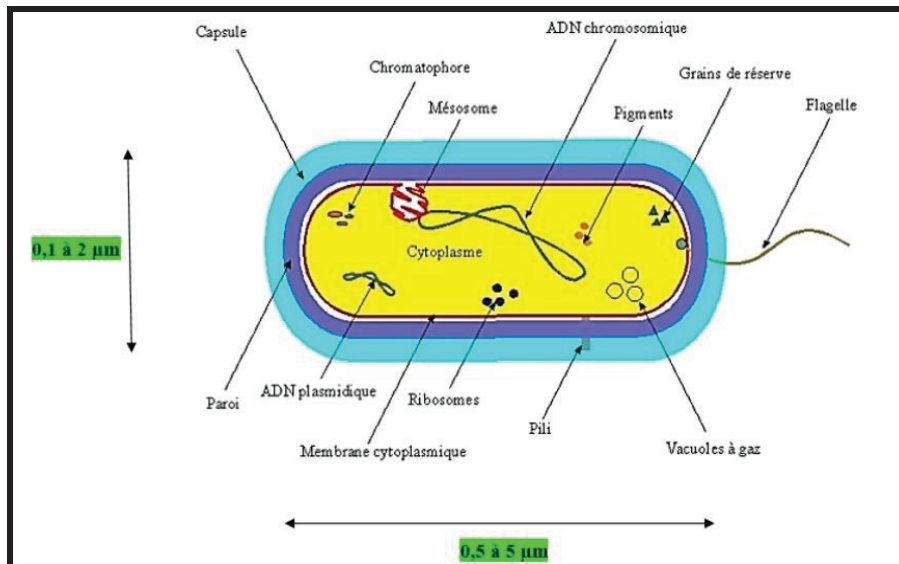


Figure 14: Structure du staphylocoque doré ([www.microbiologie-medicale.fr](http://www.microbiologie-medicale.fr))

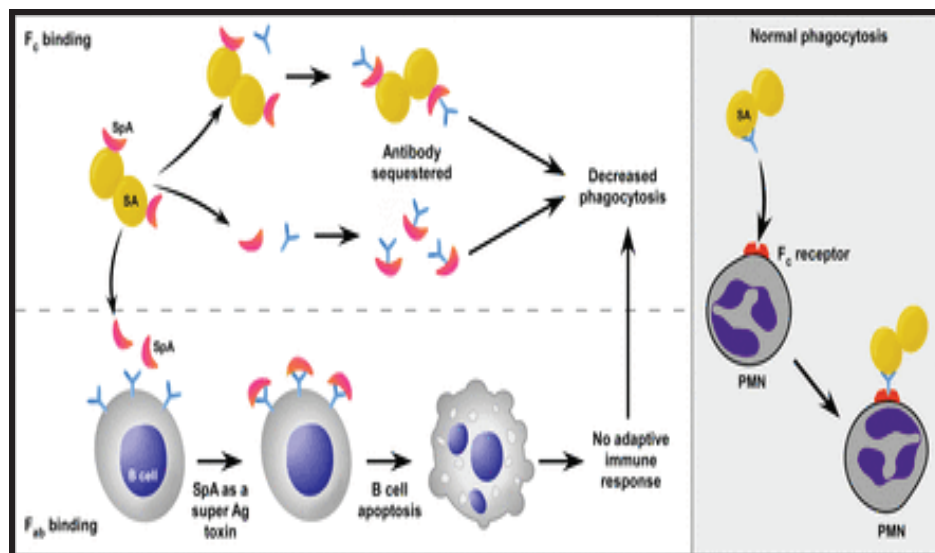


Figure 15: Les mécanismes d'évasion immunitaire de la protéine A (Kobayashi and DeLeo, 2013)

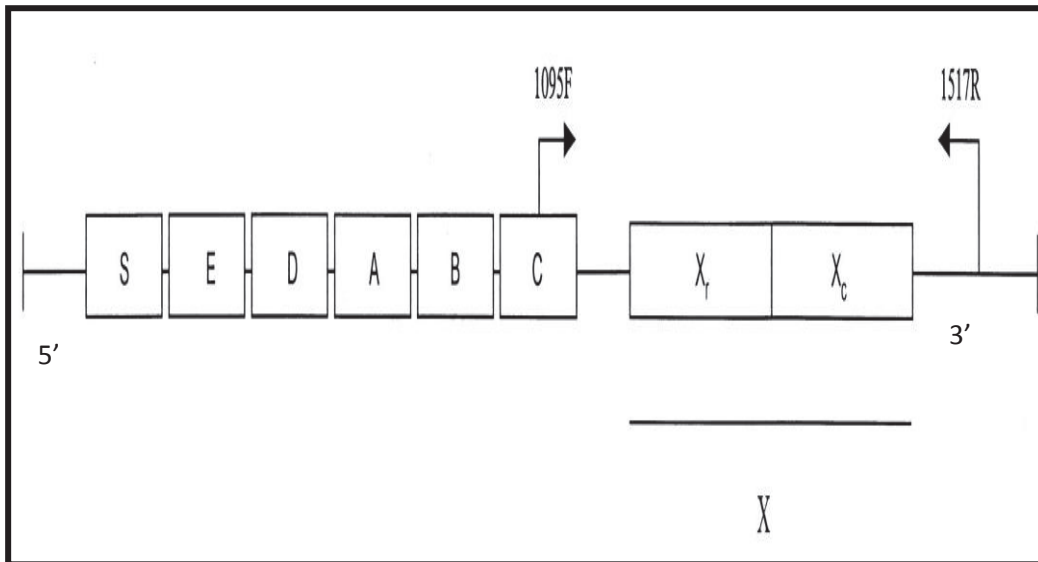
#### II.4.2 Le cytoplasme

Le cytoplasme comprend différents éléments, à savoir un génome sous forme de chromosome circulaire (Figure 13) composé d'environ 2619 à 2748 gènes (Lowy, 1998; Novick, 1990), et d'autres éléments dont des prophages, des plasmides intégrés, des transposons, des îlots de pathogénie et des cassettes résultant d'un transfert à partir d'une autre souche de *S. aureus* ou d'une autre espèce de bactérie gram positive (Lowy, 1998; Novick, 1990; Schaberg and Zervos, 1986). Les plasmides existent sous trois formes possibles que sont les plasmides I, II et III dont les tailles respectives varient de 5Kb à 60Kb. Ainsi, la classe I peut porter un ou

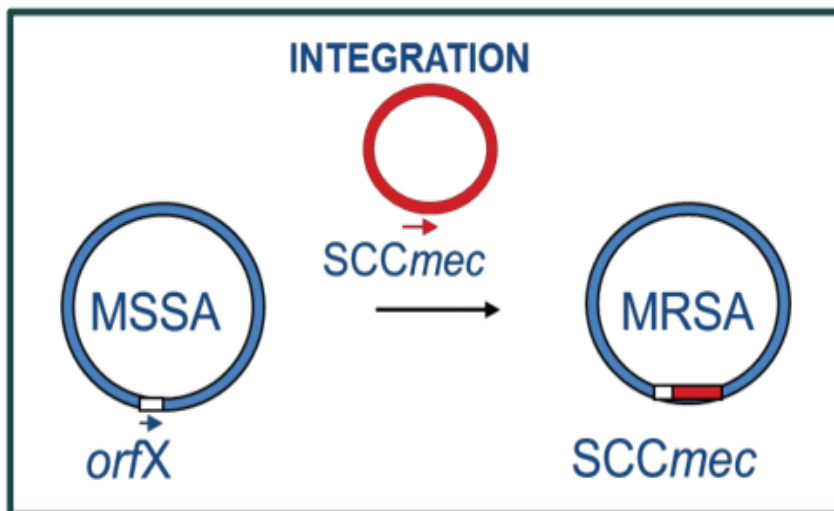


deux gènes codant pour la résistance aux antibiotiques tandis que le plasmide II peut en porter plusieurs parmi lesquels ceux de la résistance aux  $\beta$ -lactames. Ces gènes responsables de la résistance staphylococcique peuvent être transférables entre différentes souches (**Schaberg and Zervos, 1986**).

Dans ce travail, nous nous intéressons principalement à deux gènes, à savoir le gène *spa* et le gène *Mec A*. Le gène *spa* (Staphylococcal protein A) est le fragment d'ADN qui code pour la synthèse de la protéine A qui est exprimée à la surface du *S. aureus* (**El-Sayed et al., 2006; Koreen et al., 2004**). Ce gène peut être amplifié et analysé pour la caractérisation des souches (**Katakweba et al., 2016; Koreen et al., 2004**). Le gène *spa*, illustré par la **Figure 16**, est un ensemble de segments codants qui correspondent aux différentes cases. Elles codent pour la séquence signal (S) et marque l'extrémité N-terminale d'une protéine, la région liant l'immunoglobuline G (A-D), la région homologue à A-D (E), l'extrémité COOH de la protéine (X), qui comprend les microsatellites ou les courtes séquences répétées (Xr) et la séquence de fixation à la paroi cellulaire (Xc). Ainsi, la région polymorphique X du gène *spa* contient un nombre variable (2 à 23) de séquences répétées de 24 Pb. Cette variabilité est causée par l'ensemble des délétions, duplications et mutations à l'origine de la diversité génétique des souches de *S. aureus* (**Shopsin et al., 1999**). Le gène *mec A* est un fragment d'ADN inclus dans un élément génétique mobile à savoir la cassette staphylococcique ou SCCmec pour « staphylococcal cassette chromosome mec ». Ce fragment de 2,1 kb code pour une protéine située dans la membrane cytoplasmique (PLP2a) (**Chambers, 1997**) ; il a une affinité faible vis-à-vis des antibiotiques du groupe des beta-lactamines induisant ainsi une résistance à toute la famille des bêta-lactamines, notamment à la méticilline ou à l'oxacilline (**Chambers, 1997; Lowy, 1998**). L'acquisition de la cassette (**Figure 17**) peut se faire à partir d'une autre souche ou d'une autre espèce gram positive (**Archer and Niemeyer, 1994**) par transfert horizontal (**Hanssen and Sollid, 2006; Katayama et al., 2000; Kreiswirth et al., 1993; Musser and Kapur, 1992**).



**Figure 16:** Carte du gène *spa*: (Shopsin et al., 1999)



**Figure 17:** Illustration de l'acquisition de la cassette SCCmec (non publiée)

Par ailleurs, du fait de leur implication dans la détermination et la régulation de la virulence, plusieurs autres gènes ont fait l'objet de nombreuses études. Les principaux sont :

- ❖ Les gènes *lukS-PV-lukF-PV* (Leukotoxin Panton-Valentin) sont responsable de la synthèse des classes S et F, composants de la Leucocidine ou toxine de Panton-Valentine (LPV) qui provoquerait la perte de mobilité, la dégranulation, la destruction nucléaire et la lyse cellulaire des polynucléaires et des macrophages. Produite par près de 5% des souches de *S. aureus* (Lina et al., 1999), la LPV provoque la nécrose tissulaire, intervient dans la formation de pus (Dufour et al., 2002; Lina et al., 1999) et est associée aux infections sévères de la peau (CDC., 2001; Cribier et al., 1992).

- ❖ Les gènes agr (Accessory gene relator) et sar (Staphylococcal accessory regulator). Ils interviennent dans la régulation et l'induction de la virulence staphylococcique (**Booth et al., 1997; Cheung et al., 2001; Wesson et al., 1998**). Une étude effectuée sur les rongeurs montre que l'inactivation de ces gènes entraîne automatiquement une réduction de la virulence bactérienne due à *S. aureus* (**Cheung et al., 1994**).

## II.5 DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE ET CARACTÉRISATION DE SOUCHES

*Staphylocoque aureus* est connu pour sa grande diversité génétique (**Basic-Hammer et al., 2010; Schaumburg et al., 2012a**) avec une structure décrite en clone (souches ayant un ancêtre commun) nommée complexes clonaux (CCs) (**Basic-Hammer et al., 2010**). Bien que le transfert des gènes y compris le transfert latéral et les recombinaisons homologues contribuent à cette diversité, la mutation génétique demeure la principale source de la diversification (**Basic-Hammer et al., 2010; Bzymek and Lovett, 2001; Van Belkum et al., 1998**).

Chez l'Homme, la diversité génétique semble liée à l'individu, suggérant des conditions d'association hôte-bactérie optimale qui favoriseraient la colonisation (**Quinn and Cole, 2007; van den Akker et al., 2006**). En effet, plusieurs études réalisées dans différentes populations humaines ont révélé une diversité importante de souches communautaires (**Enright et al., 2000; Feil et al., 2003**) mais la dynamique de remplacement des souches et la fidélité à une niche semblent varier suivant l'état sanitaire ou physiologique des sujets. Chez des porteurs sains chroniques par exemple, la diversité intra-individuelle semble faible et l'alternance de souches au cours du temps peu fréquente (**Sakwinska et al., 2010**). Des tests réalisés sur les porteurs chroniques révèlent que même après décolonisation, l'inoculation de divers clones de *S. aureus* dans les fosses nasales de ces derniers conduit à une nouvelle colonisation par la souche résidante initiale (**Nouwen et al., 2004**). Certains auteurs suggèrent que ces souches antérieures qu'on pourrait qualifier d'« endémiques » ont un avantage sélectif qui expliquerait leur fidélité au site (**Sakwinska et al., 2010; Wertheim et al., 2004**). De même, Chez les patients hospitalisés, la diversité génétique est également élevée mais les remplacements des souches sont plus fréquents, contrastant avec la fidélité au site chez les porteurs sains (**Sakwinska et al., 2010**). On retrouve des résultats similaires chez les animaux notamment les PNHs, c'est-à-dire une diversité communautaire importante mais une diversité intra-individuelle faible; c'est le cas dans l'étude réalisée chez les singes et les grands primates au Gabon et en Côte d'Ivoire (**Schaumburg et al., 2012a**) ou dans les sanctuaires de

PNHs (**Schaumburg et al., 2012b**). Pour caractériser cette diversité, plusieurs méthodes sont utilisées.

- ❖ **MLST** (Multi Locus Sequence Typing). La méthode consiste en la caractérisation des séquences partielles de 7 gènes de ménages (*arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmK*, *pta*, *tpi*, *yqiL*) et l'attribution d'un ST (Sequence Typing) à la souche. Les types ayant 5 des 7 gènes en commun sont regroupés dans un même complexe clonal CC. Cette méthode est appropriée pour des études « macro-épidémiologiques » à grande échelle, pour suivre par exemple la dissémination de clones majeurs de *S. aureus* à l'échelle nationale ou internationale (**Enright et al., 2000**)
- ❖ **DLST** (Double Locus sequences typing) qui consiste en l'amplification et au séquençage partiel des gènes hypervariables *clfB* et *spa*. (**Kuhn et al., 2006, 2007; Sakwinska et al., 2009**)
- ❖ **PLFA** (Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés). La méthode consiste à faire digérer l'ADN génomique par deux enzymes de restriction (*EcoR1* et *Mse1*). Des adaptateurs sont ensuite ajoutés aux extrémités pour permettre la fixation des amorces sur les fragments (**Hookey et al., 1998; Sakwinska et al., 2009**).
- ❖ **Spa typing** qui consiste à caractériser le nombre et la structure des répétitions de la séquence codante pour la protéine A. En effet, la région polymorphique X du gène *spa* (**Figure 16**) contient un nombre variable (2 à 23) de séquences répétées de 24 Pb. L'analyse de ces répétitions après séquençage permet d'attribuer à chaque souche un profil « *spa* type » dont la définition et la nomenclature sont standardisées au niveau international (<http://spaserver2.ridom.de/spatypes.shtml>). Le « *spa* typing » est une méthode hautement discriminante adaptée aux études « micro-épidémiologiques afin d'identifier les sources potentielles et les voies de transmission (**Shopsin et al., 1999**)

Il est également possible de caractériser les souches à partir de la cassette contenant le gène de résistance *mec A* à la pénicilline SCC*mec*, du profil toxique avec les gènes *eta*, *etb* et *etd* (Exfoliative toxin A, B, D) qui codent pour la synthèse des toxines exfoliatives A, B et D (**Akineden et al., 2001; Becker et al., 1998**), et les gènes *hla*, *hlb*, *hlg* et *hld* (Staphylococcal alpha-toxin, beta-toxin, gammatoxin, delta-toxin) qui codent respectivement pour la synthèse des hémolysines alpha, beta, gamma et delta (**Jarraud et al., 2002**), ou le gène *tst* (Toxic shock syndrome toxin-1) qui est responsable de la synthèse de la toxine du syndrome de choc toxique (**Akineden et al., 2001; Becker et al., 1998**).

## II.6 STAPHYLOCOCCUS AUREUS ET NOTRE COMMUNAUTÉ D'HÔTES

Bien qu'un grand nombre d'études portant sur le staphylocoque doré ait été mené en milieu hospitalier portant essentiellement sur l'Homme, sa gamme d'hôtes couvre différents groupes taxonomiques (Porrero et al., 2013) dont les PNHs, les chauves-souris et les rongeurs. Les portages rapportés ou les souches typées à partir des primates en Afrique (Schaumburg et al., 2012a; Schaumburg et al., 2015), des macaques en Asie (Van Den Berg et al., 2011), des chauves-souris frugivore *Eidolon helvum* au Nigeria (Akobi et al., 2012) ou au Mexique (Galicía et al., 2014) et du rat *Rattus norvegicus* (Himsworth et al., 2014), sont des exemples de cette plasticité d'hôtes.

## II.7 LES SARM

### II.7.1 Historique des SARM

La Mécitiline est un antibiotique appartenant au groupe de bêta-lactamines qui a constitué pendant longtemps le traitement de première intention des infections staphylococciques (CDC., 2001). Le gène *mec* qui code pour la synthèse de la protéine A à l'origine de la résistance (Figure 17) est localisé sur un élément génétique mobile chromosomique appelé «Staphylococcal Cassette Chromosome» ou SCCmec (Figure 18) qui peut contenir d'autres gènes de résistances à d'autres antibiotiques (Katayama et al., 2000). La cassette SCCmec comprend deux éléments essentiels que sont le complexe du gène *mecA* (composé du gène *mecA* et des gènes régulateurs *mecI* et *mecR1* disposés en 4 classes) et le complexe du gène *Ccr* disposé en 5 types.

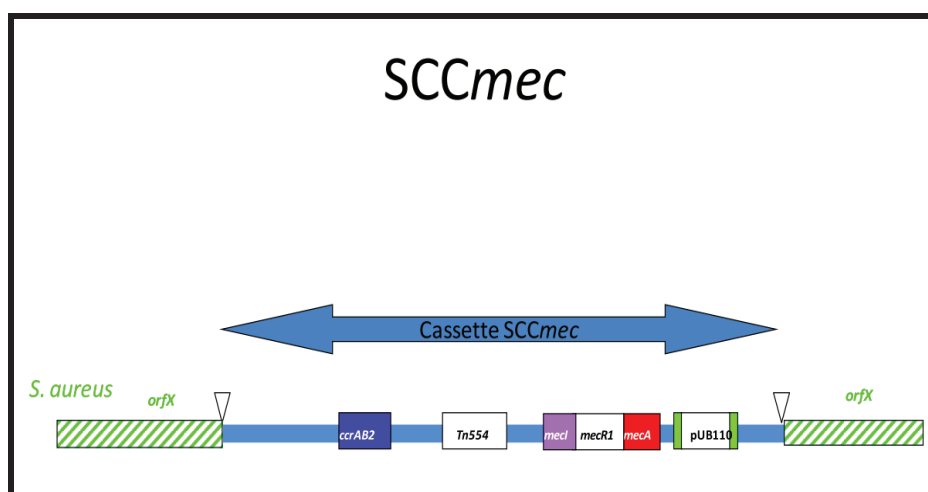


Figure 18: Composition de la cassette SCCmec (Ito et al., 1999)

La combinaison des différentes classes de complexe *mec* et des 5 types de recombinaison permet de définir le type de cassette (Ito et al., 1999) (Figure 19).

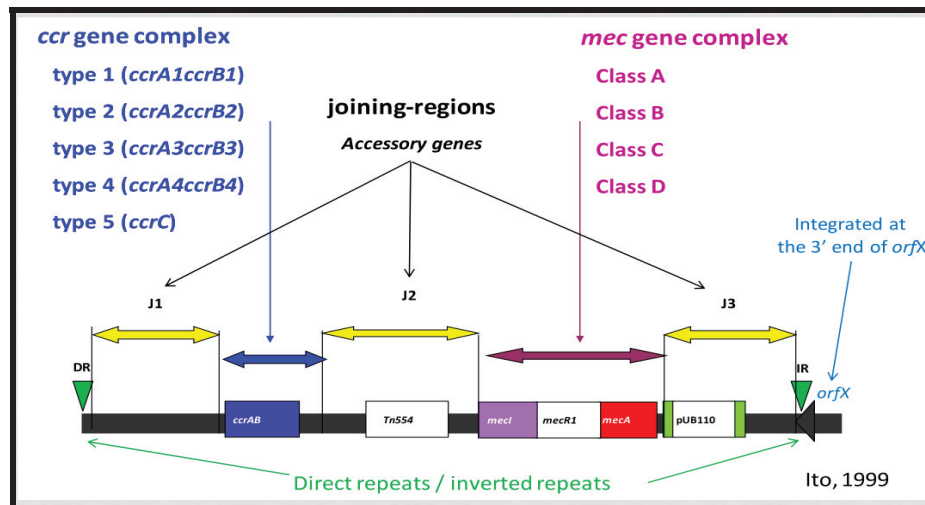


Figure 19: Composition des complexes gène *mec A* et gène *mec ccr* (Ito et al., 1999)

La première vague de résistance à la pénicilline intervient en 1962, juste un an après sa commercialisation (Madec and Haenni, 2010). De 1962 à 1993, 5 lignées ou clones multi-résistants, dénommés « Hospital-Acquired » (ou SARM-H) à l'origine des infections nosocomiales, vont diffuser très largement de manière épidémique dans les hôpitaux (Haenni et al., 2011; Rammelkamp and Maxon, 1942). La deuxième vague est marquée par la description et la dissémination entre 1990 et 2000 des SARM dit communautaires (SARM-C) dans la population générale (Australie, Europe, Amérique du Nord) (Lowy, 2003; Rammelkamp and Maxon, 1942), et la description chez l'homme de SARM d'origine animale (SARM-AE) dans les années 2000 (Armand-Lefevre et al., 2005; Krziwanek et al., 2009). Les clones de SARM-C ont la particularité d'être non seulement indépendants entre eux et vis-à-vis des SARM-H, mais ils sont plus sensibles que les SARM-H et rarement multi-résistants (CDC., 2001). Aujourd'hui, au-delà du milieu hospitalier, les SARM sont décrits chez un grand nombre d'espèces animales tant sauvages (Gomez et al., 2014; Himsworth et al., 2014; Schaumburg et al., 2012b) que domestiques (Katakweba et al., 2016), comme le porc avec le clone ST 398 couramment décrit en Europe (Vandendriessche et al., 2013).

## II.7.2 Épidémiologie des SARM

### **a) Les SARM Hospitalières**

Les SARM-H sont rencontrés dans les milieux hospitaliers; ils sont favorisés par un long séjour dans les unités sanitaires et sont généralement résistants à plusieurs antibiotiques (CDC., 2001).

### **b) Les SARM communautaires**

Les SARM-C sont des souches isolées chez des patients ambulatoires n'ayant ni fréquenté le milieu hospitalier depuis moins de 48h, ni eu recours aux soins médicaux (CDC., 2001). Les SARM-C se distinguent des SARM-H par la présence des marqueurs génétiques dont la toxine de Panton-Valentine ou LPV (Leucocidine de Panton-Valentine), la cassette SCCmec type IV, V, ou VII (CDC., 2001) et une clinique variée (pneumopathies nécrosantes, infections ostéo-articulaires, bactériémies) mais dominée par des infections de la peau et des tissus mous (CDC., 2001; King et al., 2006; Moran et al., 2005). Une étude menée dans les services d'urgences de 11 villes aux USA a montré que 57 % des infections de la peau et des tissus mous dues à *S. aureus* étaient des SARM et que 97 % d'entre elles étaient liées à la souche USA300<sup>10</sup> (Moran et al., 2006); un constat similaire a été fait par (Talan et al., 2011) alors que les conclusions d'une autre étude multicentrique menée en 2005 bien que discutée, affirmaient que les infections invasives à SARM provoqueraient aux États-Unis d'Amérique (USA) plus de décès par an que le VIH, la tuberculose et l'hépatite réunis (Boucher and Corey, 2008; Klevens et al., 2007).

A la différence des USA, la situation des SARM-C en Europe n'a pas évolué vers l'endémie et l'essentiel des souches décrites appartiennent au groupe clonal ST80, agrIII, qui possède les gènes codant la PVL, l'exfoliatine D (etd) et l'EDIN (epidermal cell differentiation inhibitor) (Tristan et al., 2007). On note cependant un patron de distribution avec des prévalences croissantes du Nord vers le Sud de l'Europe avec 1,6 % de prévalence en Angleterre (Holmes et al., 2005), 2,5% en Belgique et Allemagne (Vandendriessche et al., 2012), 25 % en Grèce (Chini et al., 2008) et 72% en Algérie (Ramdani-Bouguessa et al., 2006). En France, au cours d'une enquête menée entre 2002 et 2003 sur des isolats de staphylocoques échantillonnés dans 42 villes, les souches isolées appartenaient à deux clones dont un clone majeur (ST5) et un clone mineur (ST30). Ces clones ont été associés à la fois au SARM-H (12 cas) et d'autres reliés aux infections communautaires acquises ou SARM-C (8 cas) (Durand et al., 2006). Les autres faits épidémiologiques sont la tendance générale à l'augmentation des prévalences, la colonisation des hôpitaux par les SARM-C et surtout le

---

<sup>10</sup> USA300 est une souche de *Staphylococcus aureus* (MRSA) résistant à la méticilline, associée à la communauté, qui est apparue comme une épidémie particulièrement résistante aux antibiotiques.



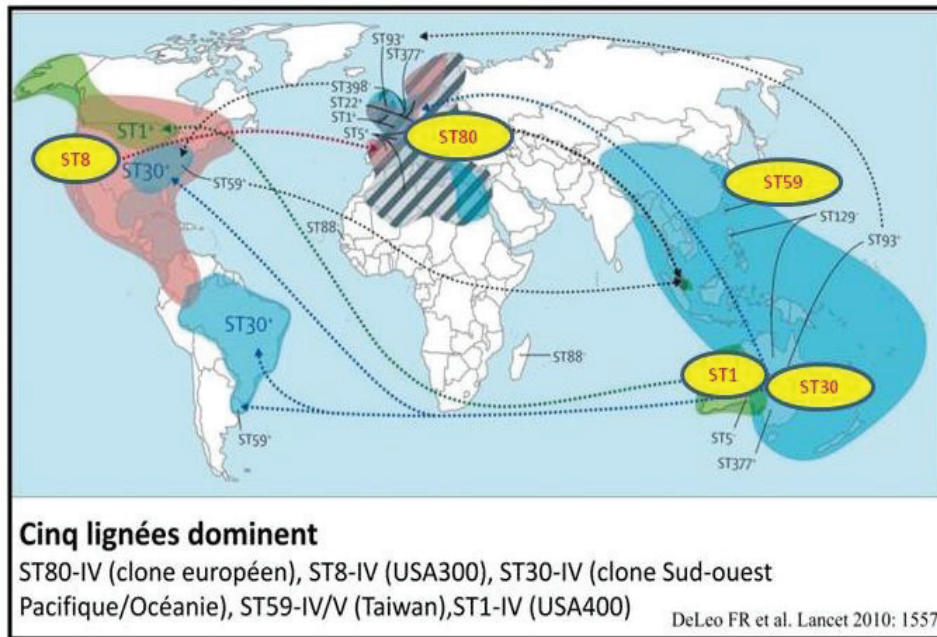
remplacement de SARM-H par les SARM-C (Sexton et al., 2006). Ces observations – illustrées aux USA où l'épidémiologie est dominée par le clone ST8 (USA300) avec des prévalences croissantes aussi bien dans la population générale que dans les hôpitaux (King et al., 2006; Miller et al., 2012; Talan et al., 2011) et à Taiwan où ST59 est responsable de 13% des infections nosocomiales (Huang et al., 2008), suggèrent une adaptation des SARM-C au milieu hospitalier (Klevens et al., 2007; Seybold et al., 2006). En Grèce, une étude rapporte que 23 % des SARM isolés en milieu hospitalier sont PVL (Chini et al., 2006) de même que 3% en Iran (Shariati et al., 2016).

Par ailleurs, à l'image de *Staphylococcus aureus*, la dispersion des SARM-C semble favorisée par la promiscuité. Les cas d'épidémies à USA300 rapportés chez des footballeurs (Kazakova et al., 2005), les prisonniers (CDC., 2001) ou la communauté homosexuelle à San-Francisco (Diep et al., 2008a) sont des exemples de l'effet de la promiscuité, alors que dans le premier cas, la souche responsable n'était pas retrouvée dans le nez des joueurs infectés, ni dans leur environnement ou chez les autres personnes de l'équipe (Kazakova et al., 2005). Cette observation suggère que la dynamique de propagation des SAMR-C se fait *via* diverses sources (peau, nez, etc.) et que les comportements favorisant la promiscuité et les contacts sont des comportements à risque.

Les SARM communautaires ont également une grande capacité à se diversifier et à disséminer. La diversification est autant génétique que vis-à-vis de la résistance aux antibiotiques. En Europe, ST80-IV est certes majoritaire mais il y a une tendance à la diversification des clones avec une proportion croissante du clone USA300 (Stegger et al., 2014). En Suède par exemple, entre 2000 et 2005, 38 % des SARM communautaires étaient représentés par le clone ST80-MRSA-IV, 16 % par le clone le ST8-MRSA-IV, 11% par le ST88-MRSA-IV et 11% par le variant ST150-MRSA-V. Au Danemark, le clone USA300 est fréquemment décrit depuis 2003 alors que depuis 1995, le clone ST80 était le clone prédominant (Fang et al., 2008). Par ailleurs, d'autres SARM-C non producteurs de PVL sont actuellement détectés. On peut citer le clone « Géraldine » qui appartient au ST5, groupe agr2, *SCCmec*-IV possédant le gène *tst* codant la toxine du choc toxique staphylococcique. Il a été identifié en 2006 en France (Durand et al., 2006). Une illustration de la diversification de la résistance aux antibiotiques est donnée avec le ST80 dont la gamme de résistance initialement limitée à la pénicilline, l'oxacilline, la kanamycine, la tétracycline et l'acide fusidique s'est étendue aux macrolides (érythromycine) (Tristan et al., 2007). Un exemple illustrant la capacité de dispersion est le clone CA-MRSA CC80 pour « Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* » (ST80) majoritaire en Europe (Figure 20)

(Stegger et al., 2014) mais qui serait issu d'un ancêtre sensible à la méthicilline PVL positif circulant en Afrique subsaharienne (Stegger et al., 2014). Il a été également identifié dans toute l'Afrique du Nord (Ramdani-Bouguessa et al., 2006), au Moyen-Orient avec des rapports sporadiques récents en Afrique sub-saharienne (Stegger et al., 2014). Cette capacité de colonisation des SARM communautaires est illustrée par la dispersion des cinq principaux types de SARM communautaire de la **Figure 20** (DeLeo et al., 2010; Diep and Otto, 2008) que sont :

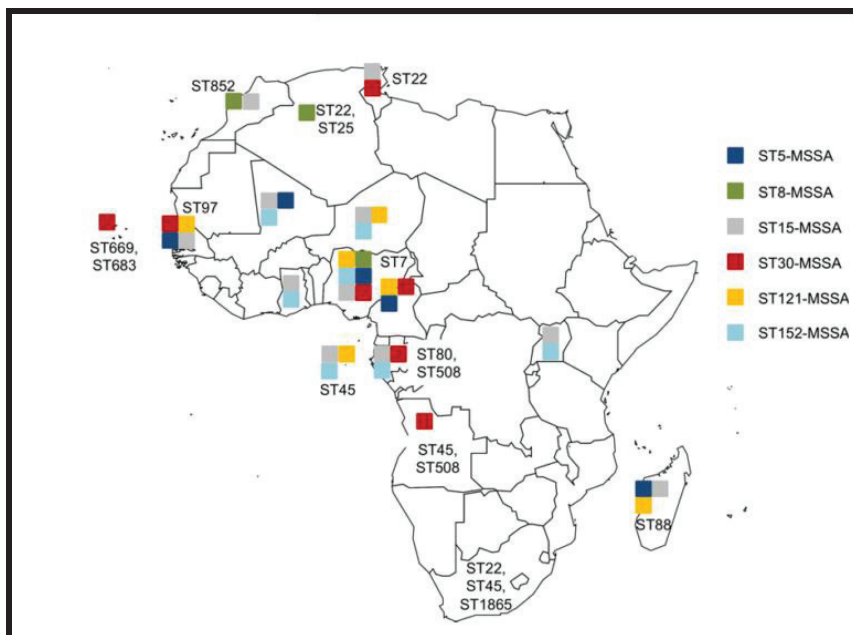
- ❖ **Amérique du nord:** clone USA300 (ST8-IV) endémique aux USA qui s'est par la suite disséminé (Tenover and Goering, 2009). La facilité de ce groupe à se disséminer résulterait de sa particularité d'héberger à la fois les gènes codant la PVL, comme la quasi-totalité des SARM-C et l'élément génétique mobile ACME (pour arginine catabolic mobile element) - qu'on trouve très rarement chez les autres groupes clonaux de SARM communautaires (Diep et al., 2008b; Goering et al., 2007)
- ❖ **Europe:** clone européen (ST80-IV) majoritaire (prévalence faible, mais en augmentation ; tendance à la diversification des clones avec une proportion croissante du clone USA300). Bien que fortement associé à des infections cutanées et des tissus mous, il est rare de le trouver parmi les porteurs asymptomatiques. Les souches CC80 sensibles à la méthicilline (SASM) sont extrêmement rares, sauf en Afrique subsaharienne (Stegger et al., 2014).
- ❖ **Sud-Ouest Pacifique/Océanie** (ST30-IV).
- ❖ **Asie:** clone Taiwanais (ST59-IV, ST59-V), USA700 (ST72-IV).
- ❖ **Océanie:** clone ST 1.



**Figure 20:** Répartition des 5 principaux clones communautaires (DeLeo et al., 2010).

- ❖ **En Afrique et au Gabon:** Les souches les plus répandues en Afrique sont le clone africain MRSA ST88 et le clone ST8. Le ST88 est très répandu en Afrique de l'Ouest, centrale et de l'Est et ne contient pas de gènes PVL<sup>11</sup>. Ce clone a été significativement associé aux infections à *S. aureus* au Gabon (Schaumburg et al., 2011b; Schaumburg et al., 2015). Les isolats MSSA les plus répandus dans des études antérieures au Gabon étaient ST15 et ST152 (Ateba Ngoa et al., 2012; Schaumburg et al., 2014b; Schaumburg et al., 2011b). Le tableau 21 représente les principaux clones communautaires du *S. aureus* en Afrique

<sup>11</sup> PVL: leucocidine de Panton-Valentine (toxine de Panton-Valentine)



**Figure 21:** Principaux clones communautaires du *S. aureus* en Afrique (Schaumburg et al., 2014b)

## II.8 CORRESPONDANCES MLST ET SPA TYPES DE QUELQUES CLONES

Selon que la méthode de typage utilisée soit du MLST ou du spa typing, le code de la souche va être respectivement précédé de « ST » ou « t ». Le tableau 4 donne pour quelques clones majeurs, les correspondances entre ces deux nomenclatures.

**Tableau 4 :** Correspondance MLST (ST) et spa typing de quelques clones majeurs

MLST (ST)	Spa typing	Références
ST1	t127, t128, t174, t175, t176, t386, t558	<a href="http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml">http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml</a>
ST8	t008, t024, t064, t190, t206, t211	<a href="http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml">http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml</a>
ST30	t012, t018, t019, t021, t138, t268, t276, t318, t338, t391	<a href="http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml">http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml</a>
ST15	t084, t085, t165	<a href="http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml">http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml</a>
ST152	t355, t4235	(Schaumburg et al., 2011b)
ST59	t199, t216, t444	<a href="http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml">http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml</a>

ST80	t044, t416	<a href="http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml">http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml</a>
ST88	t186	<a href="http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml">http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml</a>
ST121	t159, t170, t269, t284, t285, t308, t314, t317	<a href="http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml">http://spaserver2.ridom.de/mlst.shtml</a>

## II.9 TRANSFERT INTER-ESPÈCES

Le premier cas connu d'infection humaine par une souche d'origine animale est le clone ST398 provenant du porc (Cuny et al., 2010), identifié dans un élevage de porcs (Armand-Lefevre et al., 2005). D'autres cas ont été rapportés, par exemple des cas humains d'infections nosocomiales associés à des pneumonies parmi les propriétaires de chiens ou de chevaux en Allemagne et en Autriche (Witte et al., 2007), d'éleveurs de porcs au Canada (Golding et al., 2010) ou parmi les vétérinaires travaillant avec des porcs (Wulf et al., 2008).

La description de nouveaux cas humains en Autriche (Krziwanek et al., 2009) a été le point de prise de conscience ayant abouti à une grande étude menée dans plusieurs pays européens sur le portage de SARM chez le porc ([www.efsa.europa.eu/fr/scdocs/doc/1376.pdf](http://www.efsa.europa.eu/fr/scdocs/doc/1376.pdf)). Ce constat est une préoccupation majeure pour la santé publique du fait que la transmission porte parfois sur des souches résistantes aux antibiotiques (Rolland et al., 1985; Schaumburg et al., 2012b; Unwin et al., 2012). En primatologie, on notera le cas d'un gorille mort suite à une septicémie liée à la souche t148 (Nagel et al., 2013) qui est connu comme agent pathogène humain (Schaumburg et al., 2011a). Bien que discutée sur ses conclusions par (Unwin et al., 2012), la description de souches résistantes à la pénicilline dans un sanctuaire de chimpanzés (Schaumburg et al., 2012b) a été un déclencheur de la prise de conscience de ces échanges et des « mauvaises » habitudes médicales dans le monde de la primatologie.

## III. LES PARAMYXOVIRUS

### III.1 DÉFINITION ET CLASSIFICATION

Du grec para: «à côté de» et de myxa: "mucus", la famille des *Paramyxoviridae* est l'une des six familles qui forment l'ordre des *Mononegavirales* avec les familles des *Filoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Bornaviridae* et les deux nouvelles familles récemment introduites après la

dernière actualisation de 2016, à savoir les *Myxoviridae* et les *Nyamiviridae* (Afonso et al., 2016). Jusqu'en 2015, il était établi que la famille des *Paramyxoviridae* comprenait les sous-familles *Pneumovirinae* et *Paramyxovirinae* composées respectivement de 2 et 5 genres. Outre ces deux sous-familles, on retrouvait des espèces non classées dans chacune des deux sous-familles, à l'exemple des Mossman virus, Mapuera virus, Fer de lance virus. Dans la nouvelle classification actualisée par « l'International Committee on Taxonomy of Viruses » « ICTV » en 2015 (<http://www.ictvonline.org/virustaxonomy.asp>), il n'y a plus de sous-familles et deux nouveaux genres ont été créés pour classer les espèces autrefois non classées (Maganga et al., 2014a). A ce jour, en plus de deux nouveaux genres que sont les *Aquaparamyxovirus* et *Ferlavirus*, la famille comprend 5 autres genres: *Avulavirus*, *Henipavirus*, *Morbillivirus*, *Respirovirus* et *Rubulavirus* (Tableau 5) (Fauquet et al., 2005).

**Tableau 5 :** Classification des *paramyxoviridae*, (ICTV, 2016)

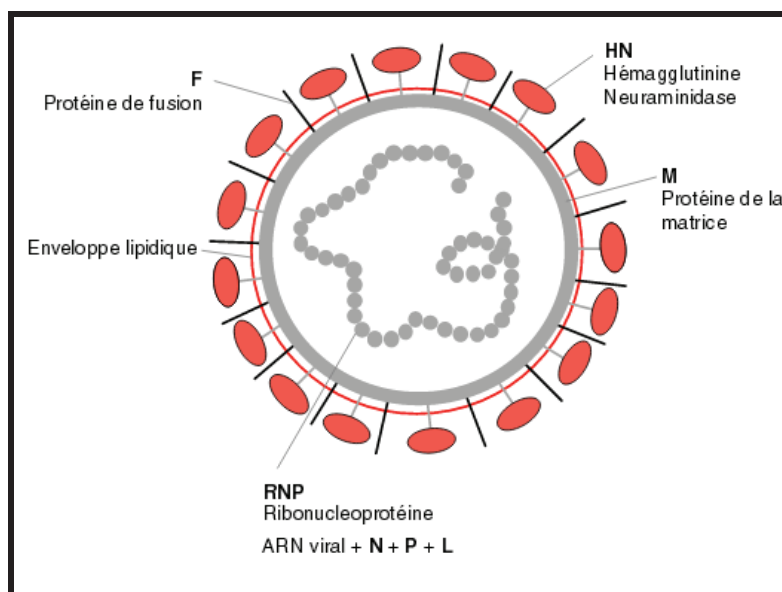
Genre	Hôtes	Transmission	sources
<i>Avulavirus</i>	Oiseaux	Contact*	(Mraidi, 2014)
<i>Morbillivirus</i>	Humain; chevaux Chien; Chat; Cétacés	Aérosol, contact* ingestion	(O'sullivan et al., 1997) (Hyatt and Selleck, 1996) (Ludlow et al., 2014)
<i>Aquaparamyxovirus</i>	Poissons	Inconnue	-
<i>Henipavirus</i>	Homme, Chauves-souris	Contact* Morsure (zoonose)	(Agut et al., 2000) (Field et al., 2001) (Clayton, 2017) (Chua et al., 1999)
<i>Respirovirus</i>	Homme, Rongeurs	Aérosol	(Agut et al., 2000)
<i>Rubulavirus</i>	Homme; PNHs; oiseaux; Chiens	Aérosol, salive	(Agut et al., 2000) (Chant et al., 1998)
<i>Ferlavirus</i>	Reptiles	Inconnue	-

\*contact avec les matières souillées (féces, sécrétions)

Cependant, malgré cette nouvelle classification, certains virus restent non classés; c'est le cas des virus Belinga Bat Paramyxovirus (BelPV) identifiés chez la chauve-souris *Coleura afra* au Nord du Gabon (Maganga et al., 2014a), du virus J (J virus) isolé chez le rat *Mus musculus* (Jun, 1976; Jun et al., 1977) et du virus Beilong (BeiPV) isolé chez l'Homme (Li et al., 2006).

### III.2 STRUCTURE ET ORGANISATION DU GÉNOME

Les virus de la famille des *Paramyxoviridae* sont de forme généralement sphérique avec un diamètre compris entre 150 et 350 nm. La structure générale du virion est constituée d'une membrane double couche lipidique dans laquelle sont insérées des glycoprotéines de surface que sont la protéine F et la protéine d'attachement HN ou H/G qui interviennent dans les mécanismes d'agglutination et de pénétration des cellules hôtes (Lund et al., 1984). Cette structure sphérique enveloppe la nucléocapside (ou complexe ribonucléoprotéique, RNP) qui contient un génome à ARN monocaténaire (Terrier et al., 2008) (Figure 22).

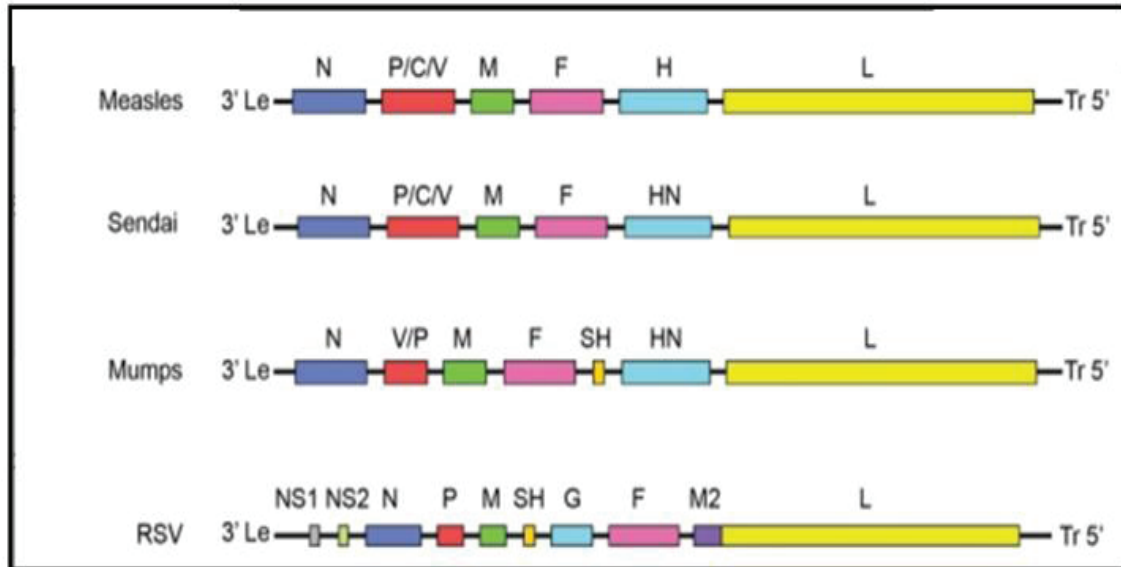


**Figure 22:** Organisation du virion des paramyxovirus. La nucléoprotéine (N) et de la Phosphoprotéine (P) forme la ribonucléoprotéine (RNP) qui constitue le génome du virion (Terrier et al., 2008)

L'ARN génomique est enroulé très étroitement autour de la protéine de la nucléocapside qui permet la transcription des ARN messagers *in vitro* sans se désassembler (Harris et al., 2001; Money et al., 2009) (Figure 22). Constitué d'environ 15500 nucléotides, le génome des virus comprend six gènes codant pour les protéines structurales (7 dans le cas des virus du genre *Rubulavirus* et 10 dans le cas de ceux du genre *Pneumovirus*) et des gènes codant des protéines "accessoires" (C et V) (Lamb, 2007; Peeters et al., 1999).



Sur le plan fonctionnel, le génome, se distingue par deux régions correspondant à 50 nucléotides aux extrémités 3' et 5' : ces régions dites « leader » pour l'extrémité 3' extracistronique et « trailer » pour l'extrémité 5' extracistronique, qui sont des sites de régulation de la réplication et la transcription (**Figure 23**)



**Figure 23:** Organisation génomique de quelques virus de la famille des Paramyxoviridae. Exemple du virus de la rougeole (Measles), des oreillons (Mumps), de Sendai (Sendai) et le virus respiratoire syncytial (RSV). le segment violet représente la portion du gène codant pour les nucléoprotéines (N); le segment vert, les phosphoprotéines (P); le segment vert : la matrice (M) ; le segment rose : les protéines de fusion (F); le segment bleu-ciel : les protéines d'attachement (H) ; le segment jaune : la polymérase (L) (Cox and Plemper, 2015).

### III.3 DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE

La famille des paramyxovirus est caractérisée par une importante diversité d'espèces sans cesse en croissance. En effet, Jusqu'en 2012, on dénombrait 57 taxa dont 36 seulement étaient recensés par ICVT<sup>12</sup> (<http://www.ictvonline.org/virustaxonomy.asp>). En 2012, 66 nouvelles espèces vont s'ajouter suite à une étude sur des chauves-souris et des rongeurs (Drexler et al., 2012). A ce jour 43 espèces seulement sont reconnues et classées par ICVT, comme illustré dans le tableau 6). Certains virus à l'exemple du J virus isolé à partir rat *Mus musculus* (JPV ; Genbank : NC\_007454) en Australie (Jack et al., 2005) ou du Tupaia paramyxovirus (TupPV ; Genbak : NC\_002199) (Springfeld et al., 2005), sont encore non classés (Zeltina et al., 2016).

<sup>12</sup> ICVT : International Committee on Taxonomy of Viruses

Tableau 6 : Diversité des paramyxovirus (<http://www.ictvonline.org/virustaxonomy.asp>)

Genres	Espèces classées	Quelques espèces	N° d'accession Genbank
<i>Aquaparamyxovirus</i>	1	<i>paramyxovirus du somon de l'Atlantique (AsaPV)</i>	NC_025360
<i>Avulavirus</i>	12	<i>paramyxovirus aviaire 6 (APMV6)</i> <i>Newcastle disease virus (NDV)</i>	NC_003043 AF212323 / NC_002617
<i>Ferlavirus</i>	1	<i>Fer-de-lance virus (FdlPV)</i>	NC_005084
<i>Henipavirus</i>	5	<i>Ghanaian bat henipavirus (GhV)</i> <i>virus Cedar (CedPV)</i> <i>virus Nipah (NiV)</i> <i>virus Hendra (HeV)</i> <i>virus Mojiang (MojPV)</i>	HQ660129 NC_025351 NC_002728 NC_001906 NC_025352
<i>Morbillivirus</i>	7	<i>morbillivirus felin (FmoPV)</i> <i>virus de la maladie de Carré (CDV)</i> <i>virus de la rougeole (MeV)</i> <i>peste-des-petits-ruminants virus (PPRV)</i>	JQ411014 AY386315 NC_001498 FJ905304
<i>Respirovirus</i>	5	<i>virus Sendai (SeV)</i> <i>virus parainfluenza humain 1 (hPIV1)</i> <i>virus parainfluenza humain 3 (hPIV3)</i> <i>virus parainfluenza bovin virus 3 (bPIV3)</i>	NC_001552 NC_003461 AY283063 /NC_001796.2 NC_002161
<i>Rubulavirus</i>	7	<i>Virus Tioman (TioPV)</i> <i>virus Menangle (MenPV)</i> <i>virus Tuhoko 1 (ThkPV1)</i> <i>Virus parainfluenza humain virus 2</i> <i>Virus parainfluenza 5 (PIV5)</i> <i>virus des oreillons (MuV)</i> <i>rubulavirus porcin (PorPV)</i>	NC_004074 NC_007620 NC_025410 NC_003443 (PIV5) NC_006430 NC_002200 NC_009640

### III.4 ECO-ÉPIDÉMIOLOGIE DES PARAMYXOVIRUS

Une caractéristique commune des parasites dit émergents est sans doute le lien de causalité existant entre leur émergence et les changements des conditions écologiques, environnementales ou démographiques (**Daszak et al., 2001; Guernier et al., 2004; Taylor et al., 2001a**). Ces changements peuvent favoriser l'abondance des vecteurs, la circulation et la transmission interspécifique de parasites cantonnés jusque-là à un environnement donné (**Lederberg et al., 1992; Smolinski et al., 2003**). Dans le cas des paramyxovirus, les connaissances écologiques sur les conditions d'émergence sont susceptibles d'évoluer tant les nouveaux genres récemment décrits à l'exemple des *Ferlavirus* et *Aquaparamyxovirus* (<http://www.ictvonline.org/virustaxonomy.asp>) sont à documenter et/ou à classer (**Maganga et al., 2014a; Zeltina et al., 2016**). Toutefois, pour les virus documentés, il est admis que la transmission se fait de manière directe (inhalation de sécrétions rhinopharyngées émises par un sujet infecté au cours d'un éternuement par exemple) ou indirecte par l'intermédiaire des produits souillés (**Plowright et al., 2008**). Une fois transmis, le virus est véhiculé par les sécrétions rhinopharyngées avant de pénétrer dans les voies respiratoires supérieures où il se multiplie pour atteindre une bonne virémie, puis se localise dans les organes cibles tels que le poumon, le foie la rate et les reins. Dans une étude longitudinale portant sur le virus Hendra (HEV) dans une population de chauve-souris de l'espèce *Pteropus scapulatus*, (**Plowright et al., 2008**) ont montré que : (i) l'état physiologique notamment la gestation, le stress nutritionnel lié aux changements climatiques ou d'habitat influençaient de façon significative la prévalence du virus HEV, suggérant que les changements environnementaux d'origines anthropiques pourraient favoriser l'émergence de HEV; (ii) le virus HEV se transmettait *via* les matières biologiques souillées (fèces, sécrétions, urine) et (iii) suivant les saisons, l'espèce *Pteropus scapulatus* jouerait un rôle dans la persistance et la transmission interspécifique de HEV (**Plowright et al., 2008**).

Lors de l'épidémie due au virus Nipah en Malaisie en 1998 et 1999, ayant causé le décès de 105 personnes sur 265 infectées parmi les agriculteurs et éleveurs de porcs (**Chua et al., 2000**), les enquêtes épidémiologiques ont montré que les porcs à l'origine de l'infection humaine (**Chua et al., 2000; Field et al., 2001**) s'étaient probablement infectés à partir des fèces, urine ou débris alimentaires d'espèces de chauves-souris frugivores du genre *Pteropus spp.*, réservoir du virus (**Chua et al., 2002**) ; elles ont aussi montré que les vergers installés à proximité des élevages pour utiliser les déchets comme engrais, étaient fortement colonisés

par les chauves-souris en saison de maturation de fruits (**Kaw Bing et al., 2002**). Ces observations ont été confirmées par les données de télémétrie qui ont montré que les chauves-souris frugivores *Pteropus vampyrus* (**Field et al., 2001**) étaient attirées par les vergers en période de maturation des fruits (**Spencer et al., 1991**). Un lien similaire entre la déforestation, l'agriculture, l'immigration de chauves-souris et l'émergence des virus Hendra and Nipah a été établi lors des épidémies à ces virus en 2001 et 2004 en Inde (**Field et al., 2001; Hsu et al., 2004; Kumar, 2003**). Ces observations corroborent le principe largement soutenu par plusieurs auteurs (**Daszak et al., 2001; Guernier et al., 2004; Taylor et al., 2001b**) qui établit que l'émergence des maladies infectieuses est favorisée par des changements environnementaux ou démographiques liés aux activités humaines (**Morse, 1996; Wolfe et al., 2005**).

Sur le plan épidémiologique, la description des paramyxovirus est rapportée sur tous les continents soit occasionnellement, à l'exemple du virus Belinga Bat Paramyxovirus (BelPV) identifié au Gabon chez des chauves-souris *Coleura afra* et du J virus isolé chez le rat *Mus musculus* (**Jun et al., 1977; Maganga et al., 2014a**) ou chez l'Homme, soit de façon sporadique lors des épidémies comme celles des virus Nipah et Hendra respectivement en Malaisie, Singapour et en Inde (**Chua et al., 2000; Field et al., 2001**). Le manque d'informations sur les conditions écologiques des infections dans la faune sauvage au Gabon (**Drexler et al., 2012; Maganga et al., 2014a**) ne nous permet pas de distinguer leur caractère épidémique ou endémique.

#### **III.4 LES PARAMYXOVIRUS ET LES MODÈLES HÔTES DE CETTE ÉTUDE**

Les paramyxovirus sont décrits chez divers types d'hôtes (**Tableau 5**) dont les mammifères (**Drexler et al., 2012**), reptiles (**Marschang et al., 2009**) et poissons (**Falk et al., 2008**). L'Homme est un hôte privilégié aussi bien pour les infections cycliques à tendances épidémiques à l'exemple de l'épidémie au virus Hendra qui aboutit à la mort d'un dresseur de chevaux en Australie (**Murray et al., 1995**), que pour les infections sporadiques rapportées au Canada, en Malaisie (**Bastien et al., 2003; Boivin et al., 2002; Chua et al., 2000**), en Australie de 1999 à 2008 (**Field, 2008**) ou en Malaisie avec l'exposition d'un Homme au virus Tioman ou à un virus apparenté (**Yaiw et al., 2007**). Les chauves-souris et les rongeurs sont également connus pour abriter plusieurs espèces de paramyxovirus. Diverses études menées chez plusieurs espèces de chauves-souris ou rongeurs ont abouti soit à un diagnostic direct de l'ARN viral, soit à la mise en évidence des anticorps témoins de l'infection. Dans

cette étude menée par **Drexler et al. (2012)** sur un échantillon de 4954 chauves-souris et 4324 rongeurs (**Drexler et al., 2012**), 3.3% des chauves-souris correspondant à six (6) familles sur dix (10) étudiées, et 3,1 % des rongeurs ont été testés positifs. Le rôle de chauves-souris comme réservoir de paramyxovirus est également illustré par les chauves-souris frugivores *Pteropus spp.* avec les virus Hendra et Nipah en Asie, en Australie et en Afrique (**Chua et al., 2002; Drexler et al., 2009; Field et al., 2001; Hayman et al., 2008**), et par la caractérisation d'une nouvelle espèce dite (BelPV)<sup>13</sup> chez une chauve-souris cavernicole (*Coleura afra*) du Gabon (**Maganga et al., 2014a**). L'isolement du virus Tailam à partir de *Rattus andamanensis* à Hong Kong (**Woo et al., 2011**), du virus Mossman chez *Rattus leucopus* en Australie (**Miller et al., 2003**) ou l'isolement du J-virus chez *Mus musculus* (**Jack et al., 2005**) confirment la réceptivité des rongeurs aux paramyxovirus.

Les PNHs sont aussi sensibles aux infections par les paramyxovirus. Les investigations menées après la mort d'une femelle gorille dans les groupes habitués de gorilles de montagne (*Gorilla g. beringei*) à la suite d'une pathologie respiratoire au Rwanda, ont révélé une infection concomitante entre *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* et un *metapneumovirus* humain (**Palacios et al., 2011; Spelman et al., 2013**). Dans ces programmes d'habituation de gorilles dans la région de virunga au Rwanda, les maladies respiratoires constituent la deuxième cause de mortalité après le traumatisme (**Mudakikwa et al., 2001**). Entre 1968 et 2004, 24 % de cas de mortalité documentés étaient causés par une maladie respiratoire sévissant sous forme d'épidémie (**Nutter et al., 2005**). Aucune étude ne nous permet cependant d'affirmer que toutes ces maladies respiratoires sont liées aux paramyxovirus.

### III.5 TRANSMISSION INTERSPÉCIFIQUE

Le développement de la phylogénie a permis non seulement d'améliorer l'étude de l'histoire évolutive des parasites dont les paramyxovirus, mais aussi d'asseoir le potentiel interspécifique de certaines espèces de ce groupe. La comparaison phylogénétique d'isolats provenant d'épidémies mortelles liées au virus Hendra en Australie et Nipah en Asie (**Chua et al., 2000; Hsu et al., 2004**) ont permis d'établir l'origine animale (chauves-souris du genre *Pteropus*, porcs et chevaux) par acquisition sporadique des souches animales par l'Homme (**Chua et al., 2000; Drexler et al., 2012; Field et al., 2001; Yaiw et al., 2007**). Ces

---

BelPV<sup>13</sup> : Belinga paramyxovirus.

observations sont confortées par la description chez l'espèce *Eidolon helvum* au Ghana de fragments de séquences proches de celles isolés chez l'Homme (Drexler et al., 2009). Par ailleurs, une étude récente a rapporté des cas d'infection de chauves-souris frugivores porteuses d'un virus proche du virus des oreillons (Mumps virus) infectant l'Homme et d'un nouveau clade proche du virus respiratoire syncytial humain (Drexler et al., 2012). Ce résultat suggère que ces virus auraient une origine monophylétique (Drexler et al., 2012).

Dans le cadre de l'interaction Homme vs PNHs, divers échanges de paramyxovirus ont été rapportés notamment dans les programmes de suivi pour l'habituation de groupes à but touristique, les parcs ou les zoos. Dans le cadre des programmes d'habituation portant essentiellement sur les Grands Singes (gorilles, chimpanzés, orang-outang), le but étant d'habituer les PNHs à la présence de l'homme. Les animaux sont en contact direct avec les équipes de vétérinaires, d'éthologues et les touristes (Spelman et al., 2013). Le Tableau 7 présente une synthèse de différents cas rapportés dans la littérature.

**Tableau 7:** Quelques cas de zoonoses liées au paramyxovirus enregistrés dans les programmes d'habituation de gorilles de montagne (*Gorilla g. beringei*) et sanctuaire de PNHs

Pathogène	Source	Hôte d'accueil	Pays	références
<i>MPVh</i>	Homme	Gorilles	Rwanda	(Palacios et al., 2011) (Spelman et al., 2013)
<i>VPIh3</i>	Homme	Babouins	Zambie	(Sasaki et al., 2013)
<i>VRSh</i>	Homme	Chimpanzés	Côte d'ivoire	(Köndgen et al., 2008)
<i>MPVh</i>	Homme	Chimpanzés	Côte d'ivoire	(Köndgen et al., 2008)
<i>VRSh</i>	Homme	Chimpanzés	Allemagne	(Szentiks et al., 2009)
<i>MPVh</i>	Homme	Chimpanzés	Tanzanie	(Kaur et al., 2008)

*VPIh3*= Virus *parainfluenza* human type 3 ; *VRSh* = virus respiratoire syncytial humain  
*MPVh* =*Metapneumovirus* humain.



**Deuxième partie :  
Approche Méthodologique**



# I. PRÉSENTATION DU SUJET DE THÈSE

## I.1 PROBLÉMATIQUE

Au cours de ses dernières années, plusieurs auteurs ont soutenu que l'émergence des nouvelles maladies chez l'Homme est principalement due à des changements d'hôtes par les agents infectieux, du fait des modifications environnementales engendrées par les activités humaines (Mackenstedt et al., 2015; Patz et al., 2000; Smith et al., 2009). Cependant, la plupart de ces études se sont essentiellement intéressées à la compréhension de la dynamique des agents infectieux séparément les uns des autres et généralement au sein d'une seule espèce hôte (Nizeyi et al., 2001; Spelman et al., 2013). Cette vision néglige trois aspects importants qui pourraient constituer des axes majeurs dans les interactions hôte/Parasites, la circulation et la persistance des agents infectieux. Premièrement, les infections simultanées par plusieurs agents peuvent largement modifier la dynamique intra-individuelle et populationnelle de chacune des espèces hôtes. Ainsi donc, il devient important d'étudier non plus les agents séparément mais d'étudier l'ensemble des communautés de pathogènes au sein d'une espèce hôte. Deuxièmement, un agent infectieux peut alterner (e.g. pathogènes vectorisés) ou coloniser (e.g. présence de réservoirs, pathogènes généralistes) différents hôtes qui influencent chacun l'épidémiologie de l'agent et exercent sur lui des pressions sélectives spécifiques. Il est donc important d'étudier la circulation des agents infectieux au niveau de la communauté d'hôtes et non plus à l'échelle d'une seule espèce réservoir. Enfin, de nombreux agents potentiellement pathogènes circulent de façon asymptomatique dans les populations (e.g. le foamy virus<sup>14</sup> et le SIV<sup>15</sup> chez les mandrills). Il est donc important de centrer le questionnement non plus sur les cas symptomatiques qui ne représentent qu'une partie émergée de l'interaction et des processus, mais sur la détection des cas asymptomatiques rendue possible par la disponibilité des méthodes de criblages moléculaires.

Situé à l'interface forêt-savane au sud-est du Gabon, le Centre de Primatologie (CDP) du Centre International de Recherche Médicale de Franceville (CIRMF) au Gabon abrite près de 350 individus d'une dizaine d'espèces réparties dans deux types d'habitats qui sont les volières et les enclos de semi-liberté. Alors que les volières abritent les gorilles (*Gorilla gorilla gorilla*), chimpanzés (*Pan troglodytes troglodytes*), macaques (*Macaca* sp), vervets (*Chlorocebus aethiops*), mangabeys (*Cercocebus torquatus*), les enclos de semi-liberté

---

<sup>14</sup> Foamy virus: encore appelé spomavirus, c'est un rétrovirus infectant aussi bien les Hommes que les PNHs avec le prototype PFV (pour Primate Foamy Virus)

<sup>15</sup> SIV : Virus de l'immunodéficience simienne

arborés sont des écosystèmes de plus de 8 ha de forêt qui abritent les mandrills (*Mandrillus sphinx*) et les solatus (*Cercopithecus solatus*). Aussi bien en volière qu'aux enclos de semi-liberté, les zones de nourrissage des PNHs constituent des vrais carrefours avec les micromammifères (rongeurs et musaraignes) et les chauves-souris frugivores qui se nourrissent de bananes destinés à l'alimentation de primates et des débris alimentaires issus du nourrissage de ces derniers. Les nourrissages sont effectués par des soigneurs qui, après des contacts étroits et répétés avec les PNHs durant les heures de travail, regagnent leur foyer où cohabitent généralement plusieurs personnes. Situé dans les Plateaux Bateké près de la frontière du Congo, le Projet de Protection des Gorilles (PPG) abrite uniquement les gorilles (*G. g. gorilla*) alors que le Parc de Lékédi à Bakoumba (Lek) comprend aussi bien les gorilles (*G. g. gorilla*) que les chimpanzés (*P. t. troglodytes*). Sur ces deux (2) sites, les soigneurs sont également au contact avec ces animaux qu'ils suivent et accompagnent quotidiennement. De par la diversité d'espèces hôtes qui y cohabitent, le Centre De Primatologie du CIRMF et ces deux (2) sanctuaires de PNHs pourraient constituer de véritables lieux de convergence qui, en permettant les contacts soient directs (Homme vs PNHs), ou indirects (Homme, PNHs vs chauves-souris, micromammifères), favoriseraient la circulation et la persistance d'agents pathogènes entre les différents hôtes vivant dans ces environnements confinés. Si ces échanges sont confirmés, des réelles réponses dans la gestion sanitaire du risque infectieux doivent être discutées car si la transmission des agents pathogènes humains aux Grands Singes est un problème de conservation, la voie de transmission supposée est un problème de santé humaine, voire de santé publique. A titre d'exemple, la pandémie de sida est née du passage et de l'adaptation du virus d'immunodéficience de chimpanzé (SIV) à l'homme (VIH) (Luby et al., 2009).

## **I.2 OBJECTIFS DE LA THÈSE**

En combinant des études épidémiologiques sur le terrain à la fois chez l'Homme et les communautés animales, le séquençage et des analyses phylogénétiques ainsi que la modélisation statistique, la thèse abordera les deux grandes problématiques suivantes :

**Premier volet :** Recherche des agents infectieux d'intérêt (*Plasmodium spp.*, *staphylococcus aureus* et les paramyxovirus) circulant dans la communauté d'hôtes

Une première partie de la thèse consistera, grâce aux techniques de criblages moléculaires avec des systèmes de PCR « pan » et/ou spécifiques, de PCR nichée et/ou d'ensemencement

sur milieu de culture, à rechercher les pathogènes d'intérêt dans notre communauté d'hôtes du CDP (micromammifères, chauves-souris et PNH), du PPG et de LEK (PNHs et Hommes). Les données de détection et de génotype permettront d'estimer les prévalences et la distribution des agents (*plasmodium spp*, *staphylococcus aureus* et divers espèces de paramyxovirus) en fonction de plusieurs paramètres : espèce hôte, sexe, site, classe d'âge des individus. L'objectif est de mettre en évidence l'existence d'éventuels groupes d'individus plus efficaces dans la transmission d'un agent. Ils renseigneront à terme sur les modes de transmission des agents infectieux, ceux-ci jouant aussi un rôle clé dans l'évolution des interactions et le risque infectieux pour l'homme. Les mêmes agents infectieux identifiés seront recherchés chez les soigneurs en contact direct avec les primates non-humains

**Deuxième volet :** Les agents infectieux qui circulent dans ces communautés sont-ils spécialistes d'une espèce ou au contraire généralistes ? Quels sont les facteurs qui peuvent structurer les échanges entre espèces hôtes ?

A partir des séquences des gènes ou fragments de gènes d'intérêt des différents agents infectieux, nous construirons des phylogénies qui seront superposées à celles des espèces hôtes. Cette approche nous permettra d'émettre des hypothèses sur le patron de circulation des pathogènes entre espèces. Selon les cas, un modèle mathématique sera développé à travers l'étude de facteurs de risque et des observations de circulation des agents, pour vérifier la cohérence des hypothèses qui pourront être émises au regard des patrons de circulation observés entre espèces.

## II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

La présentation des Méthodes utilisées sera succincte, ces informations étant contenues dans les différentes publications scientifiques (cf. partie résultats).

### II.1 AUTORISATION ÉTHIQUE

Après conception, le projet a d'abord été présenté au Comité National d'Éthique et de la Recherche du Gabon (CNER). Bien que le projet ait été validé (**accord n° (PROT/0020/2013/SG/CNE)**), le comité a émis deux avis majeurs à savoir (i) le refus de capturer les micromammifères et chauves-souris dans les parcs et (ii) le refus d'insérer les puces électroniques sur les micromammifères et chauves-souris capturés au CDP. En effet, du fait du caractère protégé de toute vie dans les limites des parcs, la capture de chauves-souris et de micromammifères (rongeurs et musaraignes) n'a été autorisée qu'au CDP. Puis,

le CNER a refusé l'insertion de puce électronique pour l'identification des individus au risque de les rendre impropre à la consommation. Les micromammifères et chauves-souris capturés au CDP ont dû être euthanasiés.

## II.2 SITES D'ÉTUDE

Cette étude a été menée au Gabon, dans trois sites (**Figure 24**) situés dans la province du Haut-Ogooué, au sud-est du pays à savoir le sanctuaire du Parc de la Lékédi (LEK) ( $1^{\circ} 28' 0''$  S /  $13^{\circ} 0' 0''$  E), le Projet de Protection des Gorilles (PPG) ( $1^{\circ} 35' 3.84''$  S /  $14^{\circ} 15' 56.73''$  E) et le Centre de Primatologie (CDP) du Centre International de Recherche médicale de Franceville ( $1^{\circ} 37' 59''$  N /  $13^{\circ} 34' 59''$  E) (CIRMF). Ces structures sont localisées dans les cartes des articles scientifiques.



**Figure 24** : sites d'étude

## II.3 ECHANTILLONNAGE

Les prélèvements ont été réalisés chez le personnel et les PNHs de 3 sites ainsi que chez les micromammifères (rongeurs et musaraignes) et les chauves-souris du CDP. Ils étaient constitués d'un tube de sang EDTA pour la recherche de *plasmodium spp*, d'écouvillons nasaux ou oraux pharyngé pour la recherche du *staphylococcus aureus* et des selles (Homme), fèces (PNHs), et organes chez les micromammifères et chauves-souris (rate, foie,

intestin) pour la recherche de paramyxovirus. Les prélèvements humains ont été réalisés par l'équipe médicale du CIRMF lors des visites de travail. Comme recommandé par le CNER, les prélèvements nous ont été transmis sous anonymat codifié pour une traçabilité indispensable au rendu de résultats. Les PNHs ont été prélevés par l'équipe vétérinaire du CIRMF lors des contrôles sanitaires annuels (**Figure 25**). Les animaux tranquilisés chimiquement (anesthésie de 0.1mg de ketamine<sup>R</sup> /Kg de poids vif) ont été prélevés en respectant les conditions de bien-être animal comme recommandé par la PASA (« Pan Africain Sanctuaries »). Les captures de rongeurs et de chauves-souris ont été réalisées suivant les recommandations du CNER énoncées ci-dessus. Les rongeurs ont été capturés à l'aide de pièges de types tomawak et Sherman appâtés de noix de palme (**Duplantier, 1989**). Les chauves-souris ont été capturées à l'aide de filets de capture.



**Figure 25:** Contrôle sanitaire d'un chimpanzé (*Pan t. troglodytes*) au parc de Lékédi (Photo, CDP)

## II.4 ÉTUDES MOLÉCULAIRES

### II.4.1 Recherche parasitaire

#### ❖ *Les Plasmodium spp*

La phase d'extraction de l'ADN a été réalisée à partir de 200µl du sang total à l'aide du kit Qiagen (Blood and Tissue) suivant les indications du fabricant (Qiagen, Courtaboeuf,

France). La qualité de l'extraction a été contrôlée par dosage des acides nucléiques au spectrophotomètre.

Le statut parasitaire des individus a été déterminé par PCR nichée d'un fragment du gène du Cytochrome b (Cyt-b) (Ollomo et al., 2009; Prugnolle et al., 2010). Pour vérifier l'absence d'erreurs et de possibles contaminations, les analyses ont été répétées 3 fois par différents expérimentateurs pour les échantillons positifs. Davantage d'informations sur les méthodes utilisées au cours de cette thèse sont contenues dans les différentes publications scientifiques (cf partie résultats).

#### ❖ *Staphylocoque aureus*

Les prélèvements étaient ensemencés sur milieu de cultures spécifiques, chromatogène SAID (*Staphylococcus aureus* Identification) pour l'isolement et l'identification de *S. aureus*. Les échantillons positifs en culture ont été repiqués sur la gélose ordinaire, inactivés pendant 20 minutes à 95°C puis l'ADN a été extrait à l'aide du kit GeneJet genomic lit 250 (Fisher scientific S.A.S) suivant les recommandations du fournisseur. La qualité de l'extraction a été contrôlée par dosage des acides nucléiques au spectrophotomètre. L'identification moléculaire de *S. aureus* s'est faite par amplification du gène *Nuc* (Kunz and Parsons, 2009) et le typage des souches par la méthode du *spa* typing (Frenay et al., 1996; Koreen et al., 2004; Murakami et al., 1991). L'étude de SARM s'est faite par amplification du gène *mec A* (Becker et al., 2006; Murakami et al., 1991).

#### ❖ Paramyxovirus

Pour faciliter le traitement des échantillons, l'extraction de l'ARN viral a été réalisée par "pool" de 4 échantillons de même espèce et de même nature (fèces ou organes) comme décrit précédemment par (Maganga et al., 2014a). L'extraction a été faite à l'aide du kit EZ1 virus kit2.0 et EZ1 RNA tissue mini kit suivant les recommandations du fabricant (QUIAGEN®, hilden, Allemagne). La qualité de l'extraction a été contrôlée par dosage des acides nucléiques au spectrophotomètre.

Le protocole d'amplification de l'ARN viral (gène L) a nécessité une première phase (reverse transcription ou RT-PCR) de synthèse du brin complémentaire suivie d'une deuxième étape d'amplification (PCR semi-nichée). Pour chaque "pool" formé, 3 analyses PCR ont été effectuées pour tester chacun des groupes : RMH, AR et PNE, correspondant aux genres



*Respirovirus*, *Morbillivirus* et *Henipavirus* (RMH), *Avulavirus* et *Rubulavirus* (AR) et *Pneumovirus*, et *Metapneumovirus* (PNE) (Drexler et al., 2012; Maganga et al., 2014a)

#### II.4.2 Séquençage, analyse des séquences et phylogénie

##### ❖ *Plasmodium* spp

Après séquençage par la méthode de Sanger (dont le principe repose sur la détermination de l'ordre des quatre nucléotides dans un brin d'ADN (Maganga et al., 2013; Nowak, 1994), les séquences étaient comparées à celles du cytochrome b disponibles dans GenBank pour les différents genres d'Haemosporidia (*Plasmodium*, *Hepatocystis*, *Haemoproteus* et *Leucocytozoon*) à l'aide du logiciel Blast ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)). L'alignement de nos séquences et des séquences déjà publiées a été faite à l'aide du logiciel MEGA5 (Molecular Evolution Genetics Analysis) (Tamura et al., 2011) et sur le site PhyML :(<http://www.phylogeny.fr/>) (Guindon et al., 2009). La méthode utilisée pour les analyses phylogénétiques repose sur le maximum de vraisemblance ML (Maximum Likelihood) (Guindon et al., 2010). Les valeurs des branches internes ont été déterminées par bootstrapping (Rannala and Yang, 1996; Stamatakis et al., 2004; Yang, 1994).

L'analyse du polymorphisme nucléotidique ou SNP pour « single nucleotide polymorphism » permet de distinguer l'origine humaine ou animale du *P. falciparum* (Liu et al., 2010; Prugnolle et al., 2011b).

##### ❖ *Staphylococcus aureus*

Après vérification des séquences fournies par eurofines en les comparant aux séquences du gène *spa* disponibles sur Genbank (à l'aide du logiciel Blast), celles-ci ont été traitées à partir des logiciels DNAGear (AL-Tam et al., 2012) et BURP (Mellmann et al., 2007) pour l'alignement, le typage de souches et l'analyse des clones.

#### II.5 ANALYSES STATISTIQUES

Les analyses statistiques ont été faites avec le Logiciel R (Version R i386 3.1.0). Les différentes prévalences ont été comparées à partir des tests de khi-2 ( $\chi^2$ ) en utilisant les corrections de Bonferroni dans le cas de comparaison multiples. Les prédictions formulées dans les différentes parties de la thèse ont été testées en utilisant des modèles de régression logistique MLG (Modèles Linéaires Généralisés) et/ou MLGM (Modèles linéaires Généralisés Mixtes) (cf. Résultats, partie méthodologique dans les publications scientifiques).



# **Troisième partie : Résultats**

Dans cette partie, nous présentons les résultats de notre étude sous forme de trois (3) publications scientifiques (Un articles publié, deux articles soumis). En amont de chacune de ces publications, nous présentons un résumé (en français) de chacun des articles en indiquant le contexte ; les objectifs, résultats et grandes conclusions desdits articles.

**Article 1** (publié): The host specificity of ape malaria parasites can be broken in confined environments. METTRE TOUTES LES INFOS SUR LA REVUE? AUTERUS

**Article 2** (soumis): Spread and persistence of resistant strains of *Staphylococcus aureus* to methicillin: the importance of host spectrum.

**Articles 3** (Soumis): Lack of paramyxovirus circulating in Non-Human Primates (NHPs) sanctuaries and Primatology center in Gabon.

Ces articles sont disposés sous forme de 3 chapitres. En annexe, nous présentons la liste de quatorze **(13)** articles produits en collaboration durant la période de thèse, deux **(2)** communications orales et un **(1)** poster.

## Chapitre 1 : Diversité et circulation de *Plasmodium* spp dans les programmes et projets de conservations de PNHs.



Prélèvement sanguin d'un Mandrill (*Mandrillus Sphinx*) lors d'un contrôle sanitaire au Centre de Primatologie du CIRMF (Photo CDP, 2013).

## RÉSUMÉ

### Contexte

La diversité de *Plasmodium* a été largement documentée au cours de ces dernières années chez les primates africains (**Boundenga et al., 2015; Prugnolle et al., 2010**). Cependant, les études précédentes ont révélé que les parasites du genre *Laverania* présentaient une forte spécificité d'hôtes apparente (**Liu et al., 2010**). Parmi ces *Plasmodium* spp, quatre espèces sont connues pour infecter les chimpanzés (*P. reichenowi*, *P. billcollinsi*, *P. gaboni* et *P. billbrayi*) et trois chez les gorilles (*P. praefalciparum*, *P. blacklocki* et *P. adleri*). Bien que *P. falciparum* qui infecte l'Homme ait été signalé chez des Grands Singes (**Duval et al., 2010; Krief et al., 2010**), aucune étude *in natura* n'a révélé un partage des parasites *Laverania* entre chimpanzés et gorilles.

Les sanctuaires de PNHs et centres de primatologie sont des milieux mettant fréquemment en contact différentes espèces (mammifères, Hommes, chauves-souris, micromammifères, vecteurs) de manière rapprochée de par les ressources alimentaires ou en abris rencontrés sur ces différents sites. Cependant, la promiscuité et fréquence élevée de contacts sont connus pour favoriser la circulation et la transmission de pathogènes (**Altizer et al., 2003; Smith et al., 2009**). Nous émettons donc l'hypothèse que ces conditions environnementales particulières offertes par les sanctuaires et autres centres de primatologie pourraient favoriser le franchissement de barrières d'espèces. Ainsi, nous avons échantillonné et analysé des prélèvements sanguins issus de travailleurs, PNHs, chauves-souris et micromammifères dans les sanctuaires de PNHs et Centre de primatologie au sud du Gabon.

### Résultats

Sur l'ensemble des trois (3) sites, 1407 prélèvements sanguins dont 85 prélèvements humains, 709 de PNHs, 423 rongeurs et 190 chauves-souris ont été analysés pour la recherche de *Plasmodium* spp après extraction et dosage de l'ADN extrait. Au CDP, la phase d'amplification du *Cytochrome-b* par PCR nichée a révélé que 31,79% des chimpanzés, 69,57% des gorilles, 17,65% des travailleurs, 0,48% de Mandrills et 1 cephus (soit 0,86 parmi les petits singes) étaient présumés porteurs de *Plasmodium* spp. Parmi les micromammifères, un (1) seul échantillon de rongeur (*Mus musculus*) soit 0,0023% et 24,74% des individus chauves-souris étaient identifiés positifs en PCR. Au Parc de Lékédi, 74,6% d'échantillons de chimpanzés, 100% de gorilles et 21,43% de travailleurs étaient positifs. Au PPG, 50% soit 2 gorilles sur 4 étaient positifs. L'analyse des séquences a révélé que toutes les chauves-souris positives et le cephus étaient infectés d'*Hepatozoon* et le

rongeur par *P. vinckei*. Alors qu'aucun *Plasmodium* simien n'a été décrit chez les travailleurs, des cas d'infections simien par *Plasmodium falciparum* (parasite de l'Homme), de chimpanzés par *P. Adleri* (parasite de gorille) ou de gorille par *P. reichnowi* (parasites de chimpanzés) ont été rapportés. L'origine humaine des infections simiennes par *Plasmodium falciparum* a été confirmé par l'analyse des SNP 3 et 4 (Annexe1).

## **Conclusion**

Nos résultats suggèrent que la barrière de la spécificité d'hôtes des parasites du sous-genre *Laverania* n'est pas complètement imperméable. Nos observations corroborent les résultats des études de **Krief et al. (2010)** et de **Duval et al. (2010)**, qui montrent que les transferts sont en effet possibles lorsque plusieurs espèces hôtes vivent à proximité. Nous montrons pour la première fois que même les parasites qu'on pensait cantonnés à une seule espèce (*P. adleri* chez le gorille et par *P. reichnowi* chez le chimpanzé) sont capables de changer d'hôtes lorsque les conditions environnementales sont réunies. Enfin, bien qu'aucun parasite simien n'ait été décrit chez l'Homme, l'ignorance que nous avons des possibles effets d'un tel transfert impose désormais que les contrôles de santé dans les sanctuaires s'établissent au-delà du simple diagnostic clinique (qui ne permet pas de discriminer les souches) en intégrant une approche moléculaire dans le suivi de veille sanitaire et de l'épidémio-surveillance moléculaire.

## **Article 1: The host specificity of ape malaria parasites can be broken in confined environments**

**Publié à Int J Parasitol.** 2016 Oct;46(11):737-44. doi: 10.1016/j.ijpara.2016.06.004



## The host specificity of ape malaria parasites can be broken in confined environments <sup>☆</sup>



Barthélémy Ngoubangoye <sup>a,b,c,\*</sup>, Larson Boundenga <sup>d,e,\*</sup>, Céline Arnathau <sup>f</sup>, Illich Manfred Mombo <sup>f,g</sup>, Patrick Durand <sup>f</sup>, Thierry-Audrey Tsoumbou <sup>a</sup>, Bertony Vacky Otoro <sup>a</sup>, Rick Sana <sup>a</sup>, Alain-Prince Okouga <sup>d</sup>, Nancy Moukodoum <sup>d</sup>, Eric Willaume <sup>h</sup>, Anaïs Herbert <sup>a</sup>, David Fouchet <sup>b,c</sup>, Virginie Rougeron <sup>d,f</sup>, Cheikh Tidiane Bâ <sup>e</sup>, Benjamin Ollomo <sup>d</sup>, Christophe Paupy <sup>f</sup>, Eric M. Leroy <sup>f</sup>, François Renaud <sup>d,1</sup>, Dominique Pontier <sup>b,c,1</sup>, Franck Prugnolle <sup>d,f,1</sup>

<sup>a</sup> Centre de Primatologie, CIRMF, B.P. 769, Franceville, Gabon

<sup>b</sup> Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, UMR5558, Université Lyon 1, France

<sup>c</sup> LabEx ECOFECT, Eco-evolutionary Dynamics of Infectious Diseases, University of Lyon, France

<sup>d</sup> Unité de Biodiversité, Ecologie et Evolution des Parasites, CIRMF, B.P. 769, Franceville, Gabon

<sup>e</sup> Laboratoire d'Écologie et Biologie Evolutive, Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP5005, Senegal

<sup>f</sup> Laboratoire MIVEGEC, UM-CNRS 5290-IRD 224, IRD Montpellier, France

<sup>g</sup> Département de Zoonoses et maladies émergentes, CIRMF, B.P. 769, Franceville, Gabon

<sup>h</sup> Parc de La Lékédi, Société d'Exploitation du Parc de La Lékédi/Entreprise de Recherche et d'Activités Métallurgiques/Compagnie Minière de l'Ogooué, BP 52, Bakoumba, Gabon

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 1 March 2016

Received in revised form 9 June 2016

Accepted 16 June 2016

Available online 30 July 2016

#### Keywords:

Human

Great apes

*Laverania* subgenus

Host specificity

Cross-species transfers

Sanctuaries

### ABSTRACT

Recent studies have revealed a large diversity of *Plasmodium* spp. among African great apes. Some of these species are related to *Plasmodium falciparum*, the most virulent agent of human malaria (subgenus *Laverania*), and others to *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* and *Plasmodium vivax* (subgenus *Plasmodium*), three other human malaria agents. *Laverania* parasites exhibit strict host specificity in their natural environment. *Plasmodium reichenowi*, *Plasmodium billcollinsi*, *Plasmodium billbrayi* and *Plasmodium gaboni* infect only chimpanzees, while *Plasmodium praefalciparum*, *Plasmodium blacklocki* and *Plasmodium adleri* are restricted to gorillas and *Plasmodium falciparum* is pandemic in humans. This host specificity may be due to genetic and/or environmental factors. Infrastructures hosting captive primates, such as sanctuaries and health centres, usually concentrate different primate species, thus favouring pathogen exchanges. Using molecular tools, we analysed blood samples from captive non-human primates living in Gabon to evaluate the risk of *Plasmodium* spp. transfers between host species. We also included blood samples from workers taking care of primates to assess whether primate-human parasite transfers occurred. We detected four transfers of *Plasmodium* from gorillas towards chimpanzees, one from chimpanzees to gorillas, three from humans towards chimpanzees and one from humans to mandrills. No simian *Plasmodium* was found in the blood samples from humans working with primates. These findings demonstrate that the genetic barrier that determines the apparent host specificity of *Laverania* is not completely impermeable and that parasite exchanges between gorillas and chimpanzees are possible in confined environments.

© 2016 Australian Society for Parasitology. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Malaria is a mosquito-borne human disease caused by protozoan parasites of the genus *Plasmodium*. Among the five parasites known to infect humans (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax* and *Plasmodium knowlesi*), *P. falciparum* is by far the most virulent and each year is responsible for approximately 200 million clinical cases and 580,000 deaths worldwide (World Health Organization, 2014)

<sup>☆</sup> New sequences reported in this study were deposited in GenBank under the following accession numbers KU759788–KU759838.

\* Corresponding authors at: Centre de Primatologie, CIRMF, B.P. 769, Franceville, Gabon (B. Ngoubangoye). Unité de Biodiversité, Ecologie et Evolution des Parasites, CIRMF, B.P. 769, Franceville, Gabon (L. Boundenga).

E-mail addresses: [genistha@hotmail.com](mailto:genistha@hotmail.com) (B. Ngoubangoye), [laronamedeo@yahoo.fr](mailto:laronamedeo@yahoo.fr) (L. Boundenga).

<sup>1</sup> Equal contributions.



In African apes (gorillas and chimpanzees), which are genetically our closest relatives, a large diversity of *Plasmodium* parasites has been documented. Some of them are related to *P. falciparum* (subgenus *Laverania*) and others to *P. malariae*, *P. ovale* or *P. vivax* (subgenus *Plasmodium*) (Prugnolle et al., 2010; Boundenga et al., 2015). In the subgenus *Laverania*, four species (*Plasmodium reichenowi*, *Plasmodium billcollinsi*, *Plasmodium gaboni* and *Plasmodium billbrayi*) (Ollomo et al., 2009; Snounou et al., 2011) infect chimpanzees and three species (*Plasmodium praefalciparum*, the closest relative of *P. falciparum*, *Plasmodium blacklocki* and *Plasmodium adleri*) (Liu et al., 2010; Prugnolle et al., 2010; Rayner et al., 2011) infect gorillas.

Previous studies carried out in wild ape populations and based on the analysis of fecal samples showed that none of the *Laverania Plasmodium* spp. can simultaneously infect gorillas and chimpanzees, even when both ape species are sympatric. This suggests the existence of strong host specificity among these parasites (Liu et al., 2010; Duval and Arieu, 2012; Wanaguru et al., 2013). This could be due to incompatibilities at the parasite–host interface, as proposed by some authors (Rayner et al., 2011), and thus be caused by genetic barriers. However, the discovery of *P. falciparum* parasites that circulate among bonobos and chimpanzees living in sanctuaries (Krief et al., 2010; Pacheco et al., 2013) and the isolation of *P. praefalciparum* (naturally found in gorillas) in a monkey (*Cercopithecus nictitans*) (Prugnolle et al., 2011) raise questions about the strength of this host specificity and about the permeability of the genetic barrier.

Transfers of parasites from one host species to another require: (i) the contact of the recipient host with the new infectious agent; (ii) the transmission of the pathogen from the donor host species to the recipient host (through a mosquito vector in the case of *Plasmodium* spp.); and finally (iii) crossing the species barrier. If the barrier is the result of some specific ligand/receptor interactions, crossing may become possible following mutation(s) in the parasite's ligand or in the new host's receptor that allow(s) the binding of the two proteins and thus the host cell invasion (Mayer et al., 2004; Reddy et al., 2015).

In nature, the ecological conditions required for parasite transfer are seldom fulfilled. Conversely, parasite transfers might be more frequent under environmental conditions where different host species are forced to live in close proximity. The concomitant presence of different host species in the same place, and thus their unavoidable contact, could favour the crossing of the host barrier by *Plasmodium* parasites (Nunn and Heymann, 2005; Nunn, 2012; Kappeler et al., 2015). In several African countries, governments and animal protection organisations have established sanctuaries and primate health centres for non-human primate orphans, especially great apes. In these refuges, several primate species may cohabit and this could favour the transfer of *Plasmodium* parasites between host species and between human workers and primates.

In the present study, we monitored *Plasmodium* infections in several non-human primate (NHP) species and humans living or working in close proximity in two sanctuaries and in one primate health centre in Gabon (Africa). We found that inter-species transfers are not rare and occur between primate host species. Our work demonstrates that sanctuaries and primate health centres may favour parasite transfers and consequently the emergence of new infectious diseases in animals or humans.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study sites

*Plasmodium* infections in different host species were monitored at three sites in Gabon: the “La Lékédi” (LEK) Park (1°28'0"S,

13°0'0"E), the “Gorilla Protection Project” (PPG) (1°35'3.84"S, 14°15'56.73"E) and the Primate Centre (CDP) (1°37'59"N, 13°34'59"E) of the Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF). All sites are in the province of Haut-Ogooué in southeastern Gabon (Fig. 1).

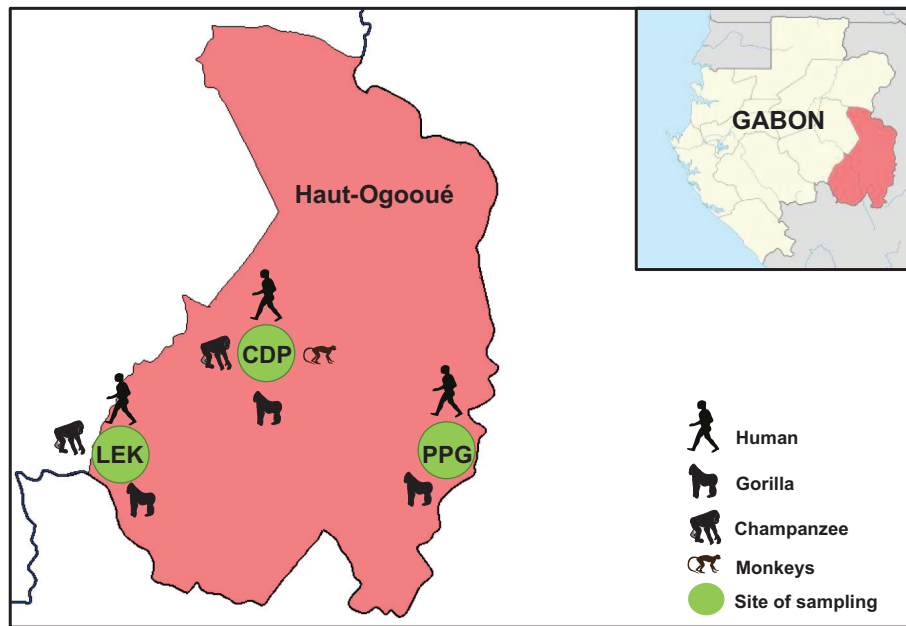
The LEK Park is located in the southeastern part of the Haut-Ogooué province, approximately 100 km from Franceville. It covers 14,000 hectares (20 km long and 7 km wide) and is completely enclosed. Primary and secondary forests and savannas constitute the natural vegetation. This park is one of the possible reception places for great apes, chimpanzees and gorillas that have been seized from private individuals by the Water Affairs and Forestry Ministry during anti-poaching operations. All animals were born in the wild. Young orphans are gradually rehabilitated to live in the forest. The park houses two groups of chimpanzees and one group of gorillas that live semi-free; however, wild great apes (mainly gorillas and chimpanzees) also live and freely circulate within the park. A team of workers takes care of the animals (feeding, nursing, monitoring) from 08:00 h to 17:00 h every day. Tourists also are welcomed. For this study, blood samples were collected from a group of young orphan chimpanzees ( $n = 15$ ; *Pan troglodytes troglodytes*) and two young lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) as well as from animal keepers during routine sanitary control, twice per year, from 2012 to December 2014. Sampling details are given in Table 1.

The PPG, located in the “Batéké Plateaux” region, was launched in 1997 to reintroduce gorillas (*G. g. gorilla*) from European zoos to their natural habitat. Here, vegetation is a mosaic of grassland and shrubby savannas, interspersed with humid gallery forests. This study focused on a group of four young gorillas that went through a programme of progressive re-habituation into the wild. This programme involves nine people who work in close contact with the animals. Blood samples were collected from the four gorillas and six workers in 2013 and from eight people in 2014 (Table 1). Most animals in this study were born in the wild except one which spent a long time outside Africa (i.e., in Europe).

The CDP is located in the city of Franceville and this environment is strongly characterised by human activities. The first habitations are located less than 500 m from the CDP. The CDP hosts more than 350 NHPs belonging to 10 species among which there are 55 chimpanzees, four gorillas, 250 mandrills (*Mandrillus sphinx*) and other monkeys (*Cercocebus torquatus*, *Chlorocebus aethiops*, *Macaca fascicularis*, *Macaca mulatta*, *Cercopithecus solatus*, *Cercopithecus cephus*, *C. nictitans*). Except for a few monkeys that were born in this centre, all other non-human primates were confiscated from poachers by Gabonese authorities and were born in the wild. A team of 22 people take care of the animals, feed and monitor them until 17:00 h (for more details on the CDP, see [www.cirmf.org](http://www.cirmf.org)). Blood samples from gorillas, chimpanzees and humans were systematically collected between 2012 and 2014. Some blood samples from the CDP Biobank, collected from 2005 to 2011, were also analysed (Table 1).

Before being released into sanctuaries, all animals are placed in quarantine at the CDP of the CIRMF (this quarantine is justified by the risk of infection related to the Ebola virus). During their quarantine, the primates are all submitted to several sanitary examinations (parasitological including detection of *Plasmodium* infections, bacteriological, immunological and virological). None of the animals considered in this study were infected by *Plasmodium* on their arrival at CIRMF for quarantine.

Human blood samples were collected by the CIRMF medical team at each site, based on the workers' voluntary participation and in agreement with the recommendations of the Gabonese National Ethics Committee (Authorisation N°PROT/0020/20131/S G/CNE). For NHPs, blood samples were taken during the annual health check to monitor the health of primates living in sanctuaries



**Fig. 1.** Locations of study sites in Gabon. The different sampling sites were: Park of “La Lékédi” (1°28′0″S, 13°0′0″E), “Gorilla Protection Project” (1°35′3.84″S, 14°15′56.73″E) and the Primate Centre (1°37′59″N, 13°34′59″E). The primate species (human and non-human) found in each site are indicated.

**Table 1**

Sampling dates and numbers of samples collected at each site (Centre de Primatologie of the Centre International de Recherches Médicales de Franceville, Projet Protection Gorille and La Lékédi Park for each host species in the province of Haut-Ogooué in southeastern Gabon.

Site	Host	Collected samples						
		CDP Biobank 2005–2011	2012	June 2013	Dec 2013	June 2014	Dec 2014	Total
CDP	Chimpanzees	2	–	26	25	16	19	88
	Gorillas	3	–	2	–	2	2	9
	Humans	–	–	17	–	19	–	36
	Mandrills	13	2	112	107	96	90	420
	Other monkeys	–	1	30	32	28	24	115
PPG	Gorillas	1	–	4	–	–	–	5
	Humans	–	–	6	–	–	8	14
	Chimpanzees	10	11	13	13	8	8	63
LEK	Gorillas	1	2	2	2	–	2	9
	Humans	–	–	17	–	–	18	35

and during occasional veterinary consultations. Animal handling and blood sampling by the CDP veterinarians complied with the criteria for animal well-being (according the guidelines of the International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN) and Pan African Sanctuary Alliance (PASA)). Blood samples (7 ml for humans and 2–7 ml for animals, according to their weight) were collected in EDTA tubes that were immediately put in an icebox and transported to the CIRMF laboratories, where those were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$ .

## 2.2. DNA extraction, amplification and sequencing

DNA was extracted from blood samples using the DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Courteboeuf, France) according to the manufacturer's instructions. The presence of *Plasmodium* parasites was determined by amplification of a portion of the *Plasmodium* mitochondrial (mt) genome (cytochrome b: *cyt-b*), as described in Ollomo et al. (2009) and Prugnolle et al. (2010). To confirm the sample origin, a region of the mtDNA genome (D loop) was amplified with the primers L15997 (5'-CACCATAGCACCCAAAGCT-3') and H16498 (5'-CCTGAAGTAGGAACAGATG-3'), as previously described (Santiago et al., 2003; Herbert et al., 2015). All amplified

products (10  $\mu\text{l}$ ) were separated on 1.5% agarose gels in Tris–acetate–EDTA (TAE) buffer. DNA sequencing was performed by Eurofins GmbH (Germany).

## 2.3. Procedures to avoid contamination

All molecular analyses (DNA extraction and PCR amplification) were repeated and verified in three separate laboratories at the CIRMF, of which two have never manipulated *Plasmodium* DNA prior to this study. In each laboratory, a single designated experimenter performed the molecular analyses and the three experimenters obtained identical results.

## 2.4. Phylogenetic analyses

To examine the relationship of the obtained *cyt-b* sequences with the known different *Plasmodium* spp., we constructed a phylogenetic tree using a set of reference sequences belonging to different *Plasmodium* spp. After multiple alignments of our partial *cyt-b* sequences (687 nucleotides) with the GenBank reference sequences (Supplementary Table S1) using ClustalW (v 1.8.1 in BioEdit v.7.0.9.0. Software) (Hall, 1999), Maximum Likelihood

(ML) methods were used for tree construction. The best-fitting ML model under the Akaike Information Criterion was General Time Reversible (GTR)+Gamma+I (invariant sites), as determined using ModelTest (Posada and Crandall, 1998). The highest likelihood DNA tree and corresponding bootstrap support values were obtained by using PhyML (freely available at the ATGC bioinformatics facility <http://www.atgc-montpellier.fr/>) (Guindon and Gascuel, 2003; Dereeper et al., 2008) with Nearest Neighbour Interchange (NNI) + Subtree-Pruning-Regrafting (SPR) branch swapping and 100 bootstrap replicates (Guindon et al., 2010). For the phylogenetic tree, all sequences of unexpected infections and some sequences of expected infections were used (Table 2).

To distinguish between *P. praefalciparum* and *P. falciparum*, which are very close genetically, we analysed the two specific positions in the *cyt-b* sequences that are known to discriminate these two species (Liu et al., 2010).

### 3. Results

Overall, 85 human blood samples and 709 blood samples from NHPs (mandrills, gorillas, chimpanzees and other monkeys) were collected at the three sites from 2012 to December 2014 (Table 1). The prevalence of *Plasmodium* infection was 31.79% in chimpanzees, 69.57% in gorillas, 17.65% in humans, 0.48% in mandrills and 0.86% among other monkeys (Table 2). Specifically, at LEK, *Plasmodium* infection was detected in 74.6% (47/63) of chimpanzee blood samples, in 100% (9/9) of gorilla samples and in 14.29% (5/35) of human samples. At PPG, 50% (2/4) of gorilla samples and 21.43% (3/14) of human samples were positive for *Plasmodium* infection. Finally, at CDP, *Plasmodium* infection was detected in 3.41% (3/88) of chimpanzee, 33.33% (3/9) of gorilla, 0.47% (2/420) of mandrill and 19.44% (7/36) of human blood samples. Only 0.86% (1/115) of the blood samples from other monkeys was infected by *Hepatoctystis* sp.

Most host/parasite associations found during the survey were consistent with the observations made in natura (Table 3; Fig. 2). Most chimpanzees were infected with *P. gaboni* or *P. reichenowi*, gorillas with *P. adleri*, *P. praefalciparum* or *P. blacklocki*, and humans with *P. falciparum*. *Plasmodium vivax*-like and *P. malariae*-like parasites were also found in chimpanzees and gorillas and *Hepatoctystis* sp. in one moustached monkey (*C. cephus*; “other monkeys” group). However, 11% (9/82) of the identified parasites were found in unexpected hosts (Tables 2 and 3): (i) *P. falciparum* in three chimpanzee (LEK and CDP) and in one mandrill (CDP) blood sample; (ii) *P. praefalciparum* in one chimpanzee sample (LEK); (iii) *P. reichenowi* in one gorilla sample (CDP); and (iv) *P. adleri* in three chimpanzee samples (LEK) (Fig. 2). All transfer cases (unexpected hosts) were confirmed at least three times by three different experimenters in three different laboratories, thus excluding possible handling contaminations. The host species was also confirmed using molecular tools, as described in Section 2.2. These findings highlight at least four transfers of *Plasmodium* parasites from humans to chimpanzees ( $n = 3$ ) and mandrills ( $n = 1$ ), four transfers from gorillas towards chimpanzees and one transfer from chimpanzees to gorillas (Table 3). No NHP *Plasmodium* was found in humans.

### 4. Discussion

During the last few years, several new *Plasmodium* spp. belonging to the subgenus *Laverania* have been discovered in African non-human primates, especially great apes (Rich et al., 2009; Krief et al., 2010; Prugnolle et al., 2010; Rayner et al., 2011; Duval, 2012). None of the species in this group infects both gorillas and chimpanzees in natura (Duval et al., 2010; Liu et al., 2010; Rayner

et al., 2011), suggesting the existence of genetic barriers that preclude the passage from one host to another (Rayner et al., 2011; Wanaguru et al., 2013). However, several previous studies reported *P. falciparum* infections in apes (bonobos and chimpanzees) in areas where they live in close proximity with humans (sanctuaries), showing that this barrier is not completely impermeable (Duval et al., 2010; Krief et al., 2010; Pacheco et al., 2013).

We investigated *Plasmodium* infections in humans and NHPs living in sanctuaries or primatology centres in Gabon. Our results show that transfers are possible between different host species that live in close proximity, thus confirming the findings by Krief et al. (2010), Duval et al. (2010) and Pacheco et al. (2013). In addition, our study brings new information on the spectrum of hosts and parasites involved in these transfers. Indeed, while previous studies on *Laverania* parasites have only documented transfers of *P. falciparum* from humans to bonobos or chimpanzees, we show that transfers from humans to chimpanzees and mandrills, from gorillas to chimpanzees and from chimpanzees to gorillas are also possible. In particular, the *P. falciparum* transfer to a mandrill (*M. sphinx*) is the second reported infection of a Cercopithecidae by a parasite belonging to the subgenus *Laverania*. The first infection was detected in a greater spot-nosed monkey (*C. nictitans*) (Prugnolle et al., 2011). In all these studies, the detection of parasites was performed using DNA amplification methods. However, as shown by Abkhallo et al. (2014), PCR amplification of parasite DNA from blood does not necessarily indicate a blood stage infection with that parasite. It could also occur through the amplification of liver-stage parasites, present following the inoculation of sporozoites (Abkhallo et al., 2014). However, all studies undertaken in natura never reported unexpected infections as observed under sanctuary conditions, despite the fact that DNA from these stages may also be found in fecal samples as shown by Abkhallo et al. (2014). This is the reason we considered whether the amplification of DNA corresponds to real blood infections. Should the DNA arise from sporozoites or liver stages, this shows that the probability of cross-contacts with parasites from a different host species is increased under sanctuary configurations.

Our and the previous results suggest that parasite transfers are possible under conditions where several host species are forced to live in proximity. This implies that (i) some mosquito species can bridge between different host species even in environments strongly characterised by humans (such as the CDP, Franceville) and that (ii) the genetic barrier responsible for host specificity is not fully impermeable.

Our study documents inter-species transfers in two very distinct environments: (i) sanctuaries where animals live in natural forest areas, such as the LEK Park where wild gorillas and chimpanzees also live, and (ii) environments strongly characterised by humans such as the CDP located in Franceville city. The *Anopheles* communities of these two environmental types also could be very different. In forest areas, little information is available on the potential vectors of ape *Plasmodium* (Paupy et al., 2013) and more generally on the anopheline species that may feed on great apes. Only two anopheline species (*Anopheles vinckei* and *Anopheles moucheti*) have been found to be infected with ape *Plasmodium* in the forests of Gabon (Paupy et al., 2013). *Anopheles moucheti* is considered to be mainly anthropophilic in forest environments strongly characterised by humans (e.g., villages), where it is a major human malaria vector (Ollomo et al., 1997). However, very little is known about its propensity to bite animals (and particularly non-human primates) because previous studies focused mainly on humans in rural and urban environments and never in sylvan environments where wildlife represents the main blood source. *Anopheles moucheti* might actually be a zoo-anthropophilic vector that could facilitate *Plasmodium* transfers between apes and humans. Conversely, the role of the zoophilic *An. vinckei* (a sylvan *Anopheles* spp.) is

**Table 2**  
Number of *Plasmodium* parasite infections in expected and unexpected hosts (transfers).

Host	Total number of samples	Number of <i>Plasmodium</i> -positive samples	Expected host	Unexpected host (transfer)	Percentage of infected hosts (n/N)
Humans	85	15	15	–	17.65% (15/85)
Chimpanzees	151	48	41	7	31.79% (48/151)
Gorillas	23	16	15	1	69.57% (16/23)
Mandrills	420	2	1	1	0.48% (2/420)
Other species	115	1	1	–	0.86% (1/115)
Total	<b>794</b>	82	73	9	

**Table 3**  
*Plasmodium* parasite diversity (assessed by PCR and DNA sequencing) in non-human primates and humans, with unexpected hosts in bold. Three sequences (from one gorilla and two chimpanzee blood samples, respectively) were not exploitable (due to the small sizes of those sequences).

<i>Plasmodium</i> species	Chimpanzees	Gorillas	Humans	Mandrills	Other monkeys
<i>P. reichenowi</i>	15	<b>1</b>	–	–	–
<i>P. gaboni</i>	17	–	–	–	–
<i>P. billcollinsi</i>	–	–	–	–	–
<i>P. billbrayi</i>	–	–	–	–	–
<i>P. praefalciparum</i>	<b>1</b>	2	–	–	–
<i>P. adleri</i>	<b>3</b>	8	–	–	–
<i>P. blacklocki</i>	–	1	–	–	–
<i>P. falciparum</i>	<b>3</b>	–	15	<b>1</b>	–
<i>P. vivax</i> -like	4	2	–	–	–
<i>P. malariae</i> -like	3	1	–	–	–
<i>P. gonderi</i>	–	–	–	1	–
<i>Hepaticystis</i> sp.	–	–	–	–	1

probably restricted to the transmission of *Plasmodium* among apes (Paupy et al., 2013).

In environments strongly characterised by humans, *Anopheles gambiae*, *An. moucheti*, *Anopheles funestus* and *Anopheles nili* (the main vectors of human malaria) can be detected. Indeed, they were previously found at CDP and in the villages close to Franceville. *Anopheles funestus*, *An. nili* and *An. moucheti* also have been involved in malaria transmission in suburban areas in central Africa (Ollomo et al., 1997; Elissa et al., 1999; Ndo et al., 2013). In addition, *An. moucheti*, which can be anthropophilic or zoophilic depending on the context, could be a good candidate for inter-species transfers in forest environments strongly characterised by humans.

However, invasion of red blood cells by *Plasmodium* parasites depends on a partially redundant set of parasite ligands and erythrocyte receptors, and these interactions are essential in colonisation of a host by a *Laverania* parasite (Mayer et al., 2009; Lopaticki et al., 2011; Sundararaman et al., 2016). In *P. falciparum*, a number of important erythrocyte-binding ligands belong to two protein families (Jaskiewicz et al., 2010): the erythrocyte binding-like (EBL) protein family (Mayer et al., 2004, 2009; Vera-Bravo et al., 2005) and the reticulocyte binding-like (RBL) protein family (Rayner et al., 2000; Hayton et al., 2013). Each ligand interacts with a specific receptor at the surface of the red blood cell. For instance, Basigin (BSG) is the receptor for the RBL PfPRH5 and Glycophorin A binds to the EBL EBA 175 (Crosnier et al., 2011; Bei and Duraisingh, 2012). Recent studies have suggested that strong host specificity of *Laverania* in their natural environments could be the consequence of species-specific differences in the interaction between PfPRH5 and BSG (Wanaguru et al., 2013). Moreover, few BSG residues are responsible for the species specificity of PfPRH5 binding, and mutations in the PfPRH5 sequences can modify the parasite's ability to infect red blood cells in host species other than humans (e.g., *Aotus* monkeys or rats) (Hayton et al., 2013).

The existence of PfPRH5 or BSG gene polymorphisms in the ape *Plasmodium* population or in apes, respectively, that affect their binding affinity could explain the parasite transfers among

different host species. Comparison of PfPRH5 and BSG sequences in unexpected and expected infections should reveal nucleotide positions that might be involved in such transfers.

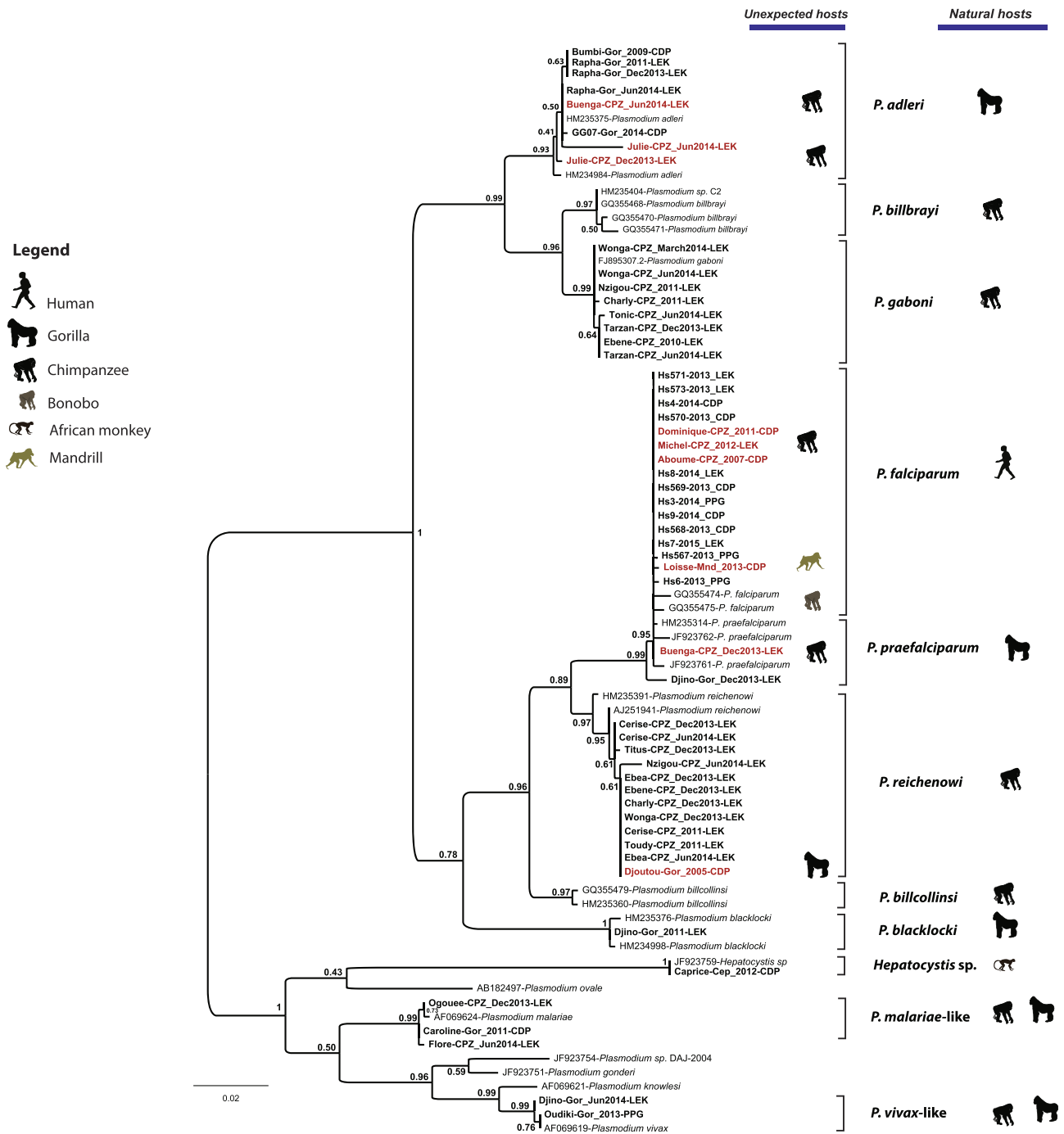
Finally, the observed transfers could also be explained by captive conditions. For instance, social stress associated with captivity can significantly modulate the immune systems of individuals and their sensitivity to infections (Zuk and McKean, 1996; Skorping and Jensen, 2004).

When considering transfers from NHPs to humans and vice versa, in our study, we did not observe any transfer of non-human primate *Plasmodium* to humans. Several hypotheses could explain this result. First, the number of human blood samples ( $n = 85$ ) was much lower than that of NHP samples ( $n = 709$ ) and this could have limited the detection of such rare events as parasite transfers to humans. Nevertheless, our results are congruent with results of two recent studies in Gabon (Delicat-Loembet et al., 2015) and in Cameroon (Sundararaman et al., 2013) with far larger sampling, in which no evidence of ape *Plasmodium* infections were detected in humans. In addition, the humans looking after the animals did not sleep at the centres/sanctuary, thus greatly reducing the probability of transfer because *Anopheles* mosquitoes are nocturnal insects (Krief et al., 2012; Paupy et al., 2013). Analysis of blood samples from people living at the CIRMF, next to the CDP, and from the night watchmen might highlight the transfer of simian parasites to humans.

Conversely, transfers from humans to NHPs were observed. This may seem paradoxical because the human workers analysed in our study did not sleep on site. However, Gabon is located in a malaria endemic area. Franceville town has approximately 40,000 inhabitants and the CDP houses less than 400 non-human primates. Thus, the human population of Franceville could constitute a major source of infection for primates. This hypothesis is supported by the results of a study on anopheline mosquitoes collected at the CDP, showing that they were infected by human *Plasmodium* (Ollomo et al., 1997).

What are the implications for conservation? Conservation defines all activities devoted to promoting the preservation of





**Fig. 2.** Phylogenetic relationships between the *Plasmodium* cytochrome b sequences obtained from the blood samples of all unexpected hosts (transfers, in bold red), some samples from expected hosts (in bold black) and those of known *Plasmodium* spp. (in italics, represented by their GenBank accession number; Supplementary Table S1) (sequence length: 687 bp). The tree was built using maximum likelihood methods. Bootstrap values are given at each node. *Plasmodium* sequences obtained from the human volunteers are designated by "Hs" followed by the sample number, year and sampling site. Sequences from non-human primate samples are designated by the animal's name, followed by the host species (chimpanzee, CPZ; gorilla, Gor; mandrill, Mnd; moustached monkey, Cep), sampling date and site ("La Lékédi" park, LEK; Gorilla Protection Project, PPG; Primatology Centre, CDP). The sequences reported in this study were deposited in GenBank under the accession numbers [KUJ759788–KUJ759838](#).

animal species. However, as highlighted by our study, the establishment of sanctuaries might not be without consequences for the health of animals, particularly great apes as well as humans. Our study provides new evidence of pathogen transfers between humans and NHPs. However, the ability of pathogens to cross the host barrier is not new. Indeed, studies on human-habituated groups of apes have already demonstrated the risk of transmission of infectious diseases from humans to apes, leading to their deaths (Woodford et al., 2002; Kondgen et al., 2008).

Although the role of humans as a source of pathogens for great apes is not well established (Kondgen et al., 2008), they nevertheless represent a threat for NHP health. In the case of *Plasmodium*, all the data on *P. falciparum* transmission to NHPs suggest that transmission is more frequent from humans to apes (Duval et al., 2010; Krief et al., 2010; Pacheco et al., 2013) than the opposite (Sundararaman et al., 2013; Delicat-Loembet et al., 2015). Therefore, it is now important to determine the consequences of such host switches on the conservation of great apes. Indeed, we

recently reported that apes may suffer from malaria (Herbert et al., 2015) and the hypothesis that these transfers could also have consequences on their health must not be excluded.

## Acknowledgements

The authors declare that they have no competing interests. The study was funded by Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF, Gabon), Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS, France), Institut de Recherche pour le Développement (IRD, France) and Agence Nationale de la Recherche (ANR, France, grant ORIGIN JCJC 012). This work was performed within the framework of the LabEx Ecofect (ANR-11-LABX-0048) of Lyon University, France (ANR-11-IDEX-007) (BN, DF, DP). We thank all the people (CDP, PPG and Bakoumba teams, and veterinarians for technical assistance) who were involved in blood sampling as well as the Gabonese National Agency of the National Parks (sampling authorisation: N°0020CNE/SG/P).

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2016.06.004>.

## References

- Abkhallo, H.M., Liu, W., Hokama, S., Ferreira, P.E., Nakazawa, S., Maeno, Y., Quang, N. T., Kobayashi, N., Kaneko, O., Huffman, M.A., Kawai, S., Marchand, R.P., Carter, R., Hahn, B.H., Culleton, R., 2014. DNA from pre-erythrocytic stage malaria parasites is detectable by PCR in the faeces and blood of hosts. *Int. J. Parasitol.* 44, 467–473.
- Bei, A.K., Duraisingh, M.T., 2012. Functional analysis of erythrocyte determinants of *Plasmodium* infection. *Int. J. Parasitol.* 42, 575–582.
- Boundenga, L., Ollomo, B., Rougeron, V., Mouele, L.Y., Mve-Ondo, B., Delicat-Loembet, L.M., Moukoudoum, N.D., Okouga, A.P., Arnathau, C., Elguero, E., Durand, P., Liegeois, F., Boue, V., Motsch, P., Le Flohic, G., Ndoungouet, A., Paupy, C., Ba, C.T., Renaud, F., Prugnolle, F., 2015. Diversity of malaria parasites in great apes in Gabon. *Malar. J.* 14, 111.
- Crosnier, C., Bustamante, L.Y., Bartholdson, S.J., Bei, A.K., Theron, M., Uchikawa, M., Mboup, S., Ndir, O., Kwiatkowski, D.P., Duraisingh, M.T., Rayner, J.C., Wright, G.J., 2011. Basigin is a receptor essential for erythrocyte invasion by *Plasmodium falciparum*. *Nature* 480, 534–537.
- Delicat-Loembet, L., Rougeron, V., Ollomo, B., Arnathau, C., Roche, B., Elguero, E., Moukoudoum, N.D., Okouga, A.P., Mve Ondo, B., Boundenga, L., Houze, S., Galan, M., Nkoghe, D., Leroy, E.M., Durand, P., Paupy, C., Renaud, F., Prugnolle, F., 2015. No evidence for ape *Plasmodium* infections in humans in Gabon. *PLoS One* 10, e0126933.
- Dereeper, A., Guignon, V., Blanc, G., Audic, S., Buffet, S., Chevenet, F., Dufayard, J.F., Guindon, S., Lefort, V., Lescot, M., Claverie, J.M., Gascuel, O., 2008. Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist. *Nucleic Acids Res.* 36, W465–W469.
- Duval, L., 2012. *Plasmodium* chez les grands singes Africains. *Rev. Primatol.* 4. <http://dx.doi.org/10.4000/primatologie.1178> (document 14).
- Duval, L., Ariey, F., 2012. Ape *Plasmodium* parasites as a source of human outbreaks. *Clin. Microbiol. Infect.* 18, 528–532.
- Duval, L., Fourment, M., Nerrienet, E., Rousset, D., Sadeuh, S.A., Goodman, S.M., Andriaholinirina, N.V., Randrianarivelojosia, M., Paul, R.E., Robert, V., Ayala, F.J., Ariey, F., 2010. African apes as reservoirs of *Plasmodium falciparum* and the origin and diversification of the *Laverania* subgenus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 10561–10566.
- Elissa, N., Karch, S., Bureau, P., Ollomo, B., Lawoko, M., Yangari, P., Ebang, B., Georges, A.J., 1999. Malaria transmission in a region of savanna-forest mosaic, Haut-Ogooue, Gabon. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 15, 15–23.
- Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., Gascuel, O., 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.* 59, 307–321.
- Guindon, S., Gascuel, O., 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst. Biol.* 52, 696–704.
- Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41, 95–98.
- Hayton, K., Dumoulin, P., Henschen, B., Liu, A., Papakrivovs, J., Wellems, T.E., 2013. Various PFRH5 polymorphisms can support *Plasmodium falciparum* invasion into the erythrocytes of owl monkeys and rats. *Mol. Biochem. Parasitol.* 187, 103–110.
- Herbert, A., Boundenga, L., Meyer, A., Moukoudoum, D.N., Okouga, A.P., Arnathau, C., Durand, P., Magnus, J., Ngoubangoye, B., Willaume, E., Ba, C.T., Rougeron, V., Renaud, F., Ollomo, B., Prugnolle, F., 2015. Malaria-like symptoms associated with a natural *Plasmodium reichenowi* infection in a chimpanzee. *Malar. J.* 14, 220.
- Jaskiewicz, E., Graczyk, J., Rydzak, J., 2010. Proteins involved in invasion of human red blood cells by malaria parasites. *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)* 64, 617–626.
- Kappeler, P.M., Cremer, S., Nunn, C.L., 2015. Sociality and health: impacts of sociality on disease susceptibility and transmission in animal and human societies. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 370, 20140116. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2014.0116>.
- Kondgen, S., Kuhl, H., N'Goran, P.K., Walsh, P.D., Schenk, S., Ernst, N., Biek, R., Formenty, P., Matz-Rensing, K., Schweiger, B., Junglen, S., Ellerbrok, H., Nitsche, A., Bries, T., Lipkin, W.I., Pauli, G., Boesch, C., Leendertz, F.H., 2008. Pandemic human viruses cause decline of endangered great apes. *Curr. Biol.* 18, 260–264.
- Krief, S., Escalante, A.A., Pacheco, M.A., Mugisha, L., Andre, C., Halbwax, M., Fischer, A., Krief, J.M., Kasenene, J.M., Cranfield, M., Cornejo, O.E., Chavatte, J.M., Lin, C., Letourneur, F., Gruner, A.C., McCutchan, T.F., Renia, L., Snounou, G., 2010. On the diversity of malaria parasites in African apes and the origin of *Plasmodium falciparum* from Bonobos. *PLoS Pathog.* 6, e1000765.
- Krief, S., Leverro, F., Krief, J.M., Thanapongpichat, S., Imwong, M., Snounou, G., Kasenene, J.M., Cibot, M., Gantier, J.C., 2012. Investigations on anopheline mosquitoes close to the nest sites of chimpanzees subject to malaria infection in Ugandan Highlands. *Malar. J.* 11, 116.
- Liu, W., Li, Y., Learn, G.H., Rudicell, R.S., Robertson, J.D., Keele, B.F., Ndjongo, J.B., Sanz, C.M., Morgan, D.B., Locatelli, S., Gonder, M.K., Kranzusch, P.J., Walsh, P.D., Delaporte, E., Mpoudi-Ngole, E., Georgiev, A.V., Muller, M.N., Shaw, G.M., Peeters, M., Sharp, P.M., Rayner, J.C., Hahn, B.H., 2010. Origin of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in gorillas. *Nature* 467, 420–425.
- Lopatnicki, S., Maier, A.G., Thompson, J., Wilson, D.W., Tham, W.H., Triglia, T., Gout, A., Speed, T.P., Beeson, J.G., Healer, J., Cowman, A.F., 2011. Reticulocyte and erythrocyte binding-like proteins function cooperatively in invasion of human erythrocytes by malaria parasites. *Infect. Immun.* 79, 1107–1117.
- Mayer, D.C., Cofie, J., Jiang, L., Hartl, D.L., Tracy, E., Kabat, J., Mendoza, L.H., Miller, L. H., 2009. Glycophorin B is the erythrocyte receptor of *Plasmodium falciparum* erythrocyte-binding ligand, EBL-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 5348–5352.
- Mayer, D.C., Mu, J.B., Kaneko, O., Duan, J., Su, X.Z., Miller, L.H., 2004. Polymorphism in the *Plasmodium falciparum* erythrocyte-binding ligand JEBEL/EBA-181 alters its receptor specificity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 2518–2523.
- Ndo, C., Simard, F., Kengne, P., Awono-Ambene, P., Morlais, I., Sharakhov, I., Fontenille, D., Antonio-Nkondjio, C., 2013. Cryptic genetic diversity within the *Anopheles nili* group of malaria vectors in the equatorial forest area of Cameroon (Central Africa). *PLoS One* 8, e58862.
- Nunn, C., Heymann, E., 2005. Malaria infection and host behavior: a comparative study of Neotropical primates. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 59, 30–37.
- Nunn, C.L., 2012. Primate disease ecology in comparative and theoretical perspective. *Am. J. Primatol.* 74, 497–509.
- Ollomo, B., Durand, P., Prugnolle, F., Douzery, E., Arnathau, C., Nkoghe, D., Leroy, E., Renaud, F., 2009. A new malaria agent in African hominids. *PLoS Pathog.* 5, e1000446.
- Ollomo, B., Karch, S., Bureau, P., Elissa, N., Georges, A.J., Millet, P., 1997. Lack of malaria parasite transmission between apes and humans in Gabon. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 56, 440–445.
- Pacheco, M.A., Cranfield, M., Cameron, K., Escalante, A.A., 2013. Malarial parasite diversity in chimpanzees: the value of comparative approaches to ascertain the evolution of *Plasmodium falciparum* antigens. *Malar. J.* 12, 328.
- Paupy, C., Makanga, B., Ollomo, B., Rahola, N., Durand, P., Magnus, J., Willaume, E., Renaud, F., Fontenille, D., Prugnolle, F., 2013. *Anopheles moucheti* and *Anopheles vinckei* are candidate vectors of ape *Plasmodium* parasites, including *Plasmodium praefalciparum* in Gabon. *PLoS One* 8, e57294.
- Posada, D., Crandall, K.A., 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatic* 14, 817–818.
- Prugnolle, F., Durand, P., Neel, C., Ollomo, B., Ayala, F.J., Arnathau, C., Etienne, L., Mpoudi-Ngole, E., Nkoghe, D., Leroy, E., Delaporte, E., Peeters, M., Renaud, F., 2010. African great apes are natural hosts of multiple related malaria species, including *Plasmodium falciparum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 1458–1463.
- Prugnolle, F., Ollomo, B., Durand, P., Yalcindag, E., Arnathau, C., Elguero, E., Berry, A., Pourrut, X., Gonzalez, J.P., Nkoghe, D., Akiana, J., Verrier, D., Leroy, E., Ayala, F.J., Renaud, F., 2011. African monkeys are infected by *Plasmodium falciparum* nonhuman primate-specific strains. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 11948–11953.
- Rayner, J.C., Galinski, M.R., Ingravalle, P., Barnwell, J.W., 2000. Two *Plasmodium falciparum* genes express merozoite proteins that are related to *Plasmodium vivax* and *Plasmodium yoelii* adhesive proteins involved in host cell selection and invasion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97, 9648–9653.
- Rayner, J.C., Liu, W., Peeters, M., Sharp, P.M., Hahn, B.H., 2011. A plethora of *Plasmodium* species in wild apes: a source of human infection? *Trends Parasitol.* 27, 222–229.
- Reddy, K.S., Amlabu, E., Pandey, A.K., Mitra, P., Chauhan, V.S., Gaur, D., 2015. Multiprotein complex between the GPI-anchored CyRPA with PFRH5 and PFRipr is crucial for *Plasmodium falciparum* erythrocyte invasion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112, 1179–1184.
- Rich, S.M., Leendertz, F.H., Xu, G., LeBreton, M., Djoko, C.F., Aminake, M.N., Takang, E. E., Diffo, J.L., Pike, B.L., Rosenthal, B.M., Formenty, P., Boesch, C., Ayala, F.J., Wolfe, N.D., 2009. The origin of malignant malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 14902–14907.
- Santiago, M.L., Lukasik, M., Kamenya, S., Li, Y., Bibollet-Ruche, F., Bailes, E., Muller, M.N., Emery, M., Goldenberg, D.A., Lwanga, J.S., Ayoub, A., Nerrienet, E.,

- McClure, Heeney, J.L., Watts, D.P., Pusey, A.E., Collins, D.A., Wrangham, R.W., Goodall, J., Brookfield, J.F., Sharp, P.M., Shaw, G.M., Hahn, B.H., 2002. Foci of endemic simian immunodeficiency virus infection in wild-living eastern chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*). *J. Virol.* 77, 7545–7562.
- Skorping, A., Jensen, K.H., 2004. Disease dynamics: all caused by males? *Trends Ecol. Evol.* 19, 219–220.
- Snounou, G., Escalante, A., Kasenene, J., Rénia, L., Gruener, A.-C., Krief, S., 2011. Malaria in hominids. *Bull. Acad. Natl. Med.* 195, 1945–1954.
- Sundararaman, S.A., Liu, W., Keele, B.F., Learn, G.H., Bittinger, K., Mouacha, F., Ahuka-Mundeke, S., Manske, M., Sherrill-Mix, S., Li, Y., Malenke, J.A., Delaporte, E., Laurent, C., Mpoudi Ngole, E., Kwiatkowski, D.P., Shaw, G.M., Rayner, J.C., Peeters, M., Sharp, P.M., Bushman, F.D., Hahn, B.H., 2013. *Plasmodium falciparum*-like parasites infecting wild apes in southern Cameroon do not represent a recurrent source of human malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 7020–7025.
- Sundararaman, S.A., Plenderleith, L.J., Liu, W., Loy, D.E., Learn, G.H., Li, Y., Shaw, K.S., Ayoub, A., Peeters, M., Speede, S., Shaw, G.M., Bushman, F.D., Brisson, D., Rayner, Sharp, P.M., Hahn, B.H., 2016. Genomes of cryptic chimpanzee *Plasmodium* species reveal key evolutionary events leading to human malaria. *Nat. Commun.* 7, 11078.
- Vera-Bravo, R., Valbuena, J.J., Ocampo, M., Garcia, J.E., Rodriguez, L.E., Puentes, A., Lopez, R., Curtidor, H., Torres, E., Trujillo, M., Tovar, D.R., Patarroyo, M.A., Patarroyo, M.E., 2005. Amino terminal peptides from the *Plasmodium falciparum* EBA-181/JESEBL protein bind specifically to erythrocytes and inhibit in vitro merozoite invasion. *Biochimie* 87, 425–436.
- Wanaguru, M., Liu, W., Hahn, B.H., Rayner, J.C., Wright, G.J., 2013. RH5-Basigin interaction plays a major role in the host tropism of *Plasmodium falciparum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 20735–20740.
- World Health Organization, 2014. World Malaria Report 2013. Geneva World Health Organization, Switzerland.
- Woodford, M.H., Butynski, T.M., Karesh, W.B., 2002. Habituating the great apes: the disease risks. *Oryx* 36, 153–160.
- Zuk, M., McKean, K.A., 1996. Sex differences in parasite infections: Patterns and processes. *Int. J. Parasitol.* 26, 1009–1024.



## Chapitre 2 : Diversité génétique et circulation du *Staphylococcus aureus* dans les sanctuaires et aires de conservation de PNHs



Illustration d'une capture d'une chauve-souris (ici *Epomops franqueti*) à l'aide d'un filet de capture (Photo CDP, 2014).

## RÉSUMÉ

### Contexte

Il a été rapporté dans de nombreuses études que l'anthropisation favorise l'échange de parasites entre l'Homme et la faune sauvage et particulièrement les PNHs (**Goldberg et al., 2008b**). Certains de ces échanges portent sur des souches de bactéries résistantes aux antibiotiques comme la méticilline couramment utilisée en médecine humaine et vétérinaire (**Gomez et al., 2014; Schaumburg et al., 2012b**). Ce constat pose un problème de santé publique majeur du fait du risque réel d'inefficacité des traitements et d'éventuelles conséquences sur les soins vétérinaires (**Nagel et al., 2013**). Bien qu'un certain nombre d'études recensées dans la littérature se soient intéressées à cette problématique, elles se limitent généralement à l'interaction entre Homme et PNHs (**Nagel et al., 2013; Rolland et al., 1985; Schaumburg et al., 2012a; Schaumburg et al., 2015**) et ignorent les autres espèces qui en interagissant avec les PNHs ou l'Homme, pourraient jouer un rôle important dans la propagation d'agents pathogènes et par ricochet, dans celle de la résistance médicamenteuse. Dans cette étude, nous analysons des échantillons issus du personnel en activité dans les parcs/centres, des PNHs, micromammifères et chauves-souris pour comprendre à l'échelle d'une communauté d'hôtes, le rôle du spectre d'hôtes dans la circulation et la persistance des souches de streptocoques dorées résistantes aux antibiotiques.

### Résultats

Dans le cadre de cette étude, un total de 1274 écouvillons a été testé sur l'ensemble de trois sites dont 628 prélèvements de PNHs, 85 d'êtres humains, 141 de chauves-souris et 420 de micromammifères (rongeurs et musaraignes). Cependant, la capture de chauve-souris et micromammifères n'ayant été réalisée qu'au CDP - d'où provenait l'essentiel des échantillons (1180 soit 93% des prélèvements), les résultats valorisés dans l'article ci-dessous portent uniquement sur l'échantillonnage de la communauté au sein du CDP.

Ainsi, sur un total de 474 séquences analysées issues du CDP, 49 *spa* types ont été identifiés dont 15 nouvelles souches décrites pour la première fois (classées de t15940 à t16031, cf. <http://spa.ridom.de/spatypes.shtml>). Alors que 36 *spa* types n'ont été décrits que chez un seul type d'hôte (souches par la suite appelées « spécialistes »), 13 *spa* types ont été décrits chez au moins deux hôtes différents (souches appelées « généralistes »). Les souches SARM ont été décrites tant chez les espèces exposées aux antibiotiques (Homme, PNHs) que chez les espèces non exposées (micromammifères, chauves-souris). Chez les espèces exposées,

la résistance est aussi bien portée par des souches spécialistes que généralistes. Chez les espèces non exposées, la résistance n'est portée que par les souches partagées avec les espèces exposées (Homme, PNHs) ; aucune souche partagée entre espèces non exposés n'est SARM. Chez les micromammifères, la prévalence des souches SARM diminue avec la distance aux zones de nourrissage de PNHs.

## Conclusion

En décrivant 15 nouvelles souches et 13 souches généralistes, notre étude confirme la grande diversité génétique connue du *Staphylococcus aureus* et son aptitude à coloniser différents types d'hôtes (**Schaumburg et al., 2012a**). La diffusion de souches entre espèces hôtes et la présence de souches résistantes étaient attendues dans le groupe des espèces hôtes exposées aux antibiotiques par référence aux études antérieures (**Rolland et al., 1985; Schaumburg et al., 2012b; Schaumburg et al., 2015**). En effet, Compte tenu de l'utilisation courante des antibiotiques en soin vétérinaire et des pratiques d'automédication dans la population gabonaise (**Kunz and Parsons, 2009; Luby et al., 2009**), les prévalences des SARM obtenues dans ces deux groupes ne pouvaient constituer une surprise. Deux autres résultats étaient moins attendus. D'abord (i) l'infection des soigneurs et des PNHs par les mêmes souches que les chauves-souris ou les micromammifères d'une part et la dissémination des SARM au sein des populations non exposées aux antibiotiques (chauves-souris ou micromammifères) d'autre part. Ces observations confirment la dissémination déjà décrite des SARM à partir d'une source humaine (**Rolland et al., 1985; Schaumburg et al., 2012b**). Ensuite (ii) le gradient de répartition des souches SARM chez les micromammifères qui diminuent en proportion au fur et à mesure de l'éloignement aux sites d'utilisation d'antibiotiques. Un résultat semblable est obtenu pour une autre bactérie, *E. coli* : **Grall et al. (2015)** ont montré la perte de la résistance aux Beta-lactamines chez les micromammifères lorsqu'on s'éloignait du centre d'utilisation d'antibiotiques. Ce constat cumulé au fait qu'aucune souche partagée entre groupes d'hôtes non exposés n'était SARM démontre d'une part que (i) les souches résistantes proviennent des PNHs et/ou de l'Homme et, d'autre part, (ii) confirme le rôle des chauves-souris, des micromammifères et de l'environnement dans la persistance communautaire des SARM.

**Article 2: Spread and persistence of methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*: the importance of host spectrum.**

Soumission prévue dans les prochains jours à Nature Ecology and Evolution

1 **Spread and persistence of methicillin-resistant strains of**  
2 ***Staphylococcus aureus*: the importance of host spectrum**

3  
4 Barthélémy Ngoubangoye<sup>1,2,3\*</sup>, David Fouchet<sup>2,3,\*</sup>, Larson Boundenga<sup>1</sup>, Cécile Cassan<sup>4</sup>,  
5 Céline Arnathau<sup>4</sup>, Helene Meugnier<sup>5</sup>, Illich Manfred Mombo<sup>1</sup>, Thierry-Audrey Tsoumbou<sup>1</sup>,  
6 Nancy Moukodoum<sup>1</sup>, Richard Onanga<sup>1</sup>, Arsene<sup>1</sup> Mabicka<sup>1</sup>, Eric M. Leroy<sup>1,4</sup>, Tristan Ferry<sup>3,5</sup>,  
7 Franck Prugnon<sup>1,4</sup>, Anne-Laure Bañuls<sup>4</sup>, François Renaud<sup>4#</sup>, Dominique Pontier<sup>2,3#</sup>

8  
9 <sup>1</sup>Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF), BP 769 Franceville,  
10 Gabon

11 <sup>2</sup>Univ Lyon, Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive  
12 UMR5558, F-69622 Villeurbanne, France

13 <sup>3</sup>LabEx ECOFECT, Eco-evolutionary Dynamics of Infectious Diseases, Univ Lyon, France

14 <sup>4</sup>Laboratoire MIVEGEC; UMR-CNRS 5290-IRD 224, IRD Montpellier, France

15 <sup>5</sup>Centre International de Recherche en Infectiologie, INSERM U1111, CNRS UMR5308,  
16 Université de Lyon 1, ENS de Lyon, Hospices Civils de Lyon, France

17  
18 **Corresponding author:**

19 Barthélémy Ngoubangoye: [genistha@hotmail.com](mailto:genistha@hotmail.com)

20 <sup>\*</sup>These authors contributed equally to this work

21 <sup>#</sup>These authors supervised this work

22

23

## 24 **Abstract**

25 Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* is a major human and animal health issue both  
26 in hospital and in veterinary environment. To date, most studies have focused on hospital  
27 environments but very few studies have investigated the spread of antibiotic resistance from  
28 antibiotic use in natural ecosystems. Only recently studies have started to consider multiple  
29 host systems, showing that anthropogenic activities could pass antibiotic resistance to  
30 untreated animal species. However, the role of bacterial host spectrum on the dissemination  
31 and persistence of antibiotic resistance in environments with close contacts between humans,  
32 human managed species and wild fauna was largely overlooked. In the present paper, we  
33 assessed the prevalence of methicillin resistance among *S. aureus* (MRSA) isolates from  
34 humans (N=39), non-human primates (NHPs, N=580), micromammals (N=561) and bats  
35 (N=141) in a primatology center, Gabon, and evaluated the plausibility of four predictions  
36 regarding the spread of antibiotic resistance in this ecosystem. Globally, of the 1180 isolates,  
37 15 new strains of *S. aureus* were identified among which 8 were also MRSA strains. PNHs  
38 could be reservoir of two new MRSA strains (t15942 and t15943). Our results showed that  
39 MRSA strains were mainly found in species submitted to antibiotic treatments (humans and  
40 NHPs) and disseminated to other species mainly through generalist (i.e., strains that are able  
41 to infect multiple hosts) strains that also circulate in these exposed species. Indeed, specialist  
42 strains (i.e. strains infecting only a single-host species) infecting only unexposed species  
43 showed a low level of MRSA strains among them, which suggests that the acquisition of  
44 resistance through environmental contamination is rather low. More strikingly, we found that  
45 in NHPs, generalist strains that were not found in humans showed a higher proportion of  
46 MRSA strains among them than specialist strains. Since it is hardly imaginable that this  
47 additional level of resistance was acquired through differential antibiotic pressure, we  
48 hypothesize that generalist strains could have a greater adaptability than specialist strains.

49 This hypothesis should motivate further research about the molecular link between resistance  
50 and generalism. More generally, this study demonstrates that host spectrum is a major  
51 component of the issue of antibiotic resistance in ecosystems where humans apply strong  
52 antibiotic pressures.

53 **Keywords:** Natural ecosystem, humans, non-human primates, bats, micromammals, strain  
54 biodiversity, generalist and specialist strains, antibiotic resistance.

55

56



## 57 **Introduction**

58 Antibiotic resistance is nowadays a major problem of public health at global level and  
59 primarily results from the selection pressure exerted on bacteria by the overuse of  
60 antibiotics<sup>1,2</sup>. While the use of antibiotics in hospital is well known as a major issue in drug  
61 resistance, the use of antibiotics in animals, such as animals maintained in captivity and semi-  
62 captivity (e.g., in zoos and parks) either for therapeutic use, or raised for food (poultry, pigs,  
63 and cows) is now considered as a an important factor of emergence and spread of drug  
64 resistance<sup>3-5</sup>. Although much is known about how resistant bacteria spread in hospitals, i.e.,  
65 within single host species communities<sup>6,7</sup>, the scale of the problem, and factors that  
66 predispose to the emergence, dissemination and persistence of antibiotic resistant bacteria in  
67 natural ecosystems where both humans, domestic and/or wildlife are in close contacts, i.e., in  
68 multiple host species communities<sup>8</sup> require investigation.

69 In natural ecosystems, an important feature of the problem of antimicrobial resistance  
70 is the host spectrum of the microorganisms. Since the emergence of drug resistance is largely  
71 dependent on the frequency of treated hosts, microorganisms spreading in multiple host  
72 systems, i.e., generalist, suffer multispecific constraints for the acquisition of drug resistance  
73 while specialist strains only suffer monospecific selective pressures. The strength of selection  
74 imposed by the host ecological community and the cost of being generalist and/or resistant  
75 will shape evolution and coexistence of different strategies. For example, in a two species  
76 system with a treated and an untreated species in close contact and equal proportion, specialist  
77 strains will suffer strong and null antibiotic pressure, respectively, while generalist strains will  
78 suffer an intermediate pressure. So in the untreated species, the generalist strain should suffer  
79 a stronger antibiotic pressure than the specialist strains and the opposite should occur in the  
80 treated species. Microorganism host spectrum, which has been largely overlooked in the study

81 of antimicrobial resistance, may thus be an important trait to consider for characterizing  
82 antimicrobial resistance in natural ecosystems.

83 In this study, we determined the pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*  
84 (MRSA) amongst host populations (humans, non-human primates, micromammals, and bats)  
85 in the Center of Primatology (CDP) of the International Center for Medical Research in  
86 Franceville (CIRMF), Gabon (Central Africa). *S. aureus* is both a commensal and a pathogen  
87 of humans and of various mammalian species<sup>5,9,10</sup>. It causes a wide variety of infections  
88 ranging from mild diseases to life threatening diseases such as bacteremia or sepsis<sup>11,12</sup>.  
89 Emergences of MRSA infections followed the use of different types of antibiotics over the  
90 years and now pose a serious problem in anti-microbial chemotherapy worldwide<sup>13-15</sup>. In  
91 addition to increasing prevalence and incidence MRSA infections are associated with  
92 increased morbidity and mortality, in comparison with methicillin susceptible *S. aureus*  
93 (MSSA) infections<sup>7,16,17</sup>. Furthermore the bacterium has the ability to switch host<sup>4,12,18-20</sup>, even  
94 after long periods of isolation in a single host species<sup>21</sup>.

95 The CDP offers a contrasting ecosystem where species submitted to different  
96 antibiotic pressures coexist, humans being more exposed than NHPs and micromammals  
97 (rodents and shrews) and bats being unexposed. Within the group of NHP species, an  
98 important contrast is also found in the regularity of treatments, species living in aviaries being  
99 under full control of veterinarians while treatments are sometimes erratic or interrupted in  
100 species living in enclosures because of the difficulty to recapture the individuals. The  
101 ecosystem is also contrasted regarding bacterial characteristics, our data showing that both  
102 specialist and generalist (infecting more than one host species) strains coexist.

103 The objective of this study is to take advantage of this natural but human driven  
104 ecosystem to test several predictions on the frequency of MRSA strains. To this end, we  
105 isolated *S. aureus* strains from humans, NHPs, bats and micromammals, typed their *spa*-

106 gene<sup>22</sup>, and identified MRSA by amplifying by PCR the *mecA* gene. Our first prediction (P1)  
107 is that humans and then NHPs, the two species that benefit from medical care, should present  
108 the highest prevalence of MRSA compared to bats and micromammals (rodents and shrews),  
109 which are not directly exposed to antibiotics. A recognized factor known to promote  
110 antimicrobial resistance is a deviation from the prescribed antibiotic treatment. We thus  
111 expect (prediction P2) NHPs living in enclosure to be more at risk to carry MRSA strains than  
112 NHPs living in captivity (aviaries) because antibiotic treatments are often interrupted in  
113 enclosure due to the difficulty to recapture the individuals at a regular rate for adequate drug  
114 administration. Micromammals are another interesting group because their small dispersal  
115 distance (compared to bats) should constrain the geographical spread of the bacteria. If drug  
116 resistance imposes a substantial cost on the transmissibility of the bacteria, then we would  
117 expect (prediction P3) that once selection pressure is reduced, i.e., with increasing distance to  
118 the spot of antimicrobial pressure (buildings housing NHPs and/or humans), susceptible  
119 strains would rapidly replace resistant ones in the micromammals living far from these spots.  
120 The corresponding hypothesis was not tested in bats, which fly over long distances. The last  
121 prediction (P4) concerns the link between host spectrum and the prevalence of MRSA.  
122 Because humans and NHPs are supposedly the main source of antibiotic resistance, we expect  
123 that, in bats and micromammals, generalist strains that also infect humans and/or NHPs  
124 should show a higher level of antibiotic resistance than specific strains. We also expect that,  
125 in NHPs and humans, generalist strains that also infect micromammals and/or bats should  
126 show a lower level of antibiotic resistance than specific strains.

127         Finally, investigating the spread of antibiotic resistance to unexposed host species may  
128 also provide some highlights about the mechanisms of acquisition of resistance in these host  
129 species. Different routes can lead to this acquisition. First, individuals can be directly exposed  
130 to antibiotics through environmental contamination, e.g., through contaminated food or water.

131 In that case, all strains (specialist and generalist) of unexposed species should show an  
132 important level of resistance. Second, the acquisition can be achieved through ecological  
133 trajectories of *S. aureus* strains. By spreading to exposed species, generalist strains can  
134 acquire resistance and confer it to unexposed species. In that case, generalist strains shared  
135 with exposed species should be the most resistant strains found in unexposed species. So the  
136 differential rate of antibiotic resistance between specialist and generalist strains shared with  
137 exposed species can thus be an indicator of the relative weight of these two routes of  
138 acquisition of resistance in unexposed species.

## 139 **Results**

### 140 **Prevalence of *S. aureus* among host community**

141 All the 1180 swabs nasal collected were examined. The *nuc*-PCR showed 100% concordance  
142 with SAID culture for human and NHP samples whereas two nasal swabs from bats and one  
143 from micromammals positive at SAID culture were negative to *nuc*-PCR. Globally, the  
144 proportion of positive individuals on *nuc*-PCR was 46.15% in humans, 46.55% in NHPs,  
145 30.48% in micromammals and 41.13% in bats (Figure 2a, Supplementary data S1). No  
146 significant differences between humans and NHPs ( $p=1$ ), between humans and bats ( $p=0.7$ ) or  
147 between humans and micromammals ( $p=0.067$ ) were detected. No significant differences  
148 were observed between NHPs and bats ( $p=0.28$ ). However, NHPs were more infected than  
149 micromammals ( $p=0.02.10^{-10}$ ) (Table 1 for more details).

150

### 151 ***Spa*-typing**

152 In total, 474 sequences were examined. Among them 14 were unexploitable. Forty-nine  
153 different *spa*-types were identified from the remaining 460 isolates (Tables S1 and S2),  
154 including 15 new *spa*-types (number t15940 to t16031). Globally, 198 isolates representing 13  
155 *spa*-types belonged to generalist strains (Table S1) and 262 isolates representing 36 *spa*-types

156 belonged to specialist strains (Table S2). Four specialist *spa*-types in humans correspond to 6  
157 isolates, 14 in NHPs correspond to 168 isolates (13 from *P. t. troglodytes*, 34 from *Macaca*  
158 *sp.*, 118 from *M. sphinx* and 1 from *G. g. gorilla*, *C. solatus* and *C. aethiops*), 10 in bats  
159 correspond to 30 isolates (2 from *E. helvum*, 22 from *E. franqueti*, 5 from *H. monstrosus* and  
160 1 from *R. aegyptiacus*) and 8 in micromammals correspond to 58 isolates (8 from *L. striatus*,  
161 9 from *L. nudicaudus*, 22 from *M. musculus*, 8 from *Praomys* sp., 10 from *R. rattus* and 1  
162 from shrew). Thirteen *spa*-types were shared between two or three host species: NHPs and  
163 humans (t537, t189), NHPs and bats (t2546, t15942, t5725), NHPs and micromammals (t056,  
164 t084), micromammals and bats (t15969, t1781), NHPs, humans and bats (t355), NHPs,  
165 micromammals and bats (t5017), humans, micromammals and bats (t939) (see Table S2).

166 The numbers of identified repeats ranged between 1 (t693, t779, t1781) and 11 (t148,  
167 t12895, t15967). Eight *spa*-types were excluded due to their low number of repeats (<5).  
168 BURP analysis resulted in two *spa*-CCs already described (CC2546 with 2 *spa*-types  
169 grouping 20 isolates, CC15941 with 2 *spa*-types grouping 48 isolates in generalist and  
170 specialist strains, respectively). The other isolates were identified as singletons (7 *spa*-types  
171 among generalist strains and 16 *spa*-types among specialist strains, representing 130 and 103  
172 isolates, respectively, or as groups with no founder (2 for generalist strains and 10 for  
173 specialist strains, representing 32 and 70 isolates, respectively) (see Table S1 and S2).

174

## 175 **Testing the four predictions on MRSA carriage**

176 In agreement with prediction P1, we found significant differences in MRSA carriage between  
177 the four groups of species ( $p=1.8 \cdot 10^{-5}$ , Table 1). MRSA prevalence was significantly higher in  
178 humans (67% [95% confidence interval: 41%; 86%]) than in the three other groups of species.  
179 Prevalence was then the highest in NHPs (30%, 95% CI [24%; 36%]), then in bats (22%, 95%

180 CI [13%; 36%]), and it was the lowest in micromammals (16%, 95% CI [10%; 23%])(Figure  
181 2a).

182         Regarding prediction P2, we retained (Table S3) the mixed generalized model  $mec \sim$   
183  $a*s+g + (1|spe)$  as a base model for testing the difference in MRSA carriage between species  
184 living in enclosure and aviaries (Table 2). The difference between the two classes of housing  
185 was found significant ( $p=0.01$ ) and the estimated coefficient supported the idea that  
186 individuals living in enclosure show the highest rate of MRSA carriage (OR = 3.19 [1.51 to  
187 6.75]) (see Table 2).

188         Regarding prediction P3, we retained (Table S3) the generalized model  $mec \sim g$  as a  
189 base model for testing the link between MRSA carriage and the distance to NHP installations  
190 in micromammals. The link was found significant and the coefficient revealed a negative link  
191 between the two variables (for each 100m increase in distance to NHP installation, OR = 0.63  
192 [0.61; 0.66], see Table 2). The decrease was substantial, but individuals infected by resistant  
193 strains were still found above 300m from NHP installations (Figure 3a).

194         As regards the prediction P4, MRSA carriage was found significantly linked to host  
195 spectrum in NHPs, bats and micromammals (Table 3, Table S4 and Figure 2b). In humans the  
196 link was not significant, which could be due to small sample size. In NHPs, both generalist  
197 strains (GH: OR = 2.5 [1.02; 6.17] and GnH: OR = 2.33 [1.09; 5]) were found more resistant  
198 than specialist strains (Table 3).

199         In bats, MRSA carriage was much higher in generalist strains infecting host species  
200 exposed to antibiotic (GE strains) than in specialist strains (OR = 6.89 [1.65 to 28.78]).  
201 MRSA carriage was not significantly different between specialist strains and generalist strains  
202 that were not found in exposed species (GnE strains, see Table 3). A consistent pattern was  
203 observed in micromammals (between GE and specialist strains: OR = 11.02 [2.97; 40.85],  
204 GnE strains were not integrated in the study because only two individuals were found positive

205 to these strains – those individuals did not exhibited any resistance to methicillin, see Table  
206 3).

207         Considering the fact that, in micromammals, most MRSA strains (17/20) were  
208 generalist strains also infecting exposed species, the decay in the prevalence of MRSA with  
209 distance to PHN installations (observed in Figure 3a) could also be due to a decrease in the  
210 frequency of GE strains with the distance to NHP installations. This was indeed the case  
211 (Figure 3b) and, when we considered only GE strains in the analysis (Figure 3c), the decay  
212 was less pronounced – but significant, the test of prediction P3 is performed using the base  
213 model  $mec \sim g$ , and hence corrects for the confounding effect of the decreasing frequency of  
214 GE strains with distance.

215

## 216 **Discussion**

217 In wild animals, few studies have focused on NHPs in sanctuaries and they were generally  
218 limited to interaction between humans and NHPs<sup>4,20</sup>. The first originality of our study is to  
219 analyse the spread of antibiotic resistance in a broader ecosystem context composed of  
220 phylogenetically distant hosts, here humans, NHPs, bats and micromammals living in  
221 proximity in a primatology center in Gabon. The second originality is to include host  
222 spectrum as a potential critical factor for understanding drug resistance spread and persistence  
223 to host species not exposed to antibiotic treatment.

224

### 225 **MSSA and MRSA clones**

226 In this study we report 15 new *spa*-types (5 in NHPs, 5 in bats, 2 in micromammals, none in  
227 humans among specialist strains; 2 among generalist strains, none infecting humans) and 34  
228 already described *spa*-types. The most prevalent MSSA isolates in previous studies in Gabon  
229 were t084 (ST15) and t355 (ST152) isolates. Indeed, t084 isolates corresponded to 35% of all



230 isolates responsible for *S. aureus* carriage in inhabitants of Lambaréné and surrounding  
231 villages (500 km from Franceville; Ateba Ngoa et al. <sup>23</sup>). In another study performed in  
232 Foumagou (244 km from Franceville), ST15 strains colonized 30% of mothers and 25% of  
233 their child; ST152 strains colonized 25% of mothers and 22% of their child<sup>24</sup>. In NHPs, the  
234 diversity of *S. aureus* carriage has never been explored in Gabon, even if ST15 and ST152  
235 strains have been previously detected in a limited number of animals (domestic animals and  
236 *Cephalophus* sp.,<sup>20,25</sup>). These isolates were not highly prevalent in our study in humans as in  
237 animals, but we found that ST15 strains were generalist in NHPs and micromammals, and  
238 ST152 strains in humans and NHPs (Table S1).

239 Focusing on MRSA clones, hospital-associated clones, such as the ST239 and ST241  
240 clones, have been previously described in nine African countries<sup>26-28</sup>, but not in our study.  
241 Community-acquired MRSA clones usually more frequently harbored the PVL genes (one of  
242 the important virulence factors of *S. aureus*) in comparison with hospital-acquires MRSA  
243 clones<sup>26,29</sup>. The MRSA ‘African clone’ ST88 (t186), which is highly prevalent in West,  
244 Central, East Africa and Madagascar<sup>26</sup>, does not harbor the PVL genes. This clone has been  
245 significantly associated with *S. aureus* infections in Gabon (5 isolates were found in pygmy  
246 populations,<sup>30</sup>, whereas the prevalence of this clone in carriage is very low (only one patient  
247 in the study of Ateba Ngoa, et al. <sup>23</sup>, no patients in the study performed by<sup>31</sup>). We found this  
248 clone in only 2 humans, and no transmission was observed to animals.

249 The most prevalent generalist *S. aureus* strains were the ST188 (t189), t939, t5017,  
250 t15942, and t084 (table S1), the last four of unknown ST. The strain t15942 was found in 17  
251 NHPs and 5 Bats, and not in humans. Of importance, 15 of the t15942 strains collected (68%)  
252 were MRSA, suggesting the circulation of a MRSA clone in animals. Regarding specialist  
253 strains, the most prevalent strain with the highest proportion of MRSA (47%) was the t15943  
254 (table S2), of unknown ST. This strain was found in 34 NHPs, suggesting a new MRSA clone

255 circulating specifically in NHPs. Further studies are required to determine the epidemic  
256 potential of these new MRSA clones, in each animal species, but also between animals and  
257 humans.

258

### 259 **Pattern of MRSA spread**

260 MRSA strains were found in all groups of host species. As expected in our prediction P1,  
261 MRSA prevalence was significantly different between host groups of species, resistant strains  
262 being more prevalent in humans. However, surprisingly, we found relatively high prevalence  
263 of MRSA in bats and micromammals, two species that are not exposed to antibiotic  
264 treatments. Host spectrum explains quite well these results.

265 In the two unexposed (bat and micromammals) groups of species, resistance carriage  
266 was very low in specialist strains and absent in the generalist strains that were not found in  
267 exposed species (i.e., humans and NHPs: GnE) (t1781 and t 15969, see Table S1 and Figure  
268 2b). Conversely, resistance was high in the generalist strains that were able to infect humans  
269 and/or NHPs (GE), in rates that were comparable to what is observed in NHPs (Table 3 and  
270 Figure 2b). These results support the idea that inter-specific transmission is the major source  
271 of MRSA diffusion to wild species. If human driven selection for antibiotic resistance through  
272 environmental contamination might occur (some specialist strains of micromammals and bats  
273 carried resistance genes, but resistance could also have been acquired through horizontal gene  
274 transfers from resistant generalist strains), its impact is much lower.

275 In micromammals, MRSA risk was found to be significantly decreasing with the  
276 distance to NHP installations (Table 1 and Figure 3a). This supports the idea that resistance in  
277 micromammals is mainly acquired close to areas with the greatest antibiotic pressure and do  
278 not spread over larger geographical scales because of the low dispersal distance of  
279 micromammals. Once antibiotic pressure decays (i.e., far from NHP installations), resistant

280 strains tend to be replaced by non-resistant ones. This result is consistent with those observed  
281 by<sup>1</sup> concerning the anthropogenic exposure of *E. coli* to ticarcillin ( $\beta$ -lactams). However, our  
282 data allowed to disentangle this effect into two mechanisms.

283 First, resistance mainly spreads through generalist strains shared with humans and/or  
284 NHPs (Table 3). These generalist strains tend to become rarer far from human and NHP hosts  
285 (Figure 3b) probably because they require the presence of all hosts to counterbalance the  
286 fitness cost of generalism. Second, within the GE group, far from the source of emergence of  
287 antibiotic resistance, resistant strains seem less well adapted than their non-resistant  
288 counterpart (Figure 3c). So the global decay of resistance with distance to NHP installation  
289 observed in Figure 3a arises from the superposition of two phenomena. When we compare  
290 Figures 3b and 3c, we can see that the decay in GE strains frequency with distance to NHP  
291 installations is relatively similar to (see slightly more pronounced than) the decay of the  
292 frequency of resistance in GE strains. To summarize, this analysis shows that the fitness cost  
293 of resistance is, at least in our situation, the combination of the costs associated both with  
294 generalism and with resistance in generalist strains. Hence, the pure fitness cost of resistance  
295 (that is observed from Figure 3a) appears lower than what can be expected from an analysis  
296 that would neglect host spectrum (Figure 3a). The fact that resistant strains were still observed  
297 at distances that were far beyond the distribution areas of micromammals, i.e., less than 1ha<sup>32-</sup>  
298 <sup>34</sup> suggests that, in reality, the true fitness cost of resistance in generalist strains could be  
299 relatively low.

300 All these results were in agreement with our predictions. This means that the picture  
301 depicted until now is consistent with the ecological intuitive view we could have about the  
302 spreading of antibiotic resistance between exposed and unexposed species. However, NHPs  
303 show a more intriguing picture. In NHPs, MRSA carriage was found significantly higher in

304 species living in enclosures, in agreement with the prediction P3. This point out the  
305 importance of applying complete antibiotic treatments to limit the spread of resistance strains.

306       Regarding host spectrum, we had little *a priori* about the impact of generalism on the  
307 spread of MRSA in NHPs. Spreading through human hosts could be an additional source of  
308 resistance acquisition. So MRSA carriage could be higher in generalist strains. But resistance  
309 in generalist strains could also be counter-selected through the spreading of *S. aureus* in bats  
310 and micromammals. Generalism could thus also reduce MRSA carriage.

311       To disentangle these two effects, we separated generalist strains found in NHPs  
312 according to whether they were also found in humans or not. Generalist strains infecting  
313 humans were found significantly more resistant than specialist strains, which was consistent  
314 with what we expected. However, strikingly, generalist strains that were not found in humans  
315 were also found to be more resistant than specialist strains and this increase was significant  
316 (Table 3 and Figure 2b). This result is highly counter-intuitive because, while spreading to  
317 bats and/or micromammals, the release of antibiotic pressure should have decreased the level  
318 of resistance. At best, generalist strains that were not found in humans should have had the  
319 same level of resistance as specialist strains.

320       This result may suggest that generalist strains, beyond the pressures imposed by their  
321 ecological trajectory (in terms of host species), could be more prone to acquire resistance to  
322 methicillin. One possible hypothesis could be that they show a greater level of adaptability  
323 than specialist strains. This hypothesis makes sense with regard to the ecological constraints  
324 imposed on these strains. Indeed, generalist strains, when they change of host, need to adapt a  
325 new environment. So these strains could be more ‘adaptable’ to antibiotic pressures, e.g.,  
326 through a faster acquisition of resistance or a decreased associated fitness cost. Interestingly,  
327 previous work<sup>35</sup> have shown that bacteria using a generalist strategy present structural

328 differences compared to specialist strains. These structural differences could be important in  
329 the acquisition of resistance.

330 For the moment this hypothesis remains speculative. But, if true, this could have  
331 important epidemiological implications. If generalist strains are more prone to acquire  
332 antibiotic resistance, antibiotic pressure could be an important factor for bacterial  
333 transmission between species by favoring strains with a broader host spectrum. So, for  
334 example, the massive treatment of livestock could, indirectly, leads to an increased risk of  
335 bacterial transmission to humans.

336

## 337 **Conclusion**

338 Our data depicts a consistent general picture of transmission of resistance in an ecosystem  
339 where some host species are exposed to antibiotic pressure while others are not. Exposed  
340 species seem to constitute an important reservoir for antibiotic resistance. Transmission to  
341 unexposed species seems relatively strong and, interestingly, seems more driven by inter-  
342 specific transmission than by environmental contamination (e.g., contaminated food or water).  
343 Transmission of generalist resistant strains within unexposed hosts seemed to be relatively  
344 efficient. In NHPs, the fact of spreading to unexposed species was not found to decrease the  
345 rate of antibiotic resistance (the same study in humans would be interesting but could not be  
346 performed here due to small human sample size). At the opposite, this rate was greater than in  
347 specialist strains, suggesting that generalist strains could present a greater potential for the  
348 acquisition of antibiotic resistance. This conclusion, we hope, could stimulate further studies  
349 to characterize the relationship that may exist between generalism and antibiotic – and more  
350 generally drug – resistance. In any case, we believe that this study demonstrates the interest of  
351 considering host spectrum as a fundamental trait to better understand the problem of drug  
352 resistance in multi-host species ecosystems. Regarding conservation, the results of this study

353 show that sanctuaries like the primatology center can promote the transmission of *S. aureus*  
354 strains between host species and that drug resistance can be spread to non-treated species.  
355 This can have consequences on the effectiveness of antibiotics in human and animal health. In  
356 sanctuaries or conservation programs, the application of specific procedures is hence required  
357 to limit the spread of antibiotic resistance. The new guidelines presented by the IUCN  
358 (International Union for Conservation of Nature)<sup>36</sup> and GRASP (Great Apes Survival  
359 Partnership) should move in that direction. Regarding human health, many ecosystems  
360 involving treated and untreated species arise from human way of life (zoos, public parks,  
361 stock farms, etc) everywhere in the world. Research is needed to understand the role of animal  
362 biodiversity and host spectrum in the spread and persistence of antibiotic resistance in such  
363 anthropogenic ecosystems.

## 364 **Methods**

### 365 *Study host community*

366 The research was conducted during 2013 and 2014 in the Primatology Center (CDP) of the  
367 International Center for Medical Research in Franceville, Gabon (CIRMF). The CDP is  
368 located in the city of Franceville in the province of Haut-Ogooué, South-East Gabon  
369 (1°37'59" N/13°34'59" E; Figure 1). The first habitations are located less than 500 m from  
370 CDP. The CDP hosts more than 350 NHPs belonging to eight species among which  
371 chimpanzees (*Pan troglodytes troglodytes*), gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*), mandrills  
372 (*Mandrillus sphinx*) and five species of other monkeys (*Cercocebus torquatus*, *Chlorocebus*  
373 *aethiops*, *Macaca* sp., *Cercopithecus solatus*, *C. cephus*). A team of 22 people provides care  
374 for animals, feeds and monitors them. NHPs are located in two distinct environments. A first  
375 group of species (*Mandrillus sphinx*, *Cercopithecus solatus* and *C. cephus*) lives in a forest  
376 enclosure of six hectares whereas the second group (*Pan troglodytes troglodytes*, *Gorilla*  
377 *gorilla* and other monkeys) lives in large aviaries. Moreover, during the night, frugivorous

378 bats, rodents and shrews feed on food and bananas leftovers in the feeding areas of NHPs (4  
379 tonnes of bananas are received each week at the CDP to feed NHPs).

380

### 381 ***Sampling and ethic statements***

382 The study was based on 1180 swabs collected between 2013 and 2014, including 619 nasal  
383 swabs from 39 humans and 580 NHPs (384 *Mandrillus sphyinx*, 6 *Gorilla gorilla gorilla*, 82  
384 *Pan troglodytes troglodytes*, 2 *Cercocebus torquatus*, 9 *Chlorocebus aethiops*, 83 *Macaca*  
385 *spp*, 12 *Cercopithecus solatus*, 2 *C. cephus*); 561 oral swabs from micromammals including  
386 5 rodent species (93 *Lemniscomys striatus*, 52 *Lophuromys nudicaudus*, 136 *Mus musculus*,  
387 89 *Praomys spp*, 40 *Rattus rattus*) and 10 shrews (undetermined species), and 141 bats  
388 belonging to 4 species (106 *Epomops franqueti*, 14 *Hypsignathus monstrosus*, 12 *Eidolon*  
389 *helvum*, 9 *Rousettus aegyptiacus*). NHP samples were collected under routine health  
390 procedures and occasional veterinary consultations. Bats were captured using mist nets  
391 during 30 nights each year at different locations at the CDP and micromammals were  
392 captured using live traps (Tomahawk and Sherman) as described in <sup>1</sup>. The trap grid covered  
393 the total area of the CDP and 149 traps were placed at 30m intervals within a radius of 1.2  
394 km around aviaries and enclosures. Finally, human samples were collected by the CIRMF  
395 medical team based on the workers' voluntary participation and in agreement with the  
396 recommendations of the Gabonese National Ethics Committee (Authorization  
397 N°PROT/0020/2013I/SG/CNE).

398

### 399 ***Isolation and identification of S. aureus***

400 All samples were streaked on SAID and blood agar plates according to manufactory  
401 description (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Isolates were identified on the basis of  
402 colony morphology, Gram stain, catalase test, and coagulation test (SAID, Marcy l'Etoile,



403 France) and verification was carried out by PCR for the presence of *nuc* (a species-specific  
404 marker) as described previously<sup>37</sup>.

405

### 406 ***Spa typing analysis***

407 DNA sequencing of short sequence repeats (SSR) of the polymorphic X region of the protein  
408 A gene (*spa*) was used for typing all *S. aureus* isolates<sup>38,39</sup>. PCR amplification of the SSR area  
409 of the *spa* gene was accomplished as described previously<sup>40,41</sup>. DNA sequencing of the PCR-  
410 amplified products (150-500pb) was performed by Eurofins MWG (Germany). The standard  
411 chromatogram files of the forward and reverse sequences obtained from each sample were  
412 edited and assembled and *spa* types were determined using Ridom StaphType software  
413 (Ridom GmbH, Würzburg, Germany;<sup>42</sup>). All sequences were checked by using the online  
414 BLAST database (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Identified *spa* types with similar  
415 repeat profiles (i.e., sharing identical SSR units arranged in an identical order) were clustered  
416 into *spa* clonal complexes (*spa*-CCs) using the BURP-algorithm (Staph Type 2.1.1 software,  
417 Ridom GmbH, Münster, Germany<sup>42</sup>. *Spa*-types shorter than 5 repeats were excluded (because  
418 their information content is limited and no reliable evolutionary history can be inferred)<sup>43,44</sup>; a  
419 cluster composed of 2 or more related *spa*-types was regarded as CC; a *spa*-type that was not  
420 grouped into a CC was considered as a singleton. Specific sequence types (STs) were  
421 assigned based on known association with *spa*-types reported on spa server database  
422 (<http://spa.ridom.de/spatypes.shtml>).

423

### 424 ***Antimicrobial susceptibility***

425 Methicillin-resistant *S. aureus* were identified by amplifying by PCR the *mecA* gene that  
426 encodes the modified penicillin binding protein PBP2a<sup>45</sup>.

427

### 428 ***Procedures to avoid contamination***

429 All analyses (culture, DNA extraction, PCR) were performed separately for each host  
430 (humans, NHPs, rodents, shrews and bats). The PCR analyses were verified in two separate  
431 laboratories (IRD and CIRMF).

432

### 433 ***Statistical analyses***

434 To test the first prediction P1, differences of proportions in *S. aureus* carriage and MRSA  
435 between types of hosts (NHPs, humans, micromammals and bats) were assessed using chi-  
436 square test. If significant, the global chi-square test was followed by a post-hoc analysis  
437 comparing species by pair using a Bonferroni correction where the *p*-value is multiplied by  
438 the number of tests.

439 For the three last predictions, we used a logistic regression model in *S. aureus* positive  
440 individuals with MRSA carriage as a response variable. Considered cofactors were sex (*s*),  
441 age as a categorical variable (*a*: young, juvenile and adult for NHPs; juvenile and adults for  
442 micromammals and bats; in humans age was replaced by seniority at work, *sw*), species (*spe*,  
443 only for NHPs, rodents and bats), distance to PHN installations (*d*, only for micromammals),  
444 housing (*h*, i.e., enclosures or aviaries, only for NHPs) and the degree of generalism (*g*, a  
445 simplified indicator for the host spectrum).

446 Captured individuals were classified in three age classes (juveniles, sub-adults and  
447 adults) for NHPs, bats and micromammals. We classified worker seniority into three groups:  
448 people working at the CDP for less than 5 years, between 5 and 10 years, more than 10 years.  
449 In micromammals, distance to NHP installations was defined as the minimal distance between  
450 the trap where the individual was captured and the nearest NHP installation (aviaries or  
451 enclosures). Finally, the degree of generalism was considered as follows. In humans, due to  
452 the small sample size, we considered only two modalities: a strain was considered as  
453 specialist when it was found only in humans, and generalist otherwise. In NHPs, specialist  
454 strains were those infecting only NHPs. Generalist strains were divided into two groups: those

455 also infecting humans (whether infecting or not bats and/or micromammals; group GH) and  
456 those infecting other species but not humans (group GnH). In bats and micromammals, two  
457 groups were also separated: strains only infecting untreated species (micromammals and bats;  
458 group GnE) and those also infecting humans and/or NHPs, i.e., at least one of the two species  
459 that are directly exposed to antibiotics (group GE).

460 For prediction P2, on NHP MRSA data, we started by choosing the set of correcting  
461 cofactors. From the model  $s*a+g$ , we performed an AIC procedure and retained the submodel  
462 with the lowest AIC score. This allowed us to retain a limited combination of correcting  
463 cofactors that have a good predictive power. Then species (*spe*) was added to the model as a  
464 random effect and was also taken as a correction cofactor. Housing was then added to the  
465 model and its effect was tested using a likelihood ratio test (LRT).

466 For prediction P3, on micromammal MRSA data, we first performed an AIC  
467 procedure on the submodels of  $s*a+spe+g$  in order to select a combination of correction  
468 cofactors. Then the effect of distance (*d*) was tested from this model using a LRT.

469 For prediction P4, in each of the four groups of species (humans, PNHs, bats and  
470 micromammals), MRSA data were considered separately. We first performed an AIC  
471 procedure on submodels of a full model ( $s*sw$  in humans,  $s*a+spe$  in NHPs and bats, and  
472  $s*a+spe+d$  in micromammals) in order to select a combination of correction cofactors in each  
473 data set. From the selected model, variable *g* was introduced in the model and parameters  
474 associated to this variable were estimated together and tested equal to zero, the modality  
475 “specialist” of variable *g* being taken as the intercept – so the estimated parameters quantify  
476 the difference in the probability (quantified by the odd ratios) of the acquisition of resistance  
477 between specialist and generalist strains (according to their host spectrum).  
478 Statistical analysis was performed with R software version 3.1.0. All statistical tests were  
479 performed with a 5% type 1 risk. For each group of species, coefficient estimates of the model

480 presenting the lowest AIC of all potential combination of cofactors considered was presented  
481 in supplementary data S3 and S4.

482

## 483 **References:**

- 484 1 Grall, N. *et al.* Lack of dissemination of acquired resistance to  $\beta$ -lactams in small wild  
485 mammals around an isolated village in the Amazonian forest. *Environmental*  
486 *microbiology reports* **7**, 698-708 (2015).
- 487 2 Tristan, A. *et al.* Global distribution of Pantone-Valentine leukocidin--positive methicillin-  
488 resistant *Staphylococcus aureus*, 2006. *Emerging infectious diseases* **13**, 594-600,  
489 doi:10.3201/eid1304.061316 (2007).
- 490 3 Armand-Lefevre, L., Ruimy, R. & Andremont, A. Clonal comparison of *Staphylococcus*  
491 *aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerging infectious*  
492 *diseases* **11**, 711-714 (2005).
- 493 4 Schaumburg, F. *et al.* Drug-resistant human *Staphylococcus aureus* in sanctuary apes  
494 pose a threat to endangered wild ape populations. *American journal of primatology* **74**,  
495 1071-1075, doi:10.1002/ajp.22067 (2012).
- 496 5 Katakweba, A. S. *et al.* spa typing and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*  
497 from healthy humans, pigs and dogs in Tanzania. *Journal of infection in developing*  
498 *countries* **10**, 143-148, doi:10.3855/jidc.6790 (2016).
- 499 6 Huang, Y. C., Ho, C. F., Chen, C. J., Su, L. H. & Lin, T. Y. Comparative molecular  
500 analysis of community-associated and healthcare-associated methicillin-resistant  
501 *Staphylococcus aureus* isolates from children in northern Taiwan. *Clinical Microbiology*  
502 *and Infection* **14**, 1167-1172 (2008).
- 503 7 Klevens, R. M. *et al.* Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in  
504 the United States. *Jama* **298**, 1763-1771, doi:10.1001/jama.298.15.1763 (2007).
- 505 8 Sung, J. M.-L., Lloyd, D. H. & Lindsay, J. A. *Staphylococcus aureus* host specificity:  
506 comparative genomics of human versus animal isolates by multi-strain microarray.  
507 *Microbiology* **154**, 1949-1959 (2008).
- 508 9 Juhász-Kaszanyitzky, É. *et al.* MRSA transmission between cows and humans. *Emerging*  
509 *infectious diseases* **13**, 630-632 (2007).

- 510 10 Smith, T. C., Moritz, E. D., Leedom Larson, K. R. & Ferguson, D. D. The environment  
511 as a factor in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission. *Reviews on*  
512 *environmental health* **25**, 121-134 (2010).
- 513 11 Moran, G. J., Amii, R. N., Abrahamian, F. M. & Talan, D. A. Methicillin-resistant  
514 *Staphylococcus aureus* in community-acquired skin infections. *Emerging infectious*  
515 *diseases* **11**, 928-930 (2005).
- 516 12 Nagel, M. *et al.* Human-associated *Staphylococcus aureus* strains within great ape  
517 populations in Central Africa (Gabon). *Clinical microbiology and infection : the official*  
518 *publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **19**,  
519 1072-1077, doi:10.1111/1469-0691.12119 (2013).
- 520 13 Grundmann, H., Aires-de-Sousa, M., Boyce, J. & Tiemersma, E. Emergence and  
521 resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *The*  
522 *Lancet* **368**, 874-885 (2006).
- 523 14 Noskin, G. A. *et al.* National trends in *Staphylococcus aureus* infection rates: impact on  
524 economic burden and mortality over a 6-year period (1998-2003). *Clinical infectious*  
525 *diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **45**, 1132-  
526 1140, doi:10.1086/522186 (2007).
- 527 15 Wertheim, H. F. *et al.* Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus*  
528 bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers. *Lancet (London, England)* **364**, 703-  
529 705, doi:10.1016/s0140-6736(04)16897-9 (2004).
- 530 16 Klein, E., Smith, D. L. & Laxminarayan, R. Hospitalizations and deaths caused by  
531 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 1999-2005. *Emerging*  
532 *infectious diseases* **13**, 1840-1846, doi:10.3201/eid1312.070629 (2007).
- 533 17 Cosgrove, S. E. *et al.* Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and  
534 methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clinical*  
535 *infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*  
536 **36**, 53-59, doi:10.1086/345476 (2003).
- 537 18 Epstein, J. H. & Price, J. T. The significant but understudied impact of pathogen  
538 transmission from humans to animals. *The Mount Sinai journal of medicine, New York*  
539 **76**, 448-455, doi:10.1002/msj.20140 (2009).
- 540 19 Unwin, S. *et al.* Does confirmed pathogen transfer between sanctuary workers and great  
541 apes mean that reintroduction should not occur? Commentary on "Drug-resistant human  
542 *Staphylococcus aureus* findings in sanctuary apes and its threat to wild ape populations".  
543 *American journal of primatology* **74**, 1076-1083, doi:10.1002/ajp.22069 (2012).

- 544 20 Schaumburg, F. *et al.* Staphylococcus aureus complex from animals and humans in three  
545 remote African regions. *Clinical microbiology and infection : the official publication of*  
546 *the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **21**, 345.e341-  
547 348, doi:10.1016/j.cmi.2014.12.001 (2015).
- 548 21 Shephard, M. A. *et al.* Historical zoonoses and other changes in host tropism of  
549 Staphylococcus aureus, identified by phylogenetic analysis of a population dataset. *PLoS*  
550 *one* **8**, e62369 (2013).
- 551 22 Foster, T. J. Immune evasion by staphylococci. *Nature Reviews Microbiology* **3**, 948-958  
552 (2005).
- 553 23 Ateba Ngoa, U. *et al.* Epidemiology and population structure of Staphylococcus aureus in  
554 various population groups from a rural and semi urban area in Gabon, Central Africa.  
555 *Acta Trop* **124**, 42-47, doi:10.1016/j.actatropica.2012.06.005 (2012).
- 556 24 Schaumburg, F. *et al.* Transmission of Staphylococcus aureus between mothers and  
557 infants in an African setting. *Clinical Microbiology and Infection* **20**, O390-O396 (2014).
- 558 25 Schaumburg, F. *et al.* Highly divergent Staphylococcus aureus isolates from African non-  
559 human primates. *Environmental microbiology reports* **4**, 141-146, doi:10.1111/j.1758-  
560 2229.2011.00316.x (2012).
- 561 26 Abdulgader, S. M., Shittu, A. O., Nicol, M. P. & Kaba, M. Molecular epidemiology of  
562 Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Africa: a systematic review. *Frontiers in*  
563 *microbiology* **6**, 348 (2015).
- 564 27 Ramdani-Bouguessa, N. *et al.* Detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus  
565 strains resistant to multiple antibiotics and carrying the Panton-Valentine leukocidin  
566 genes in an Algiers hospital. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **50**, 1083-1085  
567 (2006).
- 568 28 Breurec, S. *et al.* Epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus lineages in  
569 five major African towns: emergence and spread of atypical clones. *Clinical*  
570 *Microbiology and Infection* **17**, 160-165 (2011).
- 571 29 Okuda, K. *et al.* Molecular epidemiology of Staphylococcus aureus from Lambaréné,  
572 Gabon. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* **35**, 1963-1973  
573 (2016).
- 574 30 Schaumburg, F. *et al.* Population structure of Staphylococcus aureus from remote African  
575 Babongo Pygmies. *PLoS neglected tropical diseases* **5**, e1150 (2011).

- 576 31 Schaumburg, F. *et al.* Characterization of a novel thermostable nuclease homolog  
577 (NucM) in a highly divergent *Staphylococcus aureus* clade. *Journal of clinical*  
578 *microbiology* **52**, 4036-4038, doi:10.1128/jcm.02327-14 (2014).
- 579 32 O'Farrell, M. J. Home range dynamics of rodents in a sagebrush community. *Journal of*  
580 *Mammalogy* **59**, 657-668 (1978).
- 581 33 Maza, B., French, N. & Aschwanden, A. Home range dynamics in a population of  
582 heteromyid rodents. *Journal of mammalogy* **54**, 405-425 (1973).
- 583 34 Duplantier, J.-M. Les rongeurs myomorphes forestiers du nord-est du Gabon: structure du  
584 peuplement, démographie, domaines vitaux. *Rev. Eco. (Terre Vie)*. **44**, 18 (1989).
- 585 35 Moran, N. A. Microbial minimalism: genome reduction in bacterial pathogens. *Cell* **108**,  
586 583-586 (2002).
- 587 36 Gilardi, K. *et al.* Best practice guidelines for health monitoring and disease control in  
588 great ape populations. *Occasional Papers of the IUCN Species Survival Commission*  
589 (2015).
- 590 37 Brakstad, O. G., Aasbakk, K. & Maeland, J. A. Detection of *Staphylococcus aureus* by  
591 polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. *Journal of clinical microbiology*  
592 **30**, 1654-1660 (1992).
- 593 38 Frenay, H. M. *et al.* Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on  
594 the basis of protein A gene polymorphism. *European journal of clinical microbiology &*  
595 *infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*  
596 **15**, 60-64 (1996).
- 597 39 Shopsin, B. *et al.* Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for  
598 typing of *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of clinical microbiology* **37**, 3556-3563  
599 (1999).
- 600 40 Shopsin, B. *et al.* Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for  
601 typing of *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of clinical microbiology* **37**, 3556-3563  
602 (1999).
- 603 41 Uhlen, M. *et al.* Complete sequence of the staphylococcal gene encoding protein A. A  
604 gene evolved through multiple duplications. *The Journal of biological chemistry* **259**,  
605 1695-1702 (1984).
- 606 42 Harmsen, D. *et al.* Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a university  
607 hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database  
608 management. *Journal of clinical microbiology* **41**, 5442-5448 (2003).



- 609 43 Strommenger, B. *et al.* Assignment of Staphylococcus isolates to groups by spa typing,  
610 SmaI macrorestriction analysis, and multilocus sequence typing. *Journal of clinical*  
611 *microbiology* **44**, 2533-2540, doi:10.1128/jcm.00420-06 (2006).
- 612 44 Mellmann, A. *et al.* Based Upon Repeat Pattern (BURP): an algorithm to characterize the  
613 long-term evolution of Staphylococcus aureus populations based on spa polymorphisms.  
614 *BMC microbiology* **7**, 98, doi:10.1186/1471-2180-7-98 (2007).
- 615 45 Predari, S. C., Ligozzi, M. & Fontana, R. Genotypic identification of methicillin-resistant  
616 coagulase-negative staphylococci by polymerase chain reaction. *Antimicrobial agents*  
617 *and chemotherapy* **35**, 2568-2573 (1991).

618

## 619 **Acknowledgements**

620 The study was funded by Centre International de Recherches Médicales de Franceville  
621 (CIRMF, Gabon), Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS, France), Institut de  
622 Recherche pour le Développement (IRD, France). This work was performed within the  
623 framework of the LabEx Ecofect (ANR-11-LABX-0048) of Lyon University (ANR-11-  
624 IDEX-007) (DF, BN, DP). We thank all the people (CDP, PPG and Bakoumba teams and  
625 veterinarians for technical assistance) who were involved in blood sampling, especially Eric  
626 Willaume, Geraldine Leyogho and Richard Onanga for their help in collecting data (sampling  
627 authorization: N°0020CNE/SG/P).

## 628 **Authors' contributions**

629 BN, TAT and LB contributed to sample acquisition; BN, DF, DP, CC, CA, LB, TF, IMM  
630 analyzed and interpreted the data; BN, DF and DP wrote the manuscript; DP and FR  
631 supervised the work. All authors read and approved the final version of the manuscript.

## 632 **Additional information**

633 Supplementary information is available for this paper.

## 634 **Competing interests**

635 The authors have declared that they have no competing interests.

636

637 **Figure legend**

638

639 **Figure 1:** Location of study site in Gabon. The Primate Center (CDP: 1° 37' 59" N / 13° 34'  
640 59 " E) is in southern of Gabon.

641 **Figure 2:** Difference in *S. aureus* and MRSA carriage between the four different groups of  
642 species. (a) Prevalence of *S. aureus* (dark grey) and MRSA (light grey) carriage in the four  
643 groups of hosts; (b) Prevalence of MRSA carriage in the groups of hosts according to the host  
644 spectrum. Strains were separated according to whether they were specialists (S, dark grey) or  
645 generalists (G, light grey). In NHPs, generalist strains were separated into two groups: those  
646 that also infect humans (strains GH) and those that do not (strains GnH). In micromammals  
647 and bats, generalist strains were separated into two groups: those that also infect exposed  
648 hosts (humans and/or NHPs, strains GE) and those that do not (strains GnE).

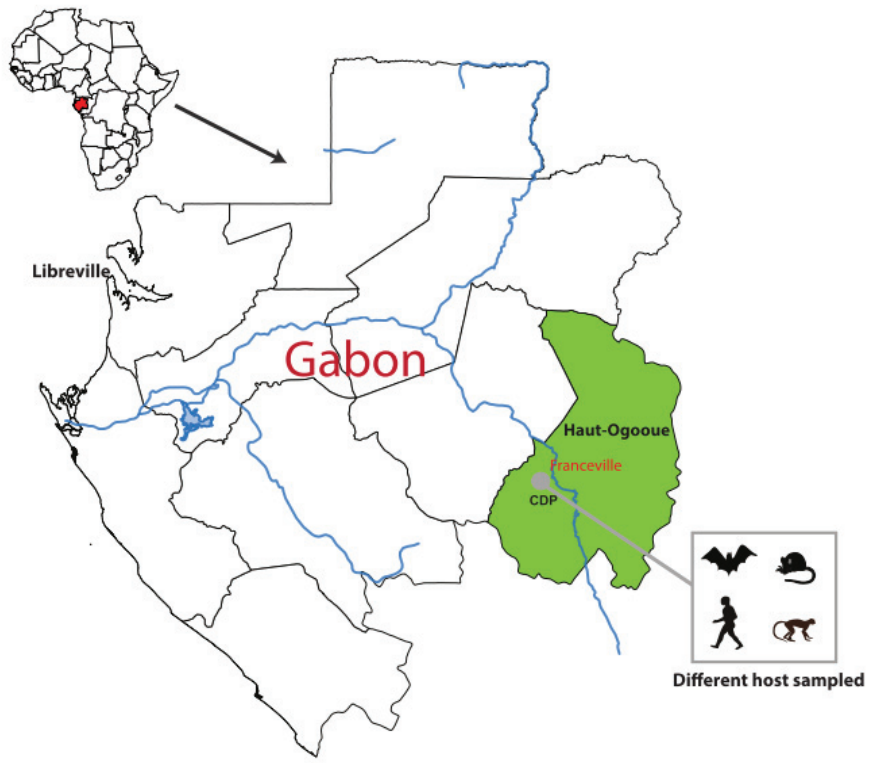
649 **Figure 3:** Frequency of MRSA carriage in micromammals according to the distance (in  
650 meters) to NHP installations considering all strains of *S. aureus* (subplot a) or only strains that  
651 also infect exposed species (humans and/or NHPs, GE strains; subplot c). Subplot b:  
652 Frequency of GE strains according to the distance (in meters=m) to NHP installations.

653

654

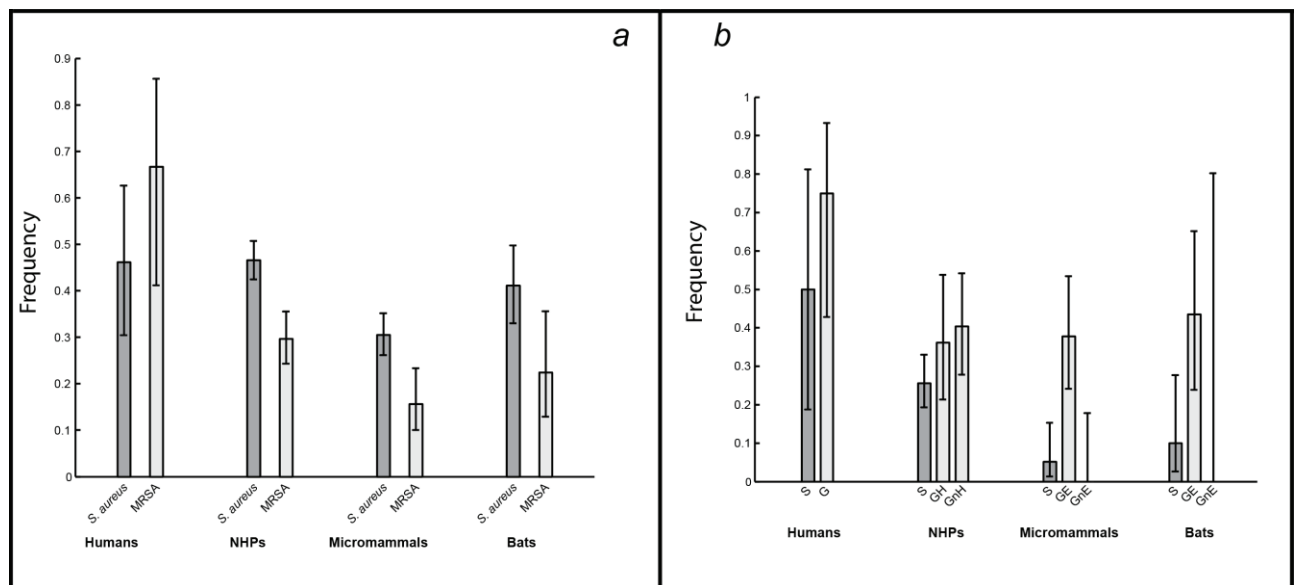
655

656 **Figure 1**



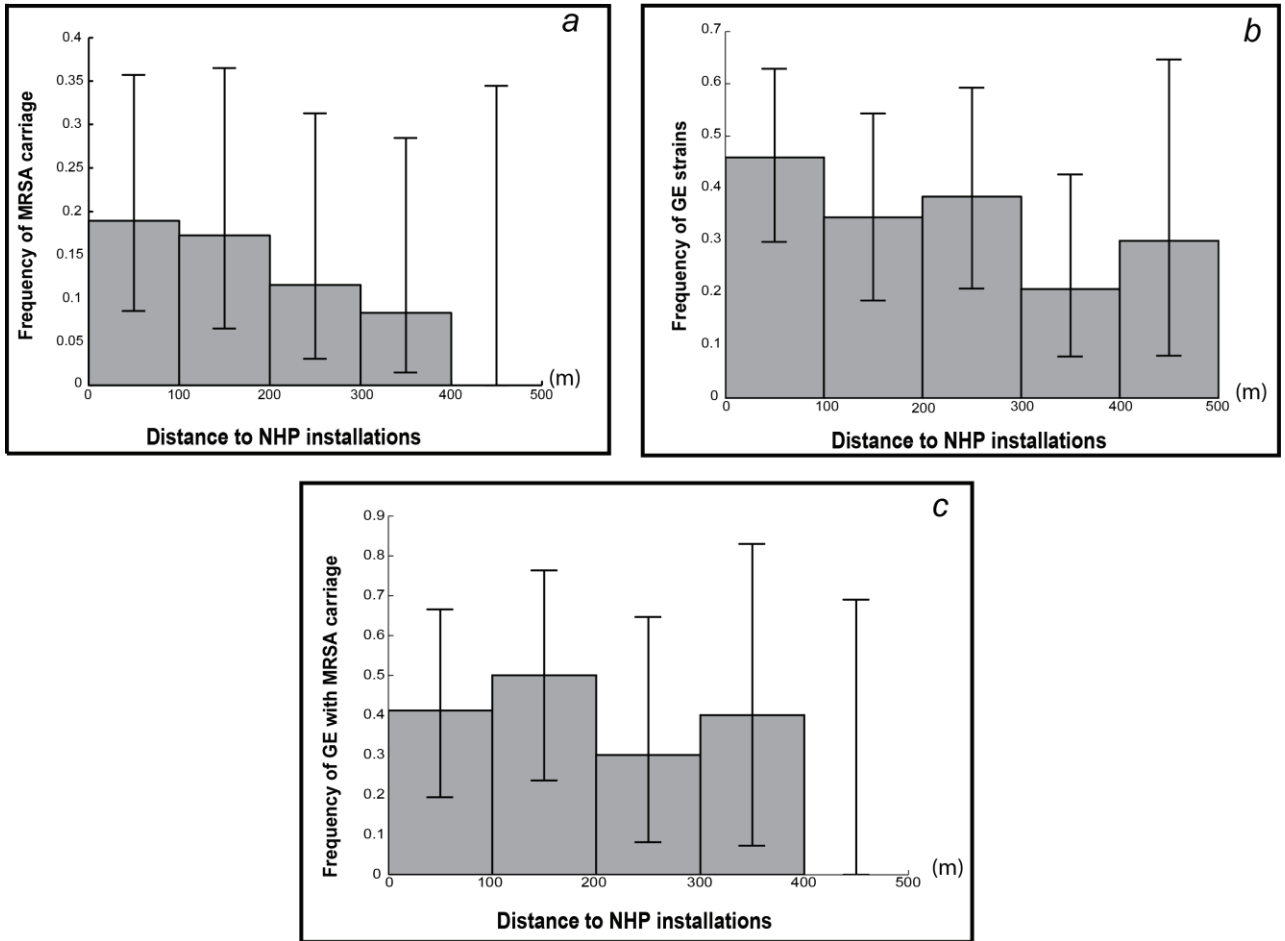
657

Figure 2



660 **Figure 3**

661



662

663 **Table 1:** Comparison of *S. aureus* and MRSA carriage between host types species by chi-square test or Fisher's exact test. Significance of the  
 664 global chi-square test was followed by a post-hoc analysis comparing species by pair using a Bonferroni correction where the *p*-value is  
 665 multiplied by the number of tests. The abbreviation 'Microm.' stands for micromammals.

Host	N° isolates		N	<i>p</i> -value			
	Positive	Negative		Human	NHPs	Bats	Microm.
Humans	18	21	39	-	1	0.705	0.067
NHPs	270	310	580	-	-	0.287	0.02.10 <sup>-10</sup>
Bats	58	83	141	-	-	-	0.15
Microm.	128	292	420	-	-	-	-
Global comparison	Chi-square = 26.89			df = 3			<i>p</i> -value = 6.2.10 <sup>-6</sup>
Humans	12	6	18	-	0.016	0.008	0.008
NHPs	80	190	270	-	-	0.340	0.02
Bats	13	45	58	-	-	-	0.35
Microm.	20	108	128	-	-	-	-
Global comparison	Chi-square = 24.61			df = 3			<i>p</i> -value = 1.8.10 <sup>-5</sup>

**Table 2:** Likelihood ratio test testing predictions P2 and P3 by investigating the link between MRSA carriage and housing in NHPs and between MRSA carriage and catch distance to NHP installations in micromammals, respectively. In each case, the base model was determined with an AIC procedure (see supplementary data S3). For P2, the modality ‘aviaries’ was taken as the reference class of the ‘housing’ variable, so the odd-ratio gives the increased risk of MRSA carriage in individuals living in enclosure compared to individuals living in aviaries. For P3, the odd-ratio was defined by the exponential of a hundred times the coefficient, so it gives the increase (more accurately the decrease since the OR is below one) in the risk of MRSA carriage in micromammals for each 100m increase in the distance to NHP installations.

Tested effect	Group of hosts	Prediction tested	Base model	Chi-square	Df	p-value	Coefficient [95% CI]	Odd-ratio [95% CI]
Housing (enclosure vs aviaries)	NHPs	P2	a*s+g +(l spe)	6.74	1	0.001	1.16 [0.41; 1.91]	3.19 [1.51; 6.75]
Catch distance	Microm.	P3	g	4.594	1	0.032	-0.0046 [-0.0042; -0.005]	0.63 [0.61; 0.66]



**Table 3:** Testing prediction P4 about the link between host spectrum (variable  $g$ ) and the risk of MRSA carriage. The base model was determined using the procedure presented in the Methods section (see supplementary data for calculation details). In NHPs, generalist strains were divided into two groups: those also infecting humans (together with bats and/or micromammals or not, group GH) and the others in which humans were not found as infected hosts (group GnH). In bats and micromammals, two groups were also separated: strains infecting only the other antibiotic unexposed species (micromammals and bats, respectively, group GnE) and the others also infecting humans and/or NHPs (exposed species, group GE). In all groups of species, specialist strains are used as the reference class, so the odd-ratio quantifies how the risk of presenting resistance to methicillin is increased in generalist strains compared to specialist strains. The abbreviation ‘Microm.’ stands for micromammals.

Host	Base model	Strain	Estimate	Std. Error	z-value	p-value	Odds ratio [95% CI]
<b>Humans</b>	H0	Generalist	0.44	1.14	0.38	0.69	1.55 [-1.79; 2.67]
	a+s+spe	GH	0.92	0.46	2.01	0.04	2.5 [1.02; 6.17]
		GnH	0.85	0.39	2.19	0.03	2.33 [1.09; 5]
<b>NHPs</b>		Generalist (any)	0.87	0.33	2.63	0.08	2.38 [1.26; 4.53]
	H0	GE	1.93	0.73	2.61	0.009	6.89 [1.65; 28.78]
		GnE	$-\infty$	NA	NA	0.99	NA
<b>Bats</b>		Generalist (any)	1.79	0.73	2.45	0.01	5.98 [1.43; 25.03]
	H0	GE	2.40	0.67	3.60	0.003	11.02 [2.97; 40.85]
		GnE	NA	NA	NA	NA	NA
<b>Microm.</b>		Generalist (any)	1.81	0.65	2.76	0.005	6.11 [1.72; 21.76]

## Supplementary data

**Table S1:** Generalist *spa* types

*Spa* type shared between different hosts and classified according to antibiotic exposed (Humans and NHPs) and unexposed species (micromammals and bats). Each *S. aureus spa* type is indicated with associated ST (Specific Sequence type), *spa* cluster analysis (CC= clonal complex), the *spa* profile (SSR= Short Sequence Repeats), the number of strains per species infected and the number of MRSA strains among them in brackets. In bold, the new strains described in this study and recorded in sparidom (<http://spa.ridom.de/spatypes.shtml>). *Spa* types with less 5 repeats are not analyzed. The abbreviation “Microm.” stands for micromammals.

<i>Spa</i> CC	<i>Spa</i> type	Associated ST	SSR profile	Hosts			Unexposed species			Total	
				Exposed species		Human		Microm			Bats
				NHPs							
2546	t2546	none	04-12-17-20-17-12-17-17	1(0)					4(1)	5(1)	
	t056	ST101	04-20-12-17-20-17-12-17-17	6(3)			9(5)			15(8)	
	t537	none	07-23-12-21-12-20-17-12-12	9(1)	1(0)					10(1)	
Singleton	<b>t15942</b>	none	<b>08-13-17-20-17-25-17-13</b>	17(12)					5(3)	22(15)	
	<b>t15969</b>	none	<b>388-12-17-12-17-12-17-174-16-13</b>				11(0)		1(0)	12(0)	
	t5017	none	08-34-02-43-34-43-16-02-17-83	13(4)			10(6)		3(1)	26(11)	
	t189	ST188	07-23-12-21-17-34	20(8)	3(3)					23(11)	
	t939	none	04-16-34-12-34-12		3(3)		15(6)		4(2)	22(11)	
No founder	t1458	none	121-21-17-17-23-24		1(0)		10(0)		4(1)	15(1)	
	t084	ST15-ST18	07-23-12-34-34-12-12-23-02-12-23	18(3)			1(0)			19(3)	
	t355	ST152/377/1633	07-56-12-17-16-16-33-31-57-12	7(4)	4(3)				2(1)	13(8)	
Not analysed	t1781	none	26-16-16				12(0)		1(0)	13(0)	
	t5725	ST72	121	2(1)					1(1)	3(2)	
Total				93(36)	12(9)		68(17)		25(10)	<b>198(72)</b>	

**Table S2:** Specialist *spa* type

*Spa* type isolated from one species only and classified according to antibiotic exposed (Humans and NHPs) and unexposed species (micromammals and bats). Each *S. aureus spa* type is indicated with associated ST (ST= Specific Sequence type), *spa* cluster analysis (CC= clonal complex), the *spa* profile (SSR= Short Sequence Repeats), the number of strains per infected species and the number of MRSA strains among them in brackets. In bold, the new strains described in this study and recorded in sparidom (<http://spa.ridom.de/spatypes.shtml>). *Spa* types with less 5 repeats are not analyzed. The abbreviation ‘microm.’ stands for micromammals.

Exposure to antibiotics	Characteristic of <i>spa</i> type				Number	Hosts
	Spa CC	<i>Spa</i> type	Associated ST	SSR profile		
Exposed species	15941	t13661	none	26-17-17-02-17-12-12-17-16-16	12(0)	NHP
		<b>t15961</b>	-	<b>26-17-17-02-17-12-12-16</b>	18(3)	NHP
		<b>t15941</b>	-	<b>26-17-17-02-17-12-12-16-16</b>	17(7)	NHP
	Singletons	t122	-	08-16-02-16-02-25-17-24-24	1(1)	Human
		t148	-	07-23-12-21-12-17-20-17-12-12-17	10(4)	NHP
		t186	ST88	07-12-21-17-13-13-34-34-33-34	3(2)	Human
		t359	-	07-23-12-21-17-34-34-33-34	10(1)	NHP
		t5132	-	08-16-02-16-13-13-17-34-16-13	1(0)	Human
		t7368	-	03-22-31-34-17	13(5)	NHP
		t6980	-	26-16-34-33-13	1(0)	NHP
<b>t15940</b>	-	<b>121-12-12-34-22</b>	30(3)	NHP		
No founder	t318	ST30	15-12-16-16-02-16-02-25-17-24	13(2)	NHP	
	t1848	-	15-12-17-16-02-16-02-25-17	1(0)	Human	
	<b>t16031</b>	-	<b>121-34-22-31-34-17-34-17</b>	2(1)	NHP	
	t6940	-	11-10-17-34-22-25	1(0)	NHP	
	t1476	-	11-10-17-34-24-34-22-25	6(1)	NHP	
	<b>t15943</b>	-	<b>121-34-34-22-31-34-17-34-17</b>	34(16)	NHP	
Not analysed	t605	-	07-23	1(0)	NHP	
Total Exposed	2546			<b>174(46)</b>		
				1(1)	bat	

	t094	-		07-23-12-34-34-12-12-23	6(0)	microm
	t3464	-		07-23-02-12-23-02-02-34	9(0)	microm
	t15195	-		388-76-76-12-687-174-16-16-17	1(0)	bat
Singletons	t15962	-		121-16-25-16-12-16-13-25-17	1(0)	bat
	t15963	-		388-12-174-174-16-13-16-13	1(0)	bat
	t15964	-		391-76-76-12-76-174-16-337-17	3(0)	bat
	t15967	-		26-349-34-23-96-58-34-82-82-24	4(0)	bat
	t15973	-		26-17-20-17-17-16-16	9(0)	microm
	t15968	-		07-56-12-17-16-16-33-31-414-12	6(0)	bat
Unexposed species	t002	ST5 ; ST231		26-23-17-34-17-20-17-12-17-16	15(1)	microm
	t2173	-		07-23-17-13-17-20-17-12-17-16	1(0)	microm
No founder	t12895	-		621-23-12-34-34-12-12-23-02-12-23	5(1)	bat
	t586	-		26-16	7(1)	microm
	t693	-		7	4(0)	microm
Not analysed	t779	-		8	4(1)	bat
	t15972	-		08-21-21-33	7(1)	microm
	t15966	-		26-12-25-17	4(0)	bat
Total Unexposed					<b>88(6)</b>	
All					<b>262(52)</b>	

**Table S3:** Generalized linear model (GLM) tested to explain observed variation in MRSA carriage in hosts. The conditions of the models are described in Methods section. The model with the smallest AIC was retained to test our predictions (in yellow for P2 and P3, in green for P4). Correcting cofactors *a* (age), *s* (sex), *sw* (seniority at work), *d* (distance), *g* (generalists or specialists of strains), *spe* (species).

Hosts	GLM	AIC
Humans	H0	31.01 (P4)*
	<i>s</i>	32.77
	<i>sw</i>	32.86
	<i>s+sw</i>	34.71
	<i>s*sw</i>	35.74
Micromammals	<i>d+g</i>	101.50
	<i>s+d+g</i>	103.45
	<i>g</i>	104.09 (P3)
	<i>d+spe+g</i>	105.31
	<i>s+g</i>	106.08
	<i>esp+g</i>	106.39
	<i>s+d+spe+g</i>	107.13
	<i>a+s+d+g</i>	107.22
	<i>a+g</i>	108.02
	<i>a*s+d+g</i>	109.01
	<i>a+s+d+esp+g</i>	109.54
	<i>a+s+g</i>	110.00
	<i>a*s+g</i>	111.93
	<i>a*s+d+esp+g</i>	111.98
	H0	480.84 (P4)
	<i>s</i>	482.29
	<i>d</i>	482.77
	<i>a</i>	483.52
	<i>s+d</i>	484.19
	<i>esp</i>	484.75
	<i>a+s</i>	485.07
	<i>a+d</i>	485.50
	<i>s+esp</i>	486.50
	<i>d+esp</i>	486.55
	<i>a+s+d</i>	487.02
	<i>a*s</i>	487.34
	<i>a+esp</i>	487.84
	<i>s+d+spe</i>	488.27
	<i>a*s+d</i>	489.25
	<i>a+s+esp</i>	489.63

	$a+s+d+esp$	491.48
	$a*s+esp$	492.19
	$a*s+d+esp$	493.98
Bats	H0	63.723(P4)
	$s$	64.66
	$a$	67.21
	$a*s$	68.22
	$a+s$	68.25
	$spe$	68.68
	$s+spe$	69.22
	$a*s+spe$	71.83
	$a+spe$	72.20
	$a+s+spe$	72.82
	NHPs	$a+s+spe+g$
$a*s+g$		265.39 (P2)
$s+spe+g$		265.49
$a+spe+g$		265.87
$a+g$		267.17
<b><math>spe+g</math></b>		<b>267.57</b>
$s+g$		269.52
$g$		271.53
$a+s+spe$		276.76 (P4)
$a+spe$		278.70
$a+s$		278.79
$a*s$		278.85
$a$		279.58
$s+spe$		280.14
$spe$		281.77
$s$		283.07
H0		284.06

**Table S4:** General Linear Models (GLM) for P4 prediction in different host groups comparing generalist and specialist MRSA strains. GE: generalist strains also infecting humans and/or NHPs, i.e., at least one of the two species that are directly exposed to antibiotics; GnE: generalist strains only infecting untreated species to antibiotics (micromammals and bats); GH: generalist strains infecting humans (whether infecting or not they were also found in bats and/or micromammals); GnH: generalist strains infecting other species but not humans. The abbreviation ‘microm.’ stands for micromammals.

Hosts	Base model	variables	Estimate	Std. Error	z value	p-value
Humans	H0	g	0.44	1.14	0.38	0.69
Microm.	H0	g : GE	2.40	0.67	3.60	0.0003*
		g : GnE	-∞	NA	NA	0.999
Bats	H0	g : GE	1.93	0.73	2.61	0.009*
		g : GnE	NA	NA	NA	NA
NHPs	<i>a+s+spe</i>	age : adolescent	0.30	0.42	0.70	0.49
		age : juvenile	-1.48	0.80	-1.83	0.07
		sex : male	0.63	0.33	1.92	0.05
		species : <i>C. cephus</i>	-15.41	2399.54	-0.006	-0.99
		species : <i>Pan t. troglodytes</i>	-1.20	0.52	-2.32	0.02 *
		species : <i>Gorilla g. gorilla</i>	-15.90	1085.60	-0.015	0.99
		species : <i>Macaca sp.</i>	-1.13	0.51	-2.23	0.03 *
		species : <i>C. solatus</i>	-0.06	1.26	-0.05	0.95
		species : <i>Ch. aethiops</i>	-15.41	2399.60	-0.006	0.99
		g : GH	0.92	0.46	2.01	0.04*
g : GnH	0.85	0.39	2.19	0.03*		



### Chapitre 3 : Diversité, circulation et persistance de paramyxovirus dans les sanctuaires et aires de conservation de PNHs



Prélèvements sanguin d'un chimpanzé (*Pan troglodytes. troglodytes* )lors d'un contrôle sanitaire au Parc de la Lékédi (Photo CDP, 2013).

## RÉSUMÉ

### Contexte

Les paramyxovirus sont connus pour infecter une gamme diversifiée d'hôtes comprenant les chauves-souris (**Drexler et al., 2009**), les rongeurs (**Jun et al., 1977**) ou les primates (**Palacios et al., 2011**). Leur transmission se fait essentiellement par contact direct (inhalation des sécrétions rhinopharyngées) ou indirect par l'intermédiaire de produits souillés (**Plowright et al., 2008**). Cette transmission est favorisée par la promiscuité et la fréquence des contacts à risque entre des différents hôtes vertébrés. De ce fait, on s'attend à ce que les conditions de promiscuité et les contacts répétés entre l'Homme et les PNHs dans les environnements tels que les centres de primatologie ou encore les sanctuaires favorisent la circulation, les échanges et la persistance des paramyxovirus dans ces environnements confinés. Par ailleurs, à l'exemple des parcs de Lékédi, du programme de protection gorille et du Centre de Primatologie du CIRMF au Gabon, les programmes de conservation de primates sont établis dans des milieux où l'Homme cohabite avec une faune (PNHs, micromammifères, oiseaux, chauves-souris et reptiles). Cependant, les études portant sur le risque zoonotique se sont souvent limitées à l'interaction Homme vs PNHs (**Palacios et al., 2011; Spelman et al., 2013**) et à défaut, elles se sont focalisées à la caractérisation du virus chez l'hôte porteur (**Drexler et al., 2012; Maganga et al., 2014a**). Cette vision cloisonnée minimise une fois de plus le spectre d'hôtes et ne propose qu'un regard incomplet sur les conditions de circulation et de persistance des agents infectieux. C'est pourquoi, pour comprendre le patron de circulation et la persistance des paramyxovirus dans ces programmes de conservation dédiés aux PNHs, nous avons échantillonné quatre groupes taxonomiques d'espèces hôtes potentielles (Homme, PNHs, Micromammifères [rongeurs, musaraignes] et chauves-souris) qui cohabitent sur ces sites.

### Résultats

Nous avons analysé 1884 échantillons repartis en deux types : 1323 prélèvements de matières fécales et fèces (85 prélèvements humains, 677 PNHs, 141 chauves-souris, 420 rongeurs et musaraignes) et 561 prélèvements d'organes (rates, intestins et foie) issus des 141 chauves-souris et des 420 rongeurs et musaraignes (micromammifères). Aucun échantillon testé ne s'est révélé positif.

## **Conclusion**

Sachant que les êtres humains et PNHs (**Palacios et al., 2011; Spelman et al., 2013**), les chauves-souris (**Drexler et al., 2012; Maganga et al., 2014a**) ou les rongeurs (**Drexler et al., 2012; Jun et al., 1977**) sont sensibles aux paramyxovirus et que des infections aux paramyxovirus ont déjà été rapportées au Gabon dans la population de chauves-souris (**Maganga et al., 2014a**), l'amplification de l'ARN viral dans notre communauté était attendue. Ce résultat était d'autant plus espéré que les paramyxovirus sont capables de persister dans les organes tels que la rate ou les intestins (**Drexler et al., 2012**). Même si la sérologie ne répondait pas à notre objectif de retracer l'histoire d'infection intra et inter espèces des paramyxovirus (qui nécessite de travailler avec les séquences), elle aurait permis de confirmer ou non la circulation de paramyxovirus dans ces sites.

**Article 3: No evidence of paramyxoviruses circulating in Non-Human Primates sanctuaries and Primatology center in Gabon.**

Soumis à **Virology Journal**

# Virology Journal

## No evidence of paramyxoviruses circulating in non-human primate sanctuaries and a primatology center in Gabon.

--Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>												
<b>Full Title:</b>	No evidence of paramyxoviruses circulating in non-human primate sanctuaries and a primatology center in Gabon.											
<b>Article Type:</b>	Short report											
<b>Section/Category:</b>	Other viruses (e.g. pox, papilloma, parvo, reoviridae)											
<b>Funding Information:</b>	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 60%;">Centre International de Recherches Médicales de Franceville</td> <td>Dr veterinary barthelemy ngoubangoye</td> </tr> <tr> <td>Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS, France),</td> <td>Dr Franck Prugnonle</td> </tr> <tr> <td>the LabEx Ecofect of Lyon University. (ANR-11-LABX-0048 and ANR-11-IDEX-007)</td> <td>Dr Dominique Pontier</td> </tr> </table>	Centre International de Recherches Médicales de Franceville	Dr veterinary barthelemy ngoubangoye	Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS, France),	Dr Franck Prugnonle	the LabEx Ecofect of Lyon University. (ANR-11-LABX-0048 and ANR-11-IDEX-007)	Dr Dominique Pontier					
Centre International de Recherches Médicales de Franceville	Dr veterinary barthelemy ngoubangoye											
Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS, France),	Dr Franck Prugnonle											
the LabEx Ecofect of Lyon University. (ANR-11-LABX-0048 and ANR-11-IDEX-007)	Dr Dominique Pontier											
<b>Abstract:</b>	<p>The viruses of the Paramyxoviridae family are known to infect a wide range of animals, including primates, birds, rodents, carnivores, bats, ungulates, snakes, cetaceans and humans. This study aims to investigate the circulation of paramyxoviruses in five potential host species groups (humans, non-human primates, rodents, shrews, and bats) living in the same environments in three conservation programs dedicated to non-human primates, namely the Lékédi park, the primatology center of the International Center for Medical Research of Franceville and the Gorilla Protection Program, located in Gabon. We tested 35 workers, 343 NHPs (8 species), 141 bats (4 species), 420 rodents (5 species) and 10 shrews, sampled between 2013 and 2014. Faecal and organ samples were analyzed using three heminested reverse transcription-PCR (hnRT-PCR). All the 1884 samples tested were negative for PV detection. Further studies spanning a greater period of time are needed to investigate PV circulation patterns in these conservation programs.</p>											
<b>Corresponding Author:</b>	barthelemy ngoubangoye, PhD student Centre International de Recherches Medicales de Franceville GABON											
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>												
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	Centre International de Recherches Medicales de Franceville											
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>												
<b>First Author:</b>	barthelemy ngoubangoye, PhD student											
<b>First Author Secondary Information:</b>												
<b>Order of Authors:</b>	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr><td>barthelemy ngoubangoye, PhD student</td></tr> <tr><td>Gael Darren Maganga, PhD</td></tr> <tr><td>Larson Boundenga, PhD</td></tr> <tr><td>Thierry Audrey Tsoumbou, veterinary</td></tr> <tr><td>virginie Rougeron, HDR</td></tr> <tr><td>Illich Manfred Mombo, PhD</td></tr> <tr><td>Nancy Diamella Moukodoum, Msc</td></tr> <tr><td>Eric Maurice Leroy, DR1</td></tr> <tr><td>David Fouchet, HDR</td></tr> <tr><td>Franck Prugnonle, DR2</td></tr> <tr><td>Francois Renaud, DRCE</td></tr> </table>	barthelemy ngoubangoye, PhD student	Gael Darren Maganga, PhD	Larson Boundenga, PhD	Thierry Audrey Tsoumbou, veterinary	virginie Rougeron, HDR	Illich Manfred Mombo, PhD	Nancy Diamella Moukodoum, Msc	Eric Maurice Leroy, DR1	David Fouchet, HDR	Franck Prugnonle, DR2	Francois Renaud, DRCE
barthelemy ngoubangoye, PhD student												
Gael Darren Maganga, PhD												
Larson Boundenga, PhD												
Thierry Audrey Tsoumbou, veterinary												
virginie Rougeron, HDR												
Illich Manfred Mombo, PhD												
Nancy Diamella Moukodoum, Msc												
Eric Maurice Leroy, DR1												
David Fouchet, HDR												
Franck Prugnonle, DR2												
Francois Renaud, DRCE												

	Dominique Pontier, Pr
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	

[Click here to view linked References](#)

## **No evidence of paramyxoviruses circulating in non-human primate sanctuaries and a primatology center in Gabon.**

1  
2  
3  
4  
5  
6 Barthélémy Ngoubangoye<sup>1,2,3\*</sup>,

7  
8  
9 Email: [genistha@hotmail.com](mailto:genistha@hotmail.com)

10  
11 Gael Darren Maganga<sup>1,4</sup>,

12  
13 Email: [gael\\_maganga@yahoo.fr](mailto:gael_maganga@yahoo.fr)

14  
15  
16 Larson Boundenga<sup>1</sup>,

17  
18 Email: [boundenga@gmail.com](mailto:boundenga@gmail.com)

19  
20  
21 Thierry-Audrey Tsoumbou<sup>1</sup>,

22  
23 Email: [thierrytsoumbou@outlook.fr](mailto:thierrytsoumbou@outlook.fr)

24  
25  
26 Virginie Rougeron<sup>1,5</sup>,

27  
28 Email: [virginie.rougeron@ird.fr](mailto:virginie.rougeron@ird.fr)

29  
30  
31 Illich Manfred Mombo<sup>1</sup>,

32  
33 [mombo.illich@gmail.com](mailto:mombo.illich@gmail.com)

34  
35  
36 Nancy-Diamella Moukodoum<sup>1</sup>,

37  
38 [nancydiamella@gmail.com](mailto:nancydiamella@gmail.com)

39  
40  
41 Eric Maurice Leroy<sup>1</sup>,

42  
43 Email: [Eric.leroy@ird.fr](mailto:Eric.leroy@ird.fr)

44  
45  
46 David Fouchet<sup>2,3</sup>,

47  
48 Email: [fouchet@biomserv.univ-lyon1.fr](mailto:fouchet@biomserv.univ-lyon1.fr)

49  
50  
51 Franck Prugnolle<sup>1,5</sup>,

52  
53 Email: [franck.prugnolle@ird.fr](mailto:franck.prugnolle@ird.fr)

54  
55  
56 François Renaud<sup>5#</sup>,

57  
58 Email: [francois.renaud@ird.fr](mailto:francois.renaud@ird.fr)

59  
60  
61 Dominique Pontier<sup>2, 3#</sup>



Email: [dominique.pontier@univ-lyon1.fr](mailto:dominique.pontier@univ-lyon1.fr)

<sup>1</sup>Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF), BP 769 Franceville,  
Gabon

<sup>2</sup>Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, UMR5558, Université Lyon 1, France

<sup>3</sup>LabEx ECOFECT, Eco-evolutionary Dynamics of Infectious Diseases, University of Lyon,  
France

<sup>4</sup>Université des Sciences et Techniques de Masuku (USTM), Institut National Supérieur  
d'Agronomie et de Biotechnologies. BP 913 Franceville

<sup>5</sup>Laboratoire MIVEGEC; UMR-CNRS 5290-IRD 224, IRD Montpellier, France

**Corresponding author:**

\*Barthélémy Ngoubangoye: [genistha@hotmail.com](mailto:genistha@hotmail.com)

#These authors contributed equally and supervised this work

1 **Abstract**

2 The viruses of the *Paramyxoviridae* family are known to infect a wide range of animals,  
3 including primates, birds, rodents, carnivores, bats, ungulates, snakes, cetaceans and humans.  
4

5 This study aims to investigate the circulation of paramyxoviruses in five potential host species  
6 groups (humans, non-human primates, rodents, shrews, and bats) living in the same  
7 environments in three conservation programs dedicated to non-human primates, namely the  
8 Lékédi park, the primatology center of the International Center for Medical Research of  
9 Franceville and the Gorilla Protection Program, located in Gabon. We tested 35 workers, 343  
10 NHPs (8 species), 141 bats (4 species), 420 rodents (5 species) and 10 shrews, sampled  
11 between 2013 and 2014. Faecal and organ samples were analyzed using three heminested  
12 reverse transcription-PCR (hnRT-PCR). All the 1884 samples tested were negative for PV  
13 detection. Further studies spanning a greater period of time are needed to investigate PV  
14 circulation patterns in these conservation programs.  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30

31 **Keywords:** bats, rodents, shrews, humans, confined environment, sympatric species  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## Introduction

The *Paramyxoviridae* family is one of the six families that form the *Mononegavirales* order with the *Filoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Bornaviridae*, *Pneumoviridae* and three new families recently added in 2016, *Mymonaviridae*, *Nyamiviridae* and *Sunviridae* [1]. Paramyxoviruses (PV) are known to infect a diverse range of hosts including bats [2, 3], rodents [4, 5], primates [6], snakes, lizards and tortoises [7]. They are transmitted either directly *via* inhalation of nasopharyngeal secretions, or indirectly through environments contaminated with faeces, urine or saliva [8]. Frequency of at-risk contact and proximity between individuals/species enhance the spread of parasites which are directly transmitted [9, 10]. In primate conservation programs such as the *Parc de la Lékédi* (LEK; Lékédi parc), the *Centre de Primatologie* (CDP; Primatology Center) of the *Centre International de Recherches Médicales de Franceville* (CIRMF; International Center for Medical Research of Franceville) and the *Projet de Protection des Gorilles* (PPG; Gorilla Protection Program), located in Gabon, the proximity and repeated contacts between humans and non-human primates (NHPs) are very common. Some cases of zoonotic transmission of paramyxoviruses have already been reported, particularly through the close contact of humans with infected animals (horses for the Hendra virus and pigs for the Nipah virus) [11].

In the CIRMF's primatology center, frugivorous bats, rodents and shrews live in sympatry and feed on food leftovers in the feeding areas of NHPs. Frugivorous bats such as *Rousettus aegyptiacus* and *Eidolon helvum* have already been shown to host a wide diversity of paramyxoviruses including *Henipa*-, *Morbilli*- and *Rubulaviruses*, some of these being closely related to the mumps virus [2]. It is thus expected that such environments, in which different wildlife species mingle, attracted by shelter and food, could enhance the circulation of paramyxoviruses within and between different host species. In general, most studies on

1 wildlife are focused on parasitic exchanges between a single wild species and humans [6,  
2 12] or on parasite characterization in a single wild host species [3], thus neglecting the  
3 spectrum of hosts that could play a major role in parasite persistence.  
4  
5

6  
7 In this paper, we investigated five potential host species of paramyxoviruses (humans,  
8 NHPs, rodents, shrews, and bats) living in the same environments in order to evaluate the  
9 circulation of paramyxoviruses in conservation programs dedicated to primates.  
10  
11  
12  
13  
14  
15

## 16 17 **Methods**

### 18 19 *Sites and study population*

20 The sampling was conducted in 2013 and 2014 in three sites 100 km away on average and  
21 located in the province of Haut-Ogooué, east of Gabon: le *Centre de Primatologie* (1°37'59"  
22 N/13°34'59" E) of the CIRMF, the *Parc de la Lékédi* (1°28'0"S, 13°0'0"E), and the *Projet de*  
23 *Protection des Gorilles* (1°35'03.84"S, 14°15'56.73"E) located in the National Park of the  
24 Plateaux Batékés. After a quarantine stay in the CDP, some species of NHPs seized by the  
25 Ministry of Water and Forests from private owners are transferred to the LEK (chimpanzees  
26 and gorillas) or the PPG (gorillas).  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39

40 The CDP hosts more than 350 NHPs belonging to endemic species such as chimpanzees (*Pan*  
41 *troglydytes troglydytes*), gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*), mandrills (*Mandrillus sphinx*),  
42 *torquatus* (*Cercocebus torquatus*), *solatus* (*Cercopithecus solatus*), *cephus* (*C. cephus*), and  
43 imported species such as vervets (*Chlorocebus aethiops*) and macaques (*Macaca muletta* and  
44 *M. rhesus*). A team of 22 people (veterinary and caregivers) provides animal care, food and  
45 monitoring. NHPs live either in a forest enclosure (*Mandrillus sphinx*, *Cercopithecus solatus*  
46 and *C. cephus*) or in big aviaries (for the other NHPs species). Several animal species coexist  
47 with NHPs, including frugivorous bats, rodents and shrews, which feed during the night on  
48 food and banana leftovers in the feeding or storage areas of NHPs. The LEK hosts two groups  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1 of 15 chimpanzees each, and one group of 3 gorillas. A team of 7 people provides appropriate  
2 animal care, food and monitoring. Tourists also visit the park. The aim of the PPG is to  
3 reintroduce gorillas in their natural habitat. Animals came from European zoos or were seized  
4 by the Ministry of Water and Forests from private owners. In 2013 and 2014, the project was  
5 composed of two groups of gorillas, one group which was released, and a second group of 4  
6 individuals which was in a habituation program aimed at ecotourism. The sampling was  
7 carried out on this last group. Nine people work in this program and participate in the process  
8 of releasing of gorillas.  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21

## 22 ***Sampling***

23  
24 As recommended by the CNER, human samples were collected by the CIRMF's medical  
25 team and based on the workers' voluntary participation, and the NHP samples were  
26 collected by veterinaries following routine health procedures and during occasional  
27 veterinary consultations. Bats were captured using mist-nets (12x2.4 m) following  
28 recommendations in the study by Kunz TH and Parsons S [13], and rodents and shrews  
29 (micromammals) were captured with traps described by Duplantier J-M [14]. As described  
30 in previous studies [3; 5], the euthanasia of bats and micromammals was performed through  
31 the use of an inhalant anesthetic (halothane) and followed by an autopsy through which  
32 selected internal organs including spleen, intestine and liver were collected. Otherwise,  
33 faecal samples of NHPs were collected in sterile tubs by workers. Host species were  
34 identified by trained field biologists and all samples were stored at -80°C until analysis.  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53

## 54 **Molecular analysis**

55 The extraction of viral RNA was carried out on a BioRobot EZ1 automat (Qiagen,  
56 Germany). Samples were first processed in pools by species, up to four specimens per pool.  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

Then, for faecal specimens, ca. 100 mg of faeces of each individual were pooled and suspended in 500 µl of phosphate buffered saline (Biological Diagnostic Supplies Ltd, UK). For organ specimens, ca. 100 mg of spleen and liver of each individual were pooled and crushed as previously described [15]. Total RNA was then extracted using the EZ1 Virus Mini Kit 48 (Qiagen, Germany) and EZ1 RNA Tissue Mini Kit (Qiagen, Germany), respectively for faeces and organs, according to the guidelines of the manufacturer. The extraction quality and the RNA quantification were checked by spectrophotometry using the nanodrop (Thermo Fisher Scientific, USA).

The search for viral RNA of paramyxoviruses was conducted using three heminested reverse transcription-PCR (hnRT-PCR) assays targeting the polymerase gene as previously described [16].

## Results and Discussion

Based on the workers' voluntary participation, 35 people (19 in CDP, 7 in LEK and 9 in PPG) were included in this study and 343 NHPs were sampled between 2013 and 2014. In addition, 141 bats and 420 micromammals were captured. A total of 1884 samples were analyzed, including 1323 faecal samples from 85 healthy human volunteers, 677 from NHPs, 420 from micromammals, 141 from bats, and 561 organs (spleen and liver) from 420 micromammals and 141 bats (Table 1). No paramyxovirus RNA was detected in these samples.

This study conducted on 1884 samples is the first which considers diverse groups of mammals living in the same environment. Based on the previous studies reporting the identification of PVs in humans, NHPs [6, 12], bats [3] and rodents [4], the detection of PV RNA in the different host communities studied here was expected. Indeed, the promiscuity

1 between NHPs and humans [17-19] as well as the high density and strong interactions  
2 around food distribution points between micromammals and bats should increase the  
3 probability of viral transmission between wild species on the one hand, and occasionally  
4 between wild species and humans on the other hand [17, 20-22] and thus the persistence of  
5 PVs at the host community level. Furthermore, bats have the ability to maintain viruses in  
6 low concentrations in organs due to immunoregulatory genes [23, 24].

7  
8  
9  
10  
11  
12 In the Congo basin, Drexler *et al.* [5] reported the identification of the *Morbillivirus* which is  
13 closely related to the human mumps virus in frugivorous bats *Eidolon helvum* and  
14 *Hypsignathus monstrosus*. But the number of bats sampled here was very low (n=141)  
15 unlike the study of Drexler *et al.* (4954 bats from 11 countries over several years). In Gabon,  
16 no infection was reported in rodents by Drexler *et al.* [5]. PV infections were reported in  
17 bats (*Coleura afra*) by Maganga *et al.* [3] on a large sample size (985 bats from Gabon over  
18 two years). In our study no infection was reported in species *Epomops franqueti*, which is  
19 the most abundant species in our sample (75%). These results are similar with a previous  
20 study [5]. It could be explained by the fact that *Epomops franqueti* is a solitary species living  
21 in very small groups from 1 to 3 individuals [25] unlike *Eidolon helvum* and *Hypsignathus*  
22 *monstrosus* which live in large colonies sometimes comprised of several million animals  
23 [26], and in small colonies from 25 to 132 animals [27], respectively. Large social group  
24 sizes, intense social interactions, and high spatial mobility of many bat species are some key  
25 attributes that contribute to a greater occurrence of viruses in bats, unlike other groups of  
26 mammals [28]. More generally, virus circulation mainly depends on efficient transmission  
27 and sufficient host population size to persist over long periods [21, 23, 29]. Hence, PV  
28 infections could occur epidemically or endemically according to host species and region.  
29 Cases reported earlier in bats living in Gabon [3, 5] could correspond to an epidemic period.  
30 Besides the PV's circulation pattern and species ecology, the lack of detection of PVs in the  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65



1 studied hosts could also be due to a low viral load in the samples associated to the use of  
2 degenerate primers. Degenerate primers can indeed cause a drop in test sensitivity [30]. No  
3 data of PV in NHPs are available in Gabon. Only few studies reported mumps and measles  
4 viruses from the sera of patients [31, 32]. Thus, the nature of our biological samples (faecal)  
5 from humans and NHPs could also explain the lack of detection of PVs in these species.  
6  
7  
8  
9

## 10 11 12 13 14 **Conclusion**

15  
16  
17 Longitudinal studies of host communities are needed to identify patterns of spread and  
18 persistence of PVs, especially by investigating different periods of the year, if we consider  
19 that viral shedding in hosts could occur at specific periods or seasons (e.g. reproductive,  
20 gestation or birth periods).  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29

## 30 **Abbreviations**

31  
32  
33 NHPs: Non-Human Primates; CIRMF: Centre International de Recherches Médicales de  
34 Franceville ; PPG : Projet Protection Gorille ; CDP : Centre De Primatologie ; Lek : Parc de  
35 Lekedi ; PV : Paramyxoviruses ; hnRT-PCR : heminested reverse transcription- -Polymerase  
36 Chain Reaction ; RNA : Ribonucleic acid ; CNER : Comité National d’Ethique et de la  
37 Recherche du Gabon  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47

## 48 **Acknowledgements**

49  
50  
51 We thank all the people who were involved in blood sampling, the teams and veterinarians of  
52 the CDP, PPG and LEK for their technical assistance, and especially Eric Willaume and  
53 Martial Gboyou for their help in collecting data (sampling authorization: N°0020CNE/SG/P).  
54  
55  
56  
57  
58 We thank Heïdi Lançon for the English revision of the manuscript.  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## Funding

The study was funded by the *Centre International de Recherches Médicales de Franceville* (CIRMF, Gabon), the *Centre National de la Recherche Scientifique* (CNRS, France) and the *Institut de Recherche pour le Développement* (IRD, France). This work was performed within the framework of the LabEx Ecofect (ANR-11-LABX-0048) of Lyon University (ANR-11-IDEX-007) (BN, DF, DP).

## Authors' contributions

BN, TAT and GDM contributed to sample acquisition; BN and GDM, LB, DF and DP analyzed and interpreted the data; BN, GDM, LB, IMM, FP, VR, DF, EML, FR and DP wrote the manuscript; DP and FR supervised the work. All authors read and approved the final version of the manuscript.

## Competing interests

The authors have declared that they have no competing interests.

## Consent for publication

Not applicable.

## *Ethics approval and consent to participate*

All sampling was carried out with the authorization from the Gabonese National Ethics Committee (CNER) (Authorization N°PROT/0020/2013I /SG/CNE). Written consent for sample collection from each human (workers' voluntary participation) received approval by this Ethics Committee.

## References

1. Afonso CL, Amarasinghe GK, Bányai K, Bào Y, Basler CF, Bavari S, Bejerman N, Blasdel KR, Briand F-X, Briese T: **Taxonomy of the order Mononegavirales**. *Arch. Virol* 2016, **161**:2351-2360.

2. Drexler JF, Corman VM, Gloza-Rausch F, Seebens A, Annan A, Ipsen A, Kruppa T, Müller MA, Kalko EK, Adu-Sarkodie Y: **Henipavirus RNA in African bats.** *PLoS one* 2009, **4**:e6367.
3. Maganga GD, Bourgarel M, Obame Nkoghe J, N'Dilimabaka N, Drosten C, Paupy C, Morand S, Drexler JF, Leroy EM: **Identification of an unclassified paramyxovirus in *Coleura afra*: a potential case of host specificity.** *PLoS One* 2014, **9**:e115588.
4. Jun M, Karabatsos N, Johnson R: **A new mouse paramyxovirus (J virus).** *Aust J Exp Biol Med Sci.* 1977, **55**:645-647.
5. Drexler JF, Corman VM, Muller MA, Maganga GD, Vallo P, Binger T, Gloza-Rausch F, Cottontail VM, Rasche A, Yordanov S, et al: **Bats host major mammalian paramyxoviruses.** *Nat Commun* 2012, **3**:796.
6. Palacios G, Lowenstine LJ, Cranfield MR, Gilardi KV, Spelman L, Lukasik-Braum M, Kinani J-F, Mudakikwa A, Nyirakaragire E, Bussetti AV: **Human metapneumovirus infection in wild mountain gorillas, Rwanda.** *Emerg Infect Dis* 2011, **17**:711-714.
7. Marschang RE, Papp T, Frost JW: **Comparison of paramyxovirus isolates from snakes, lizards and a tortoise.** *Virus Res* 2009, **144**:272-279.
8. Plowright RK, Field HE, Smith C, Divljan A, Palmer C, Tabor G, Daszak P, Foley JE: **Reproduction and nutritional stress are risk factors for Hendra virus infection in little red flying foxes (*Pteropus scapulatus*).** *Proc. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 2008, **275**:861-869.
9. Altizer S, Nunn CL, Thrall PH, Gittleman JL, Antonovics J, Cunningham AA, Cunningham AA, Dobson AP, Ezenwa V, Jones KE, et al: **Social Organization and Parasite Risk in Mammals: Integrating Theory and Empirical Studies.** *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 2003, **34**:517-547.
10. Smith MJ, Telfer S, Kallio ER, Burthe S, Cook AR, Lambin X, Begon M: **Host-pathogen time series data in wildlife support a transmission function between density and frequency dependence.** *Proce Natl Acad Sci U.S.A* 2009, **106**:7905-7909.
11. Luby SP, Gurley ES, Hossain MJ: **Transmission of human infection with Nipah virus.** *Clin Infect Dis* 2009, **49**:1743-1748.
12. Spelman LH, Gilardi KV, Lukasik-Braum M, Kinani J-F, Nyirakaragire E, Lowenstine LJ, Cranfield MR: **Respiratory disease in mountain gorillas (Gorilla**

- beringei beringei) in Rwanda, 1990-2010: outbreaks, clinical course, and medical management. *J Zoo Wildl Med* 2013, **44**:1027-1035.**
13. Kunz TH, Parsons S: **Ecological and Behavioral Methods for the Study of Bats [2nd.** Johns Hopkins University Press; 2009.
14. Duplantier J-M: **Les rongeurs myomorphes forestiers du nord-est du Gabon: structure du peuplement, démographie, domaines vitaux.** *Rev. Eco. (Terre Vie)*. 1989, **44**:329-346.
15. Maganga GD, Bourgarel M, Ella GE, Drexler JF, Gonzalez JP, Drosten C, Leroy EM: **Is Marburg virus enzootic in Gabon?** *J Infect Dis* 2011, **204 Suppl 3**:S800-803.
16. Tong S, Chern S-WW, Li Y, Pallansch MA, Anderson LJ: **Sensitive and broadly reactive reverse transcription-PCR assays to detect novel paramyxoviruses.** *J Clin Microbiol* 2008, **46**:2652-2658.
17. Keesing F, Belden LK, Daszak P, Dobson A, Harvell CD, Holt RD, Hudson P, Jolles A, Jones KE, Mitchell CE: **Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases.** *Nature* 2010, **468**:647-652.
18. Haydon DT, Cleaveland S, Taylor LH, Laurenson MK: **Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge.** *Emerg Infect Dis* 2002, **8**:1468-1473.
19. Wibbelt G, Moore MS, Schountz T, Voigt CC: **Emerging diseases in Chiroptera: why bats? :** *Biol Lett* 2010, **6**: 438–440
20. Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, Daszak P: **Global trends in emerging infectious diseases.** *Nature* 2008, **451**:990-993.
21. Bartlett MS: **Measles periodicity and community size.** *J Rl Stat Soc Series A (General)* 1957, **120**:48-70.
22. Greger M: **The human/animal interface: emergence and resurgence of zoonotic infectious diseases.** *Crit Rev Microbiology* 2007, **33**:243-299.
23. Black FL: **Infectious diseases in primitive societies.** *Science* 1975, **187**:515-518.
24. Horwitz MS: **Adenovirus immunoregulatory genes and their cellular targets.** *Virology* 2001, **279**:1-8.
25. Nowak RM: *Walker's bats of the world.* JHU Press; 1994.
26. DeFrees SL, Wilson DE: **Eidolon helvum.** *Mamm species* 1988:1-5.
27. Maganga GD, Bourgarel M, Vallo P, Dallo TD, Ngoagouni C, Drexler JF, Drosten C, Nakouné ER, Leroy EM, Morand S: **Bat distribution size or shape as determinant of viral richness in african bats.** *PLoS One* 2014, **9**:e100172.

- 1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65
28. Sulkin SE, Allen R: *Virus infections in bats*. 1974.
  29. Pomeroy LW, Bjørnstad ON, Holmes EC: **The evolutionary and epidemiological dynamics of the paramyxoviridae**. *J Mol Evol* 2008, **66**:98.
  30. Maganga GD, Verrier D, Zerbinati RM, Drosten C, Drexler JF, Leroy EM: **Molecular typing of PPRV strains detected during an outbreak in sheep and goats in south-eastern Gabon in 2011**. *Virology* 2013, **10**:82.
  31. Maganga GD, Iroungou BA, Bole-Feysot C, Leroy EM, Ndouo FST, Berthet N: **Complete genome sequence of mumps virus genotype G from a vaccinated child in Franceville, southeastern Gabon, in 2013**. *Genome announcements* 2014, **2**:e00972-00914.
  32. Kouomou DW, Nerrienet E, Mfoupouendoun J, Tene G, Whittle H, Wild TF: **Measles virus strains circulating in Central and West Africa: Geographical distribution of two B3 genotypes**. *J Med Virol* 2002, **68**:433-440.

**Table 1.** Overview of specimens collected in different sites and tested by hemi-nested PCR.

<b>Sampling site</b>	<b>Human</b>	<b>NHPs (N)</b>	<b>Micromammals</b>	<b>Bats</b>	<b>Nature of specimens</b>			
<b>CDP</b>	<i>Homo sapiens</i>	39	<i>Pan t. troglodytes</i>	87	<i>Lemniscomys striatus</i>	93	<i>Epomops franqueti</i>	106
			<i>Gorilla g. gorilla</i>	8	<i>Lophuromys nudicaudus</i>	52	<i>Hypsignathus monstrosus</i>	14
			<i>Mandrillus sphinx</i>	411	<i>Mus musculus</i> :	136	<i>Eidolon helvum</i>	12
			<i>Cercocebus torquatus</i>	2	<i>Praomys spp</i> :	89	<i>Rousettus aegyptiacus</i>	9
			<i>Cercopithecus solatus</i>	13	<i>Rattus rattus</i> :	40		
			<i>Cercopithecus cephus</i>	5	Shrews	10		
			<i>Chlorocebus aethiops</i>	9				
			<i>Macaca sp</i>	66				
<b>LEK</b>	<i>Homo sapiens</i>	33	<i>Pan t. troglodytes</i>	64				
			<i>Gorilla g. gorilla</i>	8				
<b>PPG</b>	<i>Homo sapiens</i>	13	<i>Gorilla g. gorilla</i>	4				
<b>Total</b>	<b>85</b>		<b>677</b>	<b>420</b>	<b>141</b>	<b>420</b>	<b>141</b>	<b>141</b>
<b>Total</b>			<i>Lemniscomys striatus</i>	93	<i>Epomops franqueti</i>	93	<i>Epomops franqueti</i>	106
			<i>Lophuromys nudicaudus</i>	52	<i>Hypsignathus monstrosus</i>	52	<i>Hypsignathus monstrosus</i>	14
			<i>Mus musculus</i>	136	<i>Eidolon helvum</i>	136	<i>Eidolon helvum</i>	12
			<i>Praomys spp</i>	89	<i>Rousettus aegyptiacus</i>	89	<i>Rousettus aegyptiacus</i>	9
			<i>Rattus rattus</i> :	40		40		
			Shrews	10		10		
<b>Total</b>			<b>420</b>	<b>420</b>	<b>141</b>	<b>420</b>	<b>141</b>	<b>141</b>

(\*) undetermined species



**Quatrième partie :  
Discussion Générale**



A travers nos trois (3) sites d'études (CDP, Lek et PPG), notre projet de thèse avait pour objectif général d'analyser et d'évaluer le risque sanitaire que représentent les sanctuaires et centre de primatologie pour la santé publique (humaine et vétérinaire) et pour la conservation. Pour mener ce projet, nous avons choisi trois modèles d'agents infectieux dont un agent procaryote à transmission direct par contact ou indirect par objet souillé à savoir le *Staphylocoque aureus*, deux modèles eucaryotes dont un agent pathogène à transmission vectorisée à savoir le genre *Plasmodium spp*, et un agent pathogène à transmission directe par contact ou par objet souillé (paramyxovirus). Au plan médical, ces trois modèles d'agents infectieux représentent ainsi une bactérie (*Staphylocoque aureus*), un parasite (*Plasmodium spp*) et un virus (les paramyxovirus). Les modèles hôtes sont les PNHs hébergés et le personnel qui y travaille. Au CDP, outre les PHNs et le personnel, nous avons échantillonné les micromammifères et chauves-souris qui interagissent de façon directe ou indirecte avec les premiers hôtes cités. Dans une communauté d'hôtes comme les sanctuaires au sein desquelles les humains interagissent avec les PNHs, les chauves-souris ou les rongeurs, l'étude de la diversité parasitaire et la compréhension des conditions de circulation et de persistance parasitaire passent par l'intégration des différents acteurs y compris ceux qui interagissent de façon indirecte (chauves-souris, micromammifères). La prise en compte des chauves-souris et micromammifères est d'autant plus justifiée du fait de leur sensibilité aux parasites étudiés et surtout que le *S. aureus* et les paramyxovirus peuvent se transmettre à partir des objets souillés, fèces ou urine (**Plowright et al., 2008; Schaumburg et al., 2012b**). En plus, les rongeurs et chauves-souris peuvent contribuer à la circulation et à la persistance parasitaire de par leurs fortes interactions sociales, leurs densités élevées ou leur mobilité spatiale (**Jones et al., 2008; Keesing et al., 2010**).

Dans cette quatrième partie de notre manuscrit de thèse, nous discuterons des prévalences et diversités parasitaires, du franchissement de la barrière d'espèce, du risque infectieux zoonotique et du risque pour la conservation liés respectivement *au plasmodium spp* et *staphylococcus aureus*. Nous discuterons ensuite de l'absence d'infection à paramyxovirus avant de présenter une conclusion intégrant un ensemble de recommandations dans le cadre de la gestion et de la politique médicale dans les sanctuaires et centres de primatologies.

Pour permettre une lecture plus aisée de la discussion, nous avons présenté dans le tableau 9 une synthèse non exhaustive des principaux résultats obtenus dans notre étude.

**Tableau 8:** Récapitulatifs des principaux résultats obtenus dans notre travail de thèse

Esp. Parasitaires	Espèces hôtes			
	Homme	PNHs	Micromammifères	Chauves-souris
<i>Plasmodium Spp</i>	<p><b>Prévalence</b> 17,65% (15/85)</p> <p><b>Diver. parasit : 1</b> (<i>P.falciparum</i>)</p> <p><b>infection inattendue: 0</b></p>	<p><b>Chimpanzés</b> : 31.79% (48/151) ; infection inattendue : 3 <i>P.reichenowi</i> ; <i>P.gaboni</i> ; <b><i>P. praefalciparum</i></b> * ; <b><i>P.adleri</i></b>* <i>P.falciparum</i> * ; <i>P.vivax-like</i> ; <i>P.malariae-like</i></p> <p><b>Gorilles</b> : <b>69,57%</b> (16/23) ; infection inattendue : 1 <i>P.reichenowi</i>* ; <i>P.praefalciparum</i> ; <i>P.blacklocki</i> ; <i>P.adleri</i>, <i>P.vivax-like</i> ; <i>P.malariae-like</i></p> <p><b>Mandrills</b> : <b>0,48%</b> (2/420) ; infection inattendue : 1 <i>P.falciparum</i> * ; <i>P.gonderi</i></p> <p><b>Autres petits singes</b> : <b>0,86%</b> (1/115) ; infection inattendue : 0 <i>Hepaticystis sp.</i></p>	<p><b>Prévalence :</b> 0,23% (1/423)</p> <p><b>Diver. Parasit : 1</b> <i>P. vinckei</i></p> <p><b>infection inattendue: 0</b></p>	<p><b>Prévalence :</b> 24,72% (47/190)</p> <p><b>Diver. Parasit. : 1</b> (genre <i>Hepaticystis</i>)</p> <p><b>infection inattendue: 0</b></p>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<p><b>Nuc</b> : 46,15% (18/39) <b>MecA</b>: 66,67% (12/18)</p> <p><b>Spa type majoritaire:</b> t355 (ST152/377/1633): 22,22% (4/18)</p> <p><b>souches généralistes :</b> 33,3% (6/18)</p> <p><b>souches spécialistes :</b> 66,7 % (12/18)</p>	<p><b>Nuc</b> : 46,55 (270/580) <b>MecA</b>: 29,62 (80/270)</p> <p><b>Spa type majoritaire :</b> t15943<sup>#</sup> (ST= na): 13,02% (34/261)</p> <p><b>souches généralistes :</b> 65,51 % (171/261)</p> <p><b>souches spécialistes :</b> 34,48 % (90/261)</p>	<p><b>Nuc</b> : 30,47% (128/420) <b>MecA</b>: 15,62% (20/128)</p> <p><b>Spa type majoritaire:</b> t002 (ST5 /231) : 11,90% (15/126)</p> <p><b>souches généralistes</b> 53,9% (68/126)</p> <p><b>souches spécialistes:</b> 46,1% (58/126)</p>	<p><b>Nuc</b> : 41,13% (58/141) <b>MecA</b>: 22,41% (13/58)</p> <p><b>Spa type majoritaire:</b> t15968<sup>#</sup> (ST= na) : 10,9 (6/55)</p> <p><b>souches généralistes :</b> 45,45% (25/55)</p> <p><b>souches spécialistes:</b> 54,55% (30/55)</p>
Paramyxovirus	Aucune infection	Aucune infection	Aucune infection	Aucune infection

#Souche nouvellement décrite dans cette étude ; (ST =na) : équivalent ST non appliqué (nouvelle souche) ; \*infection inattendue chez cette espèce

## **I. PLASMODIUM SPP**

### **I.1 PRÉVALENCE ET DIVERSITÉ PARASITAIRE**

Le développement des outils moléculaires couplé à l'essor de la phylogénie permettent une exploration poussée de la diversité parasitaire, ces outils étant plus discriminants. Comme détaillée dans l'article 1 (tableau 2), l'infection plasmodiale chez les PNHs se caractérisent par de fortes prévalences chez les grands primates (69,5 % soit 16/23 échantillons de gorilles analysés et 31,79% soit 48/151 échantillons de chimpanzés analysés ) et une faible prévalence chez les petits singes (0.48% soit 2/420 échantillons de mandrills et 0.86% soit 1/115 pour les échantillons des autres petits singes, *Cercocebus torquatus*, *Chlorocebus aethiops*, *Macaca fascicularis* , *Macaca mulatta*, *Cercopithecus solatus*, *Cercopithecus cephus*, *C. nictitans*). Les données de cette étude confirment la sensibilité des PNHs aux infections plasmodiales. Cependant, les prévalences dans notre étude semblent toutefois plus élevées que celles rapportées dans la littérature pour les mêmes espèces. A partir d'échantillons collectés dans 24 sites au Gabon, **Boundenga et al. (2015)** obtiennent des prévalences de 21,3% (100/470) chez les gorilles et de 15,4% (122/791) chez les chimpanzés. Des taux d'infection similaires ont été rapportés par **Prugnolle et al. (2010)**, avec 17,6% (22/125) chez les chimpanzés et 20,23% (17/84) chez les gorilles. Les petits singes africains semblent moins infectés que les Grands Singes. Les études sur les populations de petits singes montrent qu'ils sont surtout infectés par les parasites du sous genre *plasmodium* mais avec des faibles prévalences. **Prugnolle et al. (2011b)** rapportent une prévalence de 3,5 % (12/334) chez les petits singes infectés par les *Hemosporidae* (*plasmodium spp* et *Hepatocystis*) et un (1) seul Mandrill était infecté par *plasmodium gonderi* sur une cohorte de 212 échantillons.

Dans la population humaine étudiée, la prévalence de 17.65% (15/85) est en dessous de valeurs reportées dans des études utilisant des méthodes moléculaires. En effet, le Gabon étant une zone endémique du paludisme (**WHO, 2015**), le portage est endémique et souvent subclinique (asymptomatique) (**Dal-Bianco et al., 2007**). Ainsi, les outils moléculaires permettent de diagnostiquer ces cas qui apparaîtraient négatif en frottis sanguin ou tests rapides de diagnostic. A titre d'exemple, on peut citer l'étude de (**Dal-Bianco et al., 2007**) qui rapporte dans la même cohorte, une prévalence de 27% en utilisant des tests rapides et de 52 % par PCR. Cette tendance a été également confirmée par une autre étude menée en milieu scolaire dans une population asymptomatique avec 62,02 % (98/158) de positivité par PCR (**Mombo et al., 2003**) alors qu'une autre étude menée sur plusieurs localités au Gabon

rapporte une prévalence moyenne par frottis sanguin de 6,2% (269/4342) à l'échelle nationale avec un maximum à 37,2% (**Nkoghe et al., 2011**). Une des explications possibles de notre faible prévalence est la taille de notre échantillonnage qui n'est pas représentatif de la population locale gabonaise d'autant plus que certains prélèvements sont issus du personnel expatrié (vétérinaires, étudiants) venant des pays occidentaux non concernés par le paludisme. L'analyse de la diversité parasitaire révèle une forte diversité du sous genre *Laverania* avec 6 espèces rapportées dans cette étude (Article 1, table 3) sur les 8 connues à ce jour (Figure 13 ; Tableau 9) ; Seules les espèces *P. billcollinsi* et *P. billbrayi* n'ont pas été identifiées (Article 1, table 3). Dans le sous genre *Plasmodium*, trois espèces ont été décrites à savoir *P. malariae-like*, *P. vivax-like* et *P. gonderi*. (Article 1, figure 3 et Tableau 9). Comme précédemment, la diversité parasitaire est plus importante dans la population des Grands Singes que chez celle des petits singes ; Une observation concordante avec les études antérieures. En effet, les singes africains sont connus pour leur importante diversité parasitaire (**Liu et al., 2010; Prugnolle et al., 2010; Rayner et al., 2011**). Celle-ci est plus prononcée chez les Grands Singes avec 9 espèces plasmodiales en circulation au Gabon alors que les petits singes ne sont infectés que par deux espèces du sous genre *Plasmodium* à savoir *P. gonderi*, *P. sp DAJ* et par les *Hepatocystis spp* (**Boundenga et al., 2015; Prugnolle et al., 2011b**).

Les êtres humains ne sont infectés que par une seule espèce plasmodiales (*P. falciparum*) et un (1) seul rongeur est infecté (*P. Vinckei*). Aucune chauve-souris n'est infectée par une espèce de lignée plasmodiale ; elles sont infectées par les *Hépatocystis spp*. Ceci s'explique du fait que des cinq espèces parasitaires infectant l'homme (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi*.) ,*P. falciparum* est responsable d'environ 90% des infections en Afrique sub-saharienne (**WHO, 2016**). La faible présence du *Plasmodium* dans la population de rongeurs (1 seul infecté sur 423 soit 0,23%) et l'absence d'infections dans la population de chauves-souris confirment le faible portage connu de ces espèces (**Schaer et al., 2013**). A l'opposée, l'infection de 24,73% de chauves-souris d'*Hépatocystis spp* confirme le tropisme de ce Hemosporidae pour les chauves-souris (**Schaer et al., 2013**).

## **I.2 TRANSMISSION INTER ESPÈCES**

L'un des résultats majeurs de notre étude est donc sans doute la description de *P. reichenowi* chez le gorille, de *P. falciparum* chez le mandrill et le Chimpanzé ou de *P. adleri* chez le

chimpanzé, autant d'espèces considérées comme fortement spécifiques de leurs hôtes et pourtant identifiées chez d'autres espèces hôtes. (Liu et al., 2010; Rayner et al., 2011; Wanaguru et al., 2013). En remettant ainsi en cause la spécificité d'hôtes du sous genre *laverania* dans les environnements confinés, nos résultats ouvrent à nouveau la discussion sur l'origine environnementale ou génétique de la spécificité d'hôtes observée en milieu naturel. En effet, pour expliquer la spécificité d'hôte chez les *Laverania*, des arguments génétiques ont été avancés évoquant la spécificité d'interactions entre certaines protéines (ligands) situées à la surface du parasite et d'autres protéines (récepteurs) situées à la surface des cellules hôtes (Mawili-Mboumba et al., 2011). L'interaction spécifique entre l'antigène majeur-175 (EBA-175) du parasite et les glycophorines-A de l'hôte a d'abord été évoquée (Martin et al., 2005). Cette hypothèse a cependant été discutée ; d'autres auteurs ont suggéré plutôt une interaction entre la protéine parasitaire RH5 (Reticulocyte binding protein homologue 5) et son récepteur BSG (la basiginine) chez l'hôte (Mawili-Mboumba et al., 2011; Otto et al., 2014; Wanaguru et al., 2013). En rapportant les infections communes du gorille et du chimpanzé par *P. reichowi* et *P. adleri*, nos résultats remettent en cause cette spécificité en démontrant qu'elle peut être rompue dans certaines conditions environnementales telles que les sanctuaires qui sont des milieux confinés (augmentant la probabilité de contact direct ou indirect entre des espèces qui habituellement ont moins voir peu de chance de se trouver en contact) en comparaison avec leur milieu naturel. Nous pensons que l'apparente spécificité d'hôtes observée en milieu naturel dans le sous genre *laverania* ne peut être comprise *via* une approche génétique seule, qui peut conduire à conclure (faussement) à une imperméabilité « constante » de la barrière quel que soit l'environnement. Nous pensons que la circulation des espèces plasmodiales et l'apparente spécificité d'hôtes sont aussi conditionnées par des facteurs écologiques comme l'occupation du milieu, la densité des populations d'espèces hôtes, ou les préférences trophiques des vecteurs (Boundenga et al., 2015; Paupy et al., 2013). L'analyse comparée du polymorphisme de l'interaction RH5-BSG chez les hôtes inattendus et les hôtes dits naturels permettra de rechercher d'éventuelles mutations chez ces nouveaux hôtes. En effet, si on s'appuie sur la validation de la théorie de barrière génétique à travers les interactions ligand/récepteur dans l'invasion des érythrocytes d'hôte vertébré (Mawili-Mboumba et al., 2011; Otto et al., 2014; Wanaguru et al., 2013), les échanges inattendus que nous rapportons dans cette étude ne s'expliqueraient qu'en cas de mutation soit de la protéine localisé à la surface du parasite, soit à la modification du récepteur de l'hôte.

Les infections des mandrills par *P. gonderi*, des Cephus par les *Hépatocystis*, des gorilles et chimpanzés par *P. vivax*-like et *P. malariae*-like confirment les précédentes études et la capacité des parasites du groupe non *laverania* à se généraliser à d'autres espèces hôtes. En effet, à l'exemple de *P. knowlesi* connu pour sa capacité à s'adapter chez de nouveaux hôtes (**Ezenwa, 2004; Maganga et al., 2014b**) ou de *P. vivax* connu pour infecter les gorilles, chimpanzés ou l'Homme (**Prugnolle et al., 2013**), les parasites non *laverania* sont connus pour infecter une diversité d'hôtes. Cependant peu de données existent pour documenter les mécanismes d'interaction de ce groupe parasitaire avec les cellules hôtes (**Delicat-Loembet et al., 2015**). Les rares données concernent le *P. vivax* dont l'invasion de globules rouge est déterminée par la présence de récepteurs Duffy (**Chitnis and Miller, 1994; Choe et al., 2005**).

Chez l'Homme, *P. vivax* a été considéré comme parasite des populations d'Asie, Océanie, Amérique du Sud et Centrale (**Escalante et al., 2005; Guerra et al., 2010; Mu et al., 2005**) et on pensait que la majorité de populations noires au sud du Sahara étaient protégées du fait que leurs érythrocytes ne possédaient pas de récepteur membranaire Duffy indispensable à l'infection par *P. vivax* (**Miller et al., 1976**). Ces données ont été relativisées avec (i) la description des infections à *P. vivax* au Mali, Congo, Guinée équatoriale et Cameroun (**Bernabeu et al., 2012; Culleton et al., 2009; Fru-Cho et al., 2014**) et (ii) la description d'une infection chez un sujet caucasien de retour d'Afrique (**Prugnolle et al., 2013**). Chez les Grands Singes africains, l'infection est généralisée à plusieurs espèces hôtes (**Kaiser et al., 2010**) avec des souches plus diversifiées que dans les lignées rencontrées en Asie (**Prugnolle et al., 2013**). En effet, il a été démontré que les Grands Singes africains sont porteurs d'une grande diversité génétique de *P. vivax*-like, laissant penser que le *P. vivax*-like des singes africains seraient à l'origine de *P. vivax* (**Liu et al., 2014; Prugnolle et al., 2013**).

Les études précédentes menées dans les populations de chimpanzés et bonobos ont montré que les conditions de proximité pouvaient favoriser le franchissement de barrière d'espèce par *P. falciparum* (**Duval et al., 2010; Krief et al., 2010; Pacheco et al., 2013**). Notre étude confirme ces observations ; elle montre pour la première fois que dans le sous genre *laverania*, cette capacité à infecter plusieurs espèces n'est pas limitée à *P. falciparum* mais répandue à d'autres espèces parasitaires que l'on croyait jusque-là cantonnés à leurs hôtes (**Article1**). Cette capacité à franchir les barrières d'espèces traduit sans doute une forte variabilité génétique qui confère au Plasmodium une capacité d'adaptation à de nouveaux



environnements hétérogènes ; mais on ignore pour l'instant les incidences sur la santé et la conservation.

Les parasites du groupe Plasmodium (non *laverania*) à savoir *P. malariae-Like*, *P. ovale-Like* et *P. vivax-Like* sont connus pour infecter une diversité d'hôtes (**Kaiser et al., 2010; Liu et al., 2014; Prugnolle et al., 2013**). Aucune infection humaine par un parasite simien n'a cependant été reportée confirmant au passage les études précédentes menées au Gabon et au Cameroun qui montrent que les PNHs ne sont pas une source d'infection pour l'Homme (**Delicat-Loembet et al., 2015; Sundararaman et al., 2013**). Toutefois, certaines conditions sur notre site d'étude pourraient expliquer ce résultat et inciter à la prudence. L'une des conditions majeures de la circulation de Plasmodium est la présence des vecteurs, mais nous n'avons pas d'informations précises sur les différents vecteurs qui pourraient jouer le rôle de pont entre l'Homme et les PNHs. Il est vrai que *Anopheles mouchetii*, *Anopheles vinckei* et *Anopheles marshalli* qui sont les seuls moustiques sylvestres trouvés infectés par des Plasmodium simiens (**Paupy et al., 2013**) fait de ces vecteurs de possibles candidats et que l'infection de mandrill ou de chimpanzé par *P. falciparum* implique l'existence de vecteurs jouant ce rôle de pont entre l'Homme et les PNHs, nous ne savons pas, au-delà des suspicions, grand-chose sur le tropisme de ces vecteurs pour l'homme. De plus, les moustiques ayant une activité nocturne marquée, l'absence des travailleurs sur nos sites d'études durant la nuit constitue une limite. Il est enfin possible que d'autres vecteurs pouvant faire des « ponts épidémiologique » entre espèces n'aient pas encore été échantillonnés sur nos sites. Pour toutes ces raisons, nous restons prudents sur l'incapacité apparente des Plasmodiums simiens à infecter l'Homme et sur le rôle de réservoir que pourraient jouer les PNHs dans les infections humaines.

### **I.3 RISQUE ZONOTIQUE ET RISQUE POUR LA CONSERVATION DES PNHs**

Nous avons rapporté l'infection de chimpanzés et mandrills par *P. falciparum*, espèce la plus virulente de *Plasmodium* infectant l'Homme (**WHO, 2015**). Cette nouvelle observation, qui confirme celles rapportées au Cameroun et en RDC (**Duval et al. 2010; Krief et al. 2010; Pacheco et al. 2013**), pourrait constituer un problème de santé publique vétérinaire et une préoccupation majeure pour la conservation des PNHs. En effet, l'apparente tolérance que nous lions des infections plasmodiales chez les PNHs peut être biaisée à cause de la difficulté de suivre ce type d'infection en milieu naturel ; cette situation peut nourrir notre méconnaissance et la critique est d'autant plus justifiée que la première étude des effets



cliniques d'une infection naturelle du *Plasmodium* sur les PNHs africain et à laquelle nous avons pris part (**Article 4, annexe 3**) date seulement de 2015 (**Herbert et al., 2015**). Il s'agissait d'un jeune chimpanzé naturellement infecté par *P. reichenowi*, présentant des symptômes analogues aux symptômes décrits lors des infections expérimentales avec *P. knowlesi* (**Wilkinson and South, 2002**). Sachant que *P. falciparum* est responsable de plus 91% de cas de décès dans les zones endémiques, dont 98% en Afrique sub-saharienne (**WHO, 2015**), on peut donc légitimement s'inquiéter de la tendance récurrente des infections à *P. falciparum* chez les PNHs (**Duval et al., 2010; Krief et al., 2010; Ngoubangoye et al., 2016; Pacheco et al., 2013**). De plus, ces infections zoonotiques pouvant inclure des souches résistantes aux traitements antipaludéens, comme ce fut le cas avec les bonobos en RDC (**Krief et al., 2010; Rayner et al., 2011**), le risque pour la santé des primates, et par ricochet pour leur conservation, est donc réel et lié au fait que les résistances débouchent sur l'échec des éventuels traitements.

## ***II. STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

### **II.1 PORTAGE ET DIVERSITÉ**

A notre connaissance, cette investigation est la première étude portant sur la diversité du *S. aureus* et la résistance médicamenteuse menée dans une communauté d'hôtes intégrant d'une part les PNHs, les Hommes, les micromammifères (rongeurs et musaraignes) et les chauves-souris, et autant d'espèces de PNHs d'autre part.

Les taux de portage (amplification du gène *Nuc*) (**Wang et al., 2014**) étaient de 46,15%, (18/39) chez l'Homme, 46,55 (270/580) chez les PNHs, 30,48% (128/420) chez les micromammifères et 41,13% (58/141) chez les chauves-souris (Article 2 et Tableau 9). Il n'y avait aucune différence de portage entre ces groupes d'hôtes exceptés les PNHs qui étaient significativement plus infectés que les micromammifères (cf. Article 2, Tableau 1). Le taux de portage des travailleurs du CDP semble plus important qu'au centre du Gabon à Lambaréné et dans les villages aux alentours de Lambaréné où le portage communautaire variait de 27 à 37% (**Ateba Ngoa et al., 2012**) et atteignait 34% dans les villages pygmés situés dans le parc de Waka (**Schaumburg et al., 2011a**). En absence de données dans le milieu urbain au Gabon, on peut remarquer que notre taux d'infection (46,15%) est comparable aux taux communautaires rapportés dans d'autres villes Africaines à l'exemple de Dakar et d'Alexandrie (**Fall et al., 2014; Perret and Ngomo, 1993**) chez le personnel soignant des

hôpitaux (**Kateete et al., 2011; Sulkin and Allen, 1974**). En effet, les principales études menées au Gabon ont été réalisées en milieu rural dans les villages (**Ateba Ngoa et al., 2012; Schaumburg et al., 2011a**), et en milieu semi-urbain principalement à Lambaréné (**Ateba Ngoa et al., 2012; Schaumburg et al., 2011b**) où les installations de l'hôpital du légendaire Dr Schweizer facilitent les études. La ville de Franceville est la 2<sup>ème</sup> ville du Gabon, avec une démographie plus importante que celle des villages ou de Lambaréné étudiés. On peut donc penser que la prévalence relativement élevée enregistrée dans notre étude est liée à cette différence de démographie. Le même patron est observé au Ghana, où la population humaine située au sud de la capitale Accra était plus fortement infectée que celle située en milieu rural à Dangme (**Egyir et al., 2014**). Cependant, même si les taux d'infection communautaire plus importants sont rapportés dans la population rurale (37%) relativement à la population semi-urbaine (21%) (**Ateba Ngoa et al., 2012**), la densité de la population et les taux élevés de contacts sont des facteurs connus pour favoriser la circulation des agents infectieux (**Altizer et al., 2003; Smith et al., 2009**). On peut donc attendre qu'à Franceville, la transmission inter humaine soit plus importante que dans les villages ou à Lambaréné précédemment étudiés.

Le second aspect est la similitude du taux de portage (46,15%) dans notre population humaine travaillant avec les PNHs avec le portage au sein du personnel soignant des hôpitaux. Cette similitude porte à nous demander si les actions de préservation des PNHs dans les sanctuaires ne seraient pas un facteur de risque pour le portage de *S. aureus*. Chez les PNHs, peu de données existent sur le portage communautaire de *S. aureus* au Gabon, et seules deux études intégrant les prélèvements de Côte d'ivoire (**Schaumburg et al., 2012a**) ou de Côte d'ivoire et de RDC<sup>16</sup> (**Schaumburg et al., 2015**) sont disponibles. La prévalence enregistrée au CDP (46,55%) à partir des écouvillons nasaux est inférieure aux prévalences de 72% rapportées chez les lémuriens ou de 69,2% et 61% chez les chimpanzés en captivité à partir d'échantillons oro-pharyngés et des aliments mâchés (**Schaumburg et al., 2012a; Schaumburg et al., 2013**). Des taux de portage de 54, 80 ou 100% ont été rapportés chez des chimpanzés en captivité respectivement à partir du produit de mastication en Côte d'ivoire, ou de prélèvements vaginaux en Uganda (**Schaumburg et al., 2013**) alors que le portage est relativement moins important avec des taux de 19% (**Schaumburg et al., 2015**) et de 36% à partir des échantillons nasaux (**Schaumburg et al., 2013**). En accord avec **Schaumburg et al. (2013)**, l'évaluation du portage de *S. aureus* chez les PNHs à partir d'échantillons oro-

---

<sup>16</sup> RDC : République démocratique du Congo

pharyngés et de produits de mastication semblent plus représentatifs qu'un échantillonnage nasal (**Schaumburg et al., 2013**) classiquement investigué par analogie aux prélèvements humains. On peut donc penser que la prévalence réelle de *S. aureus* dans la population de PNHs au CDP a été sous évaluée. Cependant, dans une autre étude dont les prélèvements sont issus d'écouvillons nasaux, la prévalence observée est de 58% parmi les chimpanzés en Zambie (**Schaumburg et al., 2012b**).

A l'issue de la phase d'analyse de nos 474 séquences, 49 *spa* types ont été identifiés dont 15 nouvelles souches décrites pour la première fois et classées de **t15940** à **t16031** sur <http://spa.ridom.de/spatypes.shtml>. Alors que 36 *spa* types n'ont été décrits que chez une seule espèce d'hôtes (dites « spécialistes »), 13 *spa* type ont été décrits chez au moins deux espèces d'hôtes différents (souches dites « généralistes »). Le nombre de *spa* type différents varie de 9 chez l'Homme (5 généralistes et 4 spécialistes), 15 chez les micromammifères (7 généralistes et 8 spécialistes), 19 chez les chauves-souris (9 généralistes et 10 spécialistes) à 23 chez les PNHs (9 généralistes et 14 spécialistes). Ces résultats sont en accord avec ceux des études antérieures et confirment la grande diversité de *S. aureus* (**Basic-Hammer et al., 2010; Bzymek and Lovett, 2001; Van Belkum et al., 1998**). Dans la population humaine étudiée ici, cette diversité (9 *spa* types différents identifiés) peut paraître moins importante que les 46 *spa* types rapportés à Lambaréné (**Ateba Ngoa et al., 2012**), ou encore les 13 *spa* types rapportés dans la population pygmée du parc de Waka au centre du Gabon (**Schaumburg et al., 2011a**). Cependant, au niveau de la population gabonaise, notre ratio de 9 *spa* types identifiés à partir de 18 isolats (0,50) semble supérieur aux ratios d'études en milieu rural (13 *spa* types à partir de 34 isolats, soit un ratio de 0,38 ; (**Schaumburg et al., 2011a**)) ou semi urbain (46 *spa* types à partir de 146 isolats, soit un ratio de 0,31 ; (**Ateba Ngoa et al., 2012**)). Nous constatons que ce ratio est encore plus important parmi les vétérinaires et personnes travaillant avec les PNHs (8 *spa* types sur 10 isolats, soit un ratio de 0,8) (**Schaumburg et al., 2012b**) alors qu'il n'est que de 0,08 dans la population humaine vivant près du parc national de Tai en Côte d'Ivoire et de 0,05 (10 *spa* types sur 122 isolats) dans la population vivant autour du parc de Salonga du Sud en RDC (1 *spa* type sur 20 isolats). On est alors tenté de réitérer notre questionnement sur le fait que les travailleurs des sanctuaires et autres personnels soignants des PNHs pourraient, à l'exemple du personnel soignant des hôpitaux (**Kateete et al., 2011; Sulkin and Allen, 1974**), constituer une population à risque pour le portage du *S. aureus*. Les PNHs africains sont en effet connus pour abriter une forte diversité de *S. aureus*. Alors que nous rapportons 23 *spa* types

différents à partir de 270 isolats (soit un ratio de 0,09), des études antérieures ont décrit une diversité plus importante dans les programmes d'habituation et les sanctuaires (32 *spa* types à partir de 58 isolats, soit un ratio de 0,5) (Schaumburg et al., 2012a) et 9 *spa* types à partir de 36 isolats chez les chimpanzés (ratio de 0,25) (Schaumburg et al., 2012b). Au-delà de notre population d'étude, nous avons constaté que les taux de portage sont généralement importants chez les PNHs. Outre le taux de 46,55% rapporté dans ce travail, les études antérieures rapportent des taux allant de 55 à 61% chez les chimpanzés et autres cercopithèques (Schaumburg et al., 2012a; Schaumburg et al., 2012b), voire 80 à 100% (Schaumburg et al., 2013). Ces prévalences élevées s'accompagnent généralement d'une forte diversité comme on l'a vu plus haut. Les PNHs pourraient-ils être une source d'infection pour l'Homme ?

Dans cette étude, le portage de *S. aureus* a été également rapporté chez les chauves-souris (41,13%) et les micromammifères (30,48%), avec une diversité respectivement de 19 et 15 *spa* types différents. Ces données sont difficiles à discuter à cause du manque (au niveau de la sous-région Afrique centrale) ou du peu d'études portant sur la diversité du *S. aureus* dans ces groupes taxonomiques. Le portage dans notre communauté de chauves-souris (41,13%, 58/141) est quasiment le double du portage rapporté à partir de fèces de chauves-souris frugivores *Eleidon helvum* sur un campus universitaire au Nigeria (21,14 ; 107/506) (Akobi et al., 2012). La diversité génétique des isolats paraît également plus importante dans notre communauté (15 souches sur 58 isolats, ratio de 0,26) que celle rapportée dans la même étude au Nigeria (10 souches sur 70 isolats, ratio de 0,14). Cette différence est peut-être liée à la nature des prélèvements (oraux dans notre étude, fécaux dans l'étude d'Akobi). Par ailleurs, l'infection des rongeurs est relativement bien documentée dans les pays du Nord (Himsworth et al., 2014; Van de Giessen et al., 2009) mais en Afrique et notamment en Afrique Centrale, notre étude est la première qui traite de la diversité génétique du *S. aureus* chez les rongeurs *in natura*. Même si le peu d'études disponibles limite notre analyse, nos données confirment la sensibilité des chauves-souris (Akobi et al., 2012; Galicia et al., 2014) et des micromammifères (Gomez et al., 2014; Himsworth et al., 2014) à l'infection au *S. aureus*, et confirment le large spectre d'hôtes connu de cette bactérie (Article 1, tableaux S1 et S2), de manière générale, traduisant sans doute une grande capacité d'adaptation de *S. aureus*.

Les souches majoritaires diffèrent entre les quatre grands types d'hôtes. Chez l'Homme, les *spa* majoritaires sont le **t355 (ST 152/377/1633)** avec 22,22% (4/18), suivi du **t189 (ST188)** et **t939** avec 16,67% (3/18) chacun. Chez les PNHs, les souches majoritaires se trouvent

parmi les nouvelles souches décrites, à savoir **t15943** avec 13,02% (34/261) suivis de **t15940** avec 11,9 (30/261) et **t15961** avec 6,9% (6/231). Les souches majoritaires chez les chauves-souris sont le **t15968** (décrite pour la première fois) avec 10,9% (6/55), puis les **t12895** et **t15942** avec 9,09% (5/55) chacun. Enfin, chez les micromammifères, les *spa* types majoritaires sont le **t002 (ST15/231)** et **t939** avec 11,9% chacun (15/126), suivi de **t178** avec 9,52 % (12/126). Alors que l'identification de certains clones était attendue du fait de l'épidémiologie du *S.aureus* en Afrique sub-saharienne, la prépondérance d'autres clones est une réelle surprise. En effet, les clones **ST8** et **ST88** sont connus comme clones communautaires en Afrique (**Abdulgader et al., 2015; Breurec et al., 2011b**). Ces clones ont été décrits en Afrique du Nord (Algérie) (**Antri et al., 2011; Bekkhoucha et al., 2009; Djoudi et al., 2013**) ainsi qu'en Tunisie (**Kechrid et al., 2011**) ; en Afrique du centre, à savoir Angola (**Conceição et al., 2014a**), Cameroun (**Breurec et al., 2011b**), Gabon (**Ateba Ngoa et al., 2012; Schaumburg et al., 2011b**), Sao-tomé (**Conceição et al., 2014b**) ; en Afrique de l'ouest comme au Sénégal, au Niger (**Breurec et al., 2011b; Fall et al., 2012**), Nigeria (**Adesida et al., 2005; Shittu et al., 2011**), Ghana (**Egyir et al., 2014; Egyir et al., 2013**) ; en Afrique du sud (**Essa et al., 2009; Oosthuysen et al., 2014**), et en Afrique de l'est, comme au Kenya (**Aiken et al., 2014**) et à Madagascar (**Breurec et al., 2011b**). Cependant, dans notre étude, bien que le clone **ST88 (t186)** soit décrit, il est peu présent (3 isolats humains seulement et aucune infection animale). Nos résultats sont cependant concordants avec ceux de la littérature à deux niveaux. D'abord la (i) la faible présence de **ST88** au Gabon (1 isolat parmi le personnel, 2 isolats dans la communauté et aucune infection chez les patients à Lambaréné (**Ateba Ngoa et al., 2012**), 3 isolats à Fougamou (**Schaumburg et al., 2014a**) et aucun isolat dans le parc de Waka (**Schaumburg et al., 2015**). La deuxième concordance est (ii) la prédominance des clones **ST152 (t355** majoritaires dans notre population humaine) et du **ST5 (t002** majoritaire chez les micromammifères). En effet, les isolats SASM<sup>17</sup> les plus répandus dans des études antérieures au Gabon étaient associés aux clones **ST15** et **ST152**. Le clone **ST15** était très prédominant dans l'étude d'**Ateba Ngoa et al. (2012)**, correspondant à 48% du portage total. A Fougamou au centre du Gabon, les souches **ST15** ont colonisé 30% des mères et 25% de leur enfant; **ST152** ont colonisé 25% des mères et 22% de leur enfant (**Schaumburg et al., 2014a**). Dans une récente étude portant sur 103 isolats, 7 isolats étaient associés à **ST 88** et 2 isolats à **ST8** alors que **ST15,ST152** et **ST5** et

---

<sup>17</sup> SASM: *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline

**ST 121** étaient prédominants (**Okuda et al., 2016**). Le **ST152** (17,4%, n=86), **ST15** (16,8%, n=83) et le **ST5** (10,9%, n=54) ont été décrits comme clones dominants dans une étude menée conjointement au Gabon, en RDC et en Côte d’ivoire (**Schaumburg et al., 2015**). Le **ST15** est cependant faiblement représenté dans notre étude (3 isolats parmi les PNHs et les micromammifères (cf. Article 1, tableau S1). Chez les PNHs les souches prédominantes sont **t15943** suivi de **15940** et **15961**. Toutes ces souches ont été décrites pour la première fois, et 47% d’isolats de **t15943** sont SARM (Article 1, tableau S2). De même, chez les chauves-souris, la souche dominante est **t15968** décrite également pour la première fois dans cette étude. S’agit-il de nouveaux clones circulant au sein de PNHs et des chauves-souris au Gabon ? Enfin, des clones hospitaliers, tels que les clones **ST239** et **ST241**, qui ont été décrits précédemment dans neuf pays africains (**Abdulgader et al., 2015**) n’ont pas été décrit pas dans notre étude.

## II.2 TRANSMISSION INTER ESPÈCE

Outre l’aspect communautaire connu de souches de *S.aureus* entre Homme et PNHs (**Schaumburg et al., 2012b; Schaumburg et al., 2015**) et entre PNHs et chauves-souris (**Akobi et al., 2012**), nous décrivons pour la première fois la « communautarisation » du *S.aureus* entre les Hommes et les micromammifères (t056, t5017, t084), les Hommes et les chauves-souris (t939, t1458, t355), les PNHs et les micromammifères (t056, t5017, t084), et enfin, entre les chauves-souris et les micromammifères (t15969, t5017, t939, t1458, t1781). Nous décrivons également pour la première fois une « communautarisation » de souche de *S. aureus* entre PNHs, micromammifères et chauves-souris (t5017), entre Homme, micromammifères et chauves-souris (t939 et t1458), et entre PNHs, Homme et chauves-souris (t355). Aucune souche n’a été décrite comme infectant les 4 grands groupes d’hôtes à la fois. Un autre marqueur de transmission inter groupe d’espèces est sans doute l’amplification du gène *mecA* (**Predari et al., 1991**) chez les chauves-souris et les micromammifères, et le fait que plusieurs souches partagées entre espèces soient SARM. En effet, les prévalences de SARM obtenues étaient de 66,67% (12/18) chez l’Homme, 29,62% (80/270) chez les PNHs, 15,62 % (20/128) chez les micromammifères et 22,41 % (13/58) chez les chauves-souris. Dans notre communauté d’hôtes, nous avons des groupes d’hôtes exposés aux antibiotiques (Homme, PNHs) et des hôtes non exposés (micromammifères, chauves-souris). Si les infections SARM étaient attendues dans le groupe des exposés (du fait de la consommation humaine d’antibiotiques, et de l’automédication) (**Kunz and Parsons,**



**2009; Luby et al., 2009)** ou de l'utilisation courante d'antibiotiques dans les soins vétérinaire (depuis près de 40 ans au CDP), la description des souches SARM parmi les groupes d'hôtes non exposés est une surprise qui résulte d'une transmission à partir d'une source humaine ou PNHs. En effet, parmi les souches généralistes infectant les micromammifères ou les chauves-souris, seules les souches partagées avec l'Homme ou les PNHs sont porteuses de résistance ; aucune souche partagée entre les micromammifères et les chauves-souris n'est SARM. En outre, chez les micromammifères, les souches dites généralistes sont significativement plus souvent SARM que les souches dites spécialistes (**Article 2**). On peut donc considérer que (i) les Humains et PNHs sont des sources d'infections de ces espèces non exposées, et que (ii) les micromammifères et les chauves-souris jouent un rôle dans la circulation et la persistance des SARM au CDP. Nos résultats vont dans le sens des résultats d'études antérieures. En effet, aussi bien chez les animaux domestiques (**Katakweba et al., 2016; Nienhoff et al., 2009**), d'élevage (**Armand-Lefevre et al., 2005; Haenni et al., 2011**) que dans la faune sauvage (**Schaumburg et al., 2012b; Schaumburg et al., 2015**), la colonisation des êtres humains par des souches initialement décrites chez les animaux, ou vice-versa, est un fait bien documenté. La description chez l'Homme de souches communément partagées avec les PNHs (**t537, t189, t355**) confirme les études qui avaient rapporté l'infection commune de ces deux groupes par **t279** (**Schaumburg et al., 2012b**) et par **t1476 et t084** (**Schaumburg et al., 2015**). De même, la description de souches partagées entre les PNHs et les chauves-souris (**t2546, t15942, t5071, t355 et t5725**) confirme la description chez les chauves-souris frugivores *E. helvum* de souches associées au **ST1822** (**Akobi et al., 2012**) initialement décrites chez les PNHs (**Schaumburg et al., 2012a**). Dans notre communauté du centre de primatologie, on constate donc une « communautarisation » de souches de *S. aureus* et des souches SARM entre différents groupe d'hôtes. Quels sont les risques pour la santé publique et la conservation de PNHs ?

### **II.3 RISQUE ZONOTIQUE ET RISQUE POUR LA CONSERVATION DES ESPÈCES**

L'infection des PNHs par des souches résistantes aux antibiotiques est bien documentée, notamment à la pénicilline dont la proportion d'isolats rapportés va de 9,5% chez les lémuriens (**Schaumburg et al., 2013**), à 21, 57%-75 % chez les chimpanzés (**Schaumburg et al., 2013; Schaumburg et al., 2012b; Schaumburg et al., 2015**). La prévalence de SARM



rapportée parmi les souches infectant les PNHs paraît importante et elle est sans doute multifactorielle. La première explication possible est (i) l'utilisation courante d'antibiotiques dans les soins vétérinaires depuis près de 40 ans, qui pourrait conduire à la sélection de souches résistantes. Plusieurs auteurs ont d'ailleurs montré qu'autour des centres d'activités humaines, du fait de la pression de sélection exercée par les médicaments, les taux de résistance étaient plus importants que loin de ces sites (**Allen et al., 2011; Cole et al., 2005; Grall et al., 2015; Rolland et al., 1985; Skurnik et al., 2006**). Dans la seule étude menée dans un sanctuaire en Zambie, bien que les SARM n'aient pas été recherchés, les isolats de *S. aureus* étaient à 75 % résistants à la pénicilline qui est un antibiotique couramment utilisé dans les soins vétérinaires (**Schaumburg et al., 2012b**). A l'opposé, des études réalisées à partir d'animaux libres (dans les parcs) n'ont rapporté aucun cas de SARM du fait sans doute d'une pression de sélection moins forte (**Schaumburg et al., 2012a; Schaumburg et al., 2015**). (ii) La deuxième explication possible est liée à la prise incomplète des traitements aux antibiotiques. Nous avons constaté que les PNHs logés dans des volières (facilitant la réalisation des traitements) qui bénéficiaient de l'entièreté des traitements antibiotiques à la durée prescrite, sont significativement moins infectés par les SARM que les PNHs logés en enclos qui, vivant en semi-liberté, sont difficilement contrôlables et prennent parfois des traitements antibiotiques incomplets. (iii) La troisième possibilité est une transmission à partir d'une source humaine. En effet, près de 67% (117/126) d'isolats identifiés chez les PNHs sont associés aux souches dites généralistes. En outre, nos analyses montrent que la proportion de SARM trouvée n'est pas associée aux souches spécialistes; elle est liée aux souches généralistes partagées avec l'Homme (traduisant une transmission d'origine humaine) et à celles rapportées chez les PNHs (traduisant une source proprement simienne) (cf. Article 2, tableau 3).

Chez les êtres humains et les PNHs qui sont traités, les infections SARM peuvent constituer un risque encore beaucoup plus important si ces souches sont PLV positif. En effet, les SARM communautaires sont décrits comme présentant une clinique variée (pneumopathie nécrosantes, infections ostéo-articulaire, bactériémies) dominée par des infections de la peau et des tissus mous (**CDC., 2001; King et al., 2006; Moran et al., 2005**); les clones de SARM acquis dans la collectivité hébergent plus fréquemment les gènes de PVL en comparaison avec les clones de MRSA acquis par l'hôpital (**Okuda et al., 2016**). En outre, la toxine PLV est endémique dans les populations africaines (**Breurec et al., 2011a; Gillet et**

**al., 2002).** Ainsi les clones ST152 (t355) rapportés à Lambaréné étaient PLV positif même si ST5 (t002) était PLV négatif (**Okuda et al., 2016**).

Sur le plan clinique, les PLV ont des effets nécrosants pour les tissus mous (**Lina et al., 1999**) et cytotoxiques pour les neutrophiles (**Löffler et al., 2010**). Bien que le MRSA «clone africain» t186 (ST88) associé aux affections à Lambaréné (**Schaumburg et al., 2011b**) ne soit pas largement répandu au Gabon (**Ateba Ngoa et al., 2012**), nous avons cependant décrit **t186** chez 3 êtres humains dont 2 isolats SARM. Aucune transmission n'a cependant été observée chez les animaux. Le **t148**, résistant à l'ampicilline et positif en enterotoxine C ayant entraîné la mort d'une femelle gorille au Gabon (**Nagel et al., 2013**), a été retrouvé chez les PNHs avec 4 isolats SARM. Par ailleurs, les souches majoritaires chez l'homme (**t355**) et chez les PNHs (t15943) comprenaient respectivement 75% (3/4) et 47,05% d'isolats SARM ; ils pourraient être à l'origine d'échec thérapeutique vis-à-vis de la méticilline et/ou antibiotiques apparentés. La transmission simienne de souches humaines peut porter sur des clones MRSA-PLV positif. Une telle association serait néfaste pour la santé des singes, et, par ricochet, représenter un danger pour leur conservation. Malheureusement, l'une des limites de cette étude est l'absence d'analyse de facteurs de virulence qui nous aurait permis de mieux caractériser les souches en circulation.

L'autre souci majeur de nos résultats est lié aux isolats SARM rapportés chez les chauves-souris (22,41 %, 13/58) et les micromammifères (11,90%, 15/126). Les isolats résistant à divers familles d'antibiotiques (pénicilline, érythromycine, ciprofloxacine, etc) ont déjà été rapportés chez les chauves-souris (**Akobi et al., 2012; Sherein et al., 2009; Simonová et al., 2007**) et les rongeurs (**Allen et al., 2011; Van de Giessen et al., 2009**) en Afrique et dans le monde ; mais cette étude est la première à rapporter des infections SARM parmi ces deux groupes taxonomiques au Gabon. Du fait de l'importance des interactions sociales, des densités ou mobilité spatiale des rongeurs et des chauves-souris (**Jones et al., 2008; Keesing et al., 2010**), ce constat pourrait en effet constituer une préoccupation majeure en santé publique à cause du risque de dissémination des SARM. Cette crainte est d'autant plus justifiée que les rongeurs sont par exemple connus pour leur rôle dans la persistance de *Salmonella et Campylobacter* spp (**Davies and Wray, 1995; Meerburg et al., 2006; Stern et al., 1992**). Si le risque de dissémination de SARM à partir de chauves-souris peut être suspecté, le rôle des micromammifères dans cette dissémination est faible car les isolats SARM diminuent en proportion lorsqu'on s'éloigne des zones de nourrissage : aucun isolat SARM n'est enregistré au-delà de 500m de ces zones (cf. Article 2, tableau 2). Plusieurs

études ont déjà montré que le niveau de résistance aux antibiotiques dans le microbiote des animaux sauvages était plus élevé à proximité de centres d'activités humaines que loin de ces centres (**Allen et al., 2011; Cole et al., 2005; Rolland et al., 1985; Skurnik et al., 2006**). Un constat similaire avait été fait en Guyane Française (**Grall et al., 2015**) : la résistance à la ticarcilline ( $\beta$ -lactamine) diminuait chez les micromammifères lorsqu'on s'éloignait du point de pression ; aucun cas de résistance acquise n'était enregistré au-delà de 600 m. Ce patron de distribution résulte probablement des coûts de la résistance acquise sur la valeur sélective des souches en l'absence de pression de sélection représentée par la pression des antibiotiques (**Grall et al., 2015**).

### **III. ABSENCE D'INFECTION À PARAMYXOVIRUS**

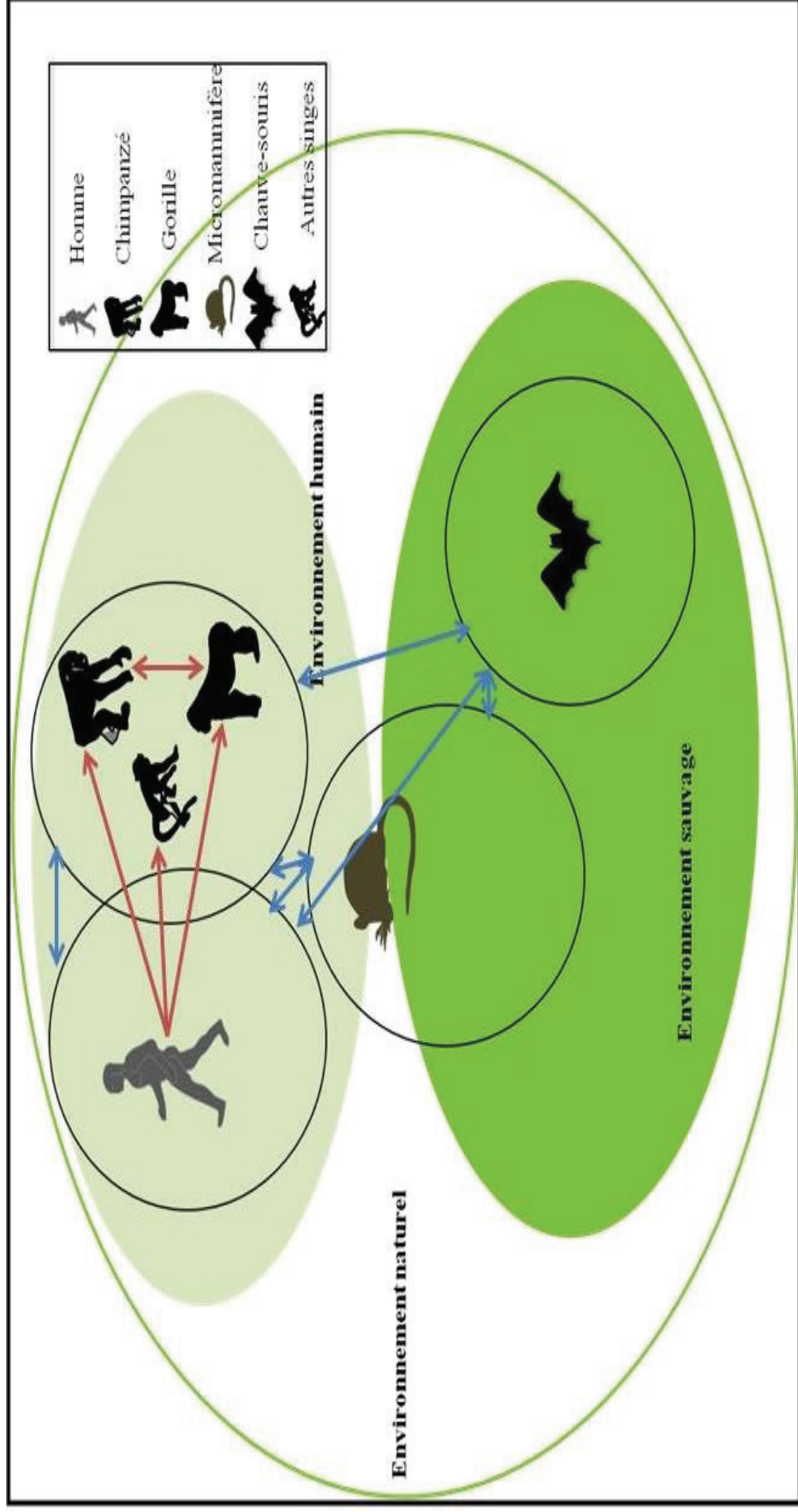
Les quatre (4) grands modèles hôtes de notre étude sont connus pour leur sensibilité aux paramyxovirus (**Drexler et al., 2012; Jun et al., 1977; Palacios et al., 2011; Spelman et al., 2013**). Dans cette étude, nous avons utilisé les mêmes méthodes (extraction, dosage ARN, amorces, PCR) que celles qui ont permis la description d'infections à paramyxovirus à partir d'organes (rate, intestin) de chauves-souris cavernicoles par notre laboratoire au Gabon (**Maganga et al., 2011; Maganga et al., 2014a**), ou encore des chauves-souris et rongeurs dans une étude menée en collaboration avec notre laboratoire (**Drexler et al., 2012**).

L'absence des paramyxovirus chez les chauves-souris et rongeurs connus comme réservoirs, s'est révélé une surprise. Plusieurs explications peuvent être évoquées. La petite taille de l'échantillonnage peut expliquer l'absence d'amplification de l'ADN viral (423 rongeurs et musaraignes et 190 chauves-souris dans notre étude contre 4954 chauves souris et 4324 rongeurs dans l'étude de **Drexler et al. (2012)** ou 985 chauves-souris dans l'étude de **Maganga et al. (2014a)**). En outre, parmi les groupes d'hôtes réservoirs, aucune infection à paramyxovirus n'a jamais été reportée chez l'espèce *Epomops franqueti* qui est majoritaire parmi les chauves-souris. De même, chez l'Homme, aucune donnée n'est disponible dans la population générale au Gabon ; les seuls cas rapportés sont issus du milieu hospitalisé à partir des patients en consultation pour des infections liées aux virus des oreillons (**Maganga et al., 2014b**) ou de la rougeole (**Kouomou et al., 2002**).

Par ailleurs, le patron de circulation de différentes espèces de parasites du groupe de paramyxovirus n'est pas connu (épidémique ou endémique ?) ; une étude sérologique permettrait d'y répondre et savoir si le virus est présent dans le site d'étude (la chauve souris

étant une espèce longévive), une absence d'anticorps chez un grand nombre d'individus pourrait alors suggérer l'absence des paramyxovirus dans cette région du Gabon.

# **Conclusions et perspectives**



**Figure 26** : Bilan des échanges parasites entre les 4 grands groupes d’hôtes étudiés. En bleu, les infections à *S. aureus*. En rouge, les infections à *Plasmodium spp.* Excepté les humains et les PNHs qui interagissent de façon directe (par contact), les autres types d’hôtes ont des interactions indirectes via l’environnement. Les rongeurs se retrouvent aussi bien dans l’environnement humain que sauvage.

A notre connaissance, cette investigation est la première étude menée dans un sanctuaire ou centre de primatologie sur la circulation de différents microorganismes et résistance médicamenteuse, et qui soit organisée à l'échelle d'une communauté d'hôtes intégrant les PNHs, les Hommes, les micromammifères (rongeurs et musaraignes) et les chauves-souris. A partir des résultats obtenus de nos 3 modèles d'agents infectieux au sein de cette communauté, nous pouvons tirer quelques enseignements d'intérêt pour la santé publique et la conservation des PNHs.

L'un des enseignements de cette étude est la remise en cause du principe de spécificité d'hôtes établie chez les *Plasmodium* du sous-genre *Laverania*. En milieu confiné et lorsque les conditions le permettent, les *Plasmodium* du sous-genre *Laverania* peuvent donc infecter une multitude d'espèces hôtes. Même si aucune infection d'origine simienne n'a été rapportée chez l'Homme, la description d'infection d'origine humaine chez les PHNs et la communautarisation de vecteurs (zoo-antropozoonotiques) entretient cette éventualité. Sur le plan sanitaire, ces franchissements de barrière d'espèces pourraient constituer une préoccupation de santé publique d'autant plus que nous commençons juste à investiguer ; nous ne maîtrisons pas encore l'incidence clinique des infections plasmodiales naturelles des PNHs et nous ignorons totalement les incidences d'une infection humaine par une souche simienne. Outre pour le gorille, qui du fait de sa co-evolution avec *P. falciparum* pourrait mieux le tolérer, la généralisation de cette infection par *P. falciparum* à d'autres espèces de PHNs, à l'origine de milliers de décès chez l'Homme, pourrait constituer un danger pour la conservation des PNHs. Certaines mesures pourraient minimiser ces risques, à savoir la création de sites qui ne seraient dédiés qu'à une seule espèce de PNHs, l'utilisation de répulsifs insectifuges par le personnel des sanctuaires, associés à un suivi diagnostique régulier des primates (Homme compris) avec des outils moléculaires discriminants.

A la différence des études antérieures qui ne s'intéressent qu'aux échanges parasitaires entre l'Homme et les seuls PNHs, l'étude de *S. aureus* à l'échelle de la communauté d'hôtes nous a montré que dans un environnement comme les sanctuaires ou les centres de primatologie, même les autres espèces hôtes interagissant de façon indirecte avec l'Homme ou les PNHs jouent un rôle non seulement dans la circulation et la persistance des bactéries (**Figure 24**), mais aussi dans la dissémination communautaire de la résistance aux antibiotiques. Cette étude montre l'intérêt de l'approche intégrative prônée dans le cadre de la santé unique (One Health ou Global Health). Les espèces de micromammifères ont montré que la dissémination des SARM était limitée aux frontières du CDP, mais nous ne savons pas ce qu'il en est de la



dissémination des SARM par des chauves-souris qui utilisent des espaces beaucoup plus grands. Sur le plan sanitaire, l'importante acquisition de la résistance dans la population de PNHs et la dissémination de souches (« généralistes ») résistantes humaines à d'autres espèces animales est un problème majeur du fait des possibles échecs aux traitements vétérinaires. Si la maîtrise de la prise des antibiotiques dans la population humaine en Afrique noire est un enjeu économique et social beaucoup plus complexe, l'utilisation des antibiotiques dans les sanctuaires, zoo et centres de primatologie peut être mieux encadrée pour éviter une mauvaise utilisation à l'origine des résistances. Le décès de la femelle gorille (Caroline) au CIRMF en 2012 à la suite d'une septicémie est un exemple des conséquences des échecs de traitement sur la conservation de PNHs.

Au-delà de l'intérêt indéniable que représentent les sanctuaires et autres centres de primatologie dans le défi de la conservation des PNHs, ces structures peuvent représenter un carrefour pour la transmission inter-espèces, la circulation et la persistance d'agents infectieux (**Figure 24**). Les activités quotidiennes du personnel et son niveau de formation, la fréquence et le choix des traitements vétérinaires, les conditions d'application de ces traitements et l'interaction entre espèces y compris avec la faune sauvage, sont autant de paramètres pouvant influencer la transmission d'agents infectieux et la survenue des résistances. Pour une meilleure évaluation du risque sanitaire dans les aires de conservation de PNHs, ce travail se doit d'être poursuivi.

**Les perspectives** que nous envisageons à la suite de ce travail constituent une matérialisation des applications de cette thèse qui était de mettre sur pied un laboratoire vétérinaire pour la gestion sanitaire et l'épidémiologie-surveillance dans les parcs. Au niveau scientifique, nos perspectives sont :

- ❖ L'analyse comparée du polymorphisme de l'interaction RH5-BSG chez les hôtes inattendus et les hôtes dits naturels pour rechercher d'éventuelles mutations chez ces nouveaux hôtes. Du fait de la théorie de barrière génétique à travers les interactions ligand/récepteur, les échanges inattendus que nous rapportons dans cette étude impliquent des mutations soit au niveau de la protéine localisée à la surface du parasite, soit du récepteur de l'hôte. L'absence de mutations signifierait que l'apparente spécificité est liée aux conditions environnementales.
- ❖ La recherche et caractérisation des infections plasmodiales chez les gardiens de sécurité qui passent la nuit au CDP. Du fait de l'activité nocturne marquée des vecteurs, l'inclusion

et le suivi longitudinal des gardiens de nuit permettront de mieux documenter le risque d'infection humaine par un parasite d'origine simienne.

- ❖ L'analyse MLST de nos isolats de *S. aureus* et des facteurs de virulence. Ces analyses nous permettront de mieux caractériser nos souches et leurs relations phylogénétiques (en relation avec celles des hôtes). L'analyse des facteurs de virulence nous permettra de mieux évaluer le risque sanitaire associé au spectre d'hôtes des souches.
- ❖ Compléter l'étude des résistances à d'autres groupes d'antibiotiques couramment utilisés au Centre et dans les sanctuaires.

Au niveau professionnel et organisationnel, nous envisageons :

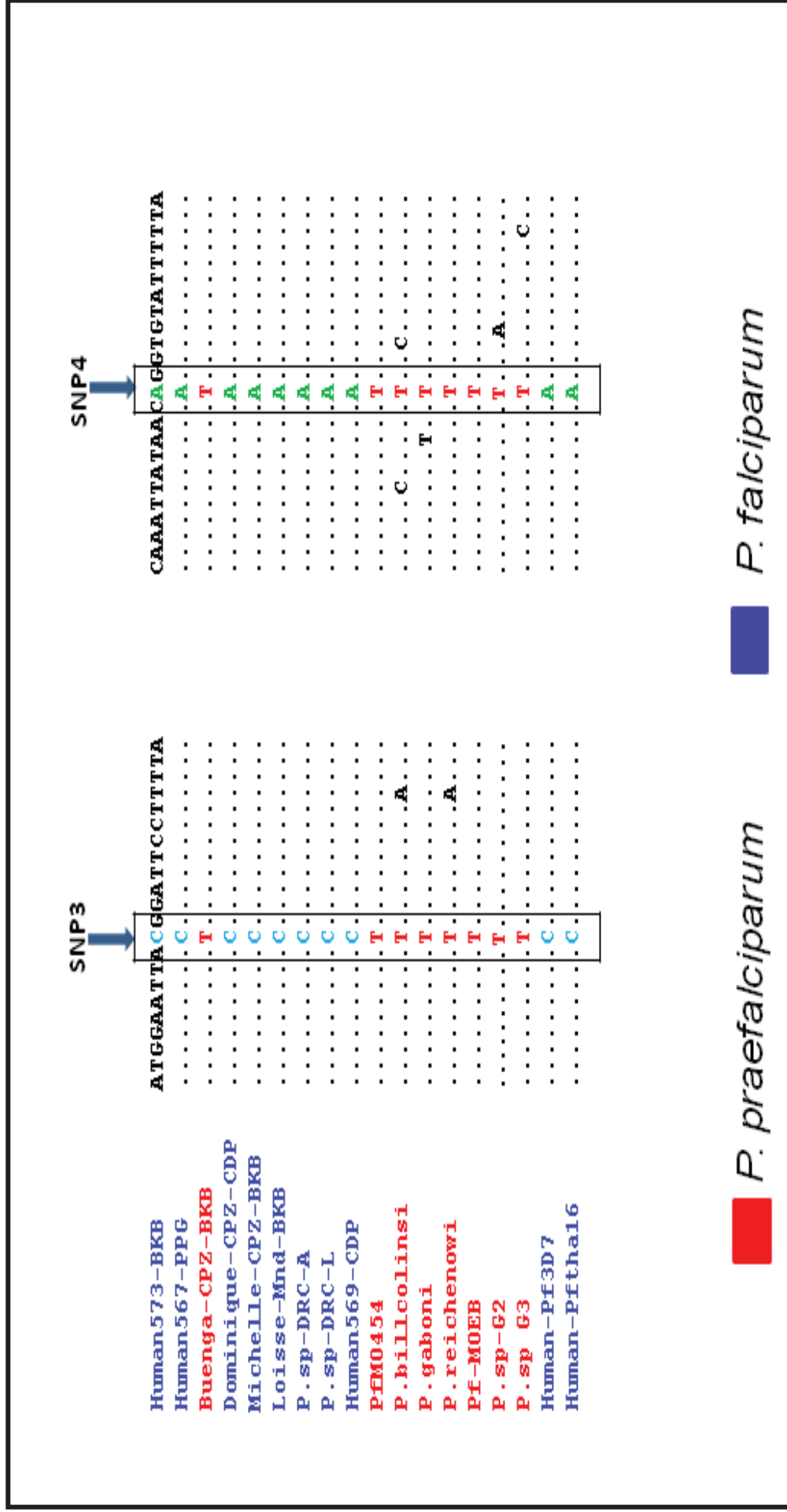
- ❖ L'organisation à la prochaine session de l'IPS<sup>18</sup> ou de l'APS<sup>19</sup> d'une table ronde pour discuter de l'utilisation des antidotiques dans les sanctuaires et autres centres de primatologie.
- ❖ Préconisez aux niveaux de l'Alliance « Grands Singes » du Gabon (AGS), de l'IPS et de l'APS, le choix de sanctuaire mono-spécifique (une seule espèce) afin de minimiser l'émergence d'espèces plasmodiales généralistes.
- ❖ Améliorer les analyses médicales du personnel des parcs jusqu'à la caractérisation des infections par des micro-organismes communément décrits chez le personnel et les PNHs.

---

<sup>18</sup> IPS : International Primatologie Society

<sup>19</sup> APS : African Primatologie Society

# Annexes



**Annexe 1 :** Analyse SNP des infections à *Plasmodium falciparum* et *Plasmodium praefalciparum* chez les hôtes inattendus. En bleu ou vert, les souches d'origine humaine, en rouge les souches d'origine animales. Les isolats étoilés (\*) sont issus de notre étude.

## **Annexe 2 : Liste des articles produit en collaboration durant les années de Thèse.**

### [Molecular identification of trypanosome species in trypanotolerant cattle from the south of Gabon.](#)

Maganga GD, Mavoungou JF, N'dilimabaka N, Moussadji Kinga IC, Mvé-Ondo B, Mombo IM, **Ngoubangoye** B, Cossic B, Mikala Okouyi CS, Souza A, Leroy EM, Kumulungui B, Ollomo B.

Parasite. 2017;24:4. doi: 10.1051

### [African Non-Human Primates Host Diverse Enteroviruses.](#)

Mombo IM, Lukashv AN, Bleicker T, Brünink S, Berthet N, Maganga GD, Durand P, Arnathau C, Boundenga L, **Ngoubangoye** B, Boué V, Liégeois F, Ollomo B, Prugnolle F, Drexler JF, Drosten C, Renaud F, Rougeron V, Leroy E.

PLoS One. 2017 Jan 12;12(1):e0169067. doi: 10.1371

### [The sun-tailed monkey \(\*Cercopithecus solatus\*\): first report of mother-infant dorsal carrying behaviour in a forest guenon, Gabon.](#)

Peggy Motsch, Carole Dilger, **Barthelemy Ngoubangoye**, Jean-Paul Gonzalez and Guillaume Le Flohic

African Journal of Ecology, 2016, doi: 10.1111

### [Relations between Spatial Distribution, Social Affiliations and Dominance Hierarchy in a Semi-Free Mandrill Population.](#)

Naud A, Chailleux E, Kestens Y, Bret C, Desjardins D, Petit O, **Ngoubangoye** B, Sueur C. Front Psychol. 2016 May 3;7:612. doi: 10.3389

### [Molecular characterization of Orf virus in goats in Gabon, Central Africa.](#)

Maganga GD, Relmy A, Bakkali-Kassimi L, **Ngoubangoye** B, Tsoumbou T, Bouchier C, N'Dilimabaka N, Leroy EM, Zientara S, Berthet N.

Virol J. 2016 May 13;13:79. doi: 10.1186

### [Morbid attraction to leopard urine in \*Toxoplasma\*-infected chimpanzees.](#)

Poirotte C, Kappeler PM, **Ngoubangoye** B, Bourgeois S, Moussodji M, Charpentier MJ. Curr Biol. 2016 Feb 8;26(3):R98-9. doi: 10.1016

### [Modes of transmission of Simian T-lymphotropic Virus Type 1 in semi-captive mandrills \(\*Mandrillus sphinx\*\).](#)

Roussel M, Pontier D, **Ngoubangoye** B, Kazanji M, Verrier D, Fouchet D.

Vet Microbiol. 2015 Sep 30;179(3-4):155-61. doi: 10.1016

### [Malaria-like symptoms associated with a natural \*Plasmodium reichenowi\* infection in a chimpanzee.](#)

Herbert A, Boundenga L, Meyer A, Moukodoum DN, Okouga AP, Arnathau C, Durand P, Magnus J, **Ngoubangoye** B, Willaume E, Ba CT, Rougeron V, Renaud F, Ollomo B, Prugnolle F.

Malar J. 2015 May 28;14:220. doi: 10.1186/s12936-015-0743-y.

### [Quantifying transmission by stage of infection in the field: the example of SIV-1 and STLV-1 infecting mandrills.](#)

Roussel M, Pontier D, Kazanji M, **Ngoubangoye** B, Mahieux R, Verrier D, Fouchet D.

Am J Primatol. 2015 Mar;77(3):309-18. doi: 10.1002/

[Loss of memory CD4+ T-cells in semi-wild mandrills \(\*Mandrillus sphinx\*\) naturally infected with species-specific simian immunodeficiency virus SIVmnd-1.](#)

Greenwood EJ, Schmidt F, Liégeois F, Kondova I, Herbert A, **Ngoubangoye B**, Rouet F, Heeney JL.

J Gen Virol. 2014 Jan;95(Pt 1):201-12. doi: 10.1099

[Social structure of a semi-free ranging group of mandrills \(\*Mandrillus sphinx\*\): a social network analysis.](#)

Bret C, Sueur C, **Ngoubangoye B**, Verrier D, Deneubourg JL, Petit O.

PLoS One. 2013 Dec 10;8(12):e83015. doi: 10.1371

[Diversity, host switching and evolution of \*Plasmodium vivax\* infecting African great apes.](#)

Prugnotte F, Rougeron V, Becquart P, Berry A, Makanga B, Rahola N, Arnathau C, **Ngoubangoye B**, Menard S, Willaume E, Ayala FJ, Fontenille D, Ollomo B, Durand P, Paupy C, Renaud F.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 May 14;110(20):8123-8. doi: 10.1073

[Human-associated \*Staphylococcus aureus\* strains within great ape populations in Central Africa \(Gabon\).](#)

Nagel M, Dischinger J, Türck M, Verrier D, Oedenkoven M, **Ngoubangoye B**, Le Flohic G, Drexler JF, Bierbaum G, Gonzalez JP.

Clin Microbiol Infect. 2013 Nov;19(11):1072-7. doi: 10.1111

## **Annexe 3: Communications scientifiques**

### **❖ Communications orales**

**Barthélemy Ngoubangoye**, Larson Boundenga, François Renaud, David Fouchet, Dominique Pontier, Franck Prugnolle  
Risque infectieux zoonotique lié à la conservation de primates non humains (PNH)  
URL : <http://primatologie.revues.org/1523> ; DOI : 10.4000/primatologie.1523  
Kinshasa, RDC, Novembre 2013.

Michel Halbwax and **Barthélemy Ngoubangoye**  
Approche holistique dans l'implantation d'un sanctuaire de chimpanzés (*Pan troglodytes*) au Gabon  
<http://primatologie.revues.org/2471> ; DOI : 10.4000/primatologie.2471  
Strasbourg, France, Octobre 2015.

### **❖ Poster**

**Barthélemy Ngoubangoye**, Larson Boundenga, François Renaud, David Fouchet, Dominique Pontier, Franck Prugnolle  
The transfers of *Laverania Plasmodium* in primate sanctuaries  
International Primatological Society and the American Society of Primatologists  
DOI: 10.13140/RG.2.2.24616.16640  
Chicago, USA, Aout 2016



# Références Bibliographiques

- Abdulgader, S.M., Shittu, A.O., Nicol, M.P., Kaba, M., 2015. Molecular epidemiology of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Africa: a systematic review. *Frontiers in microbiology* 6, 348. DOI : 10.4000/primatologie.1178
- Duval, L., Fourment, M., Nerrienet, E., Rousset, D., Sadeuh, S.A., Goodman, S.M., Andriaholinirina, N.V., Randrianariveolosia, M., Paul, R.E., Robert, V., Ayala, F.J., Arley, F., 2010. African apes as reservoirs of *Plasmodium falciparum* and the origin and diversification of the *Laverania* subgenus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, 10561-10566.
- Eadie, J.M., Fryxell, J.M., 1992. Density dependence, frequency dependence, and alternative nesting strategies in goldeneyes. *American Naturalist*, 621-641.
- Egyir, B., Guardabassi, L., Esson, J., Nielsen, S.S., Newman, M.J., Addo, K.K., Larsen, A.R., 2014. Insights into nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in an urban and a rural community in Ghana. *PLoS one* 9, e96119.
- Egyir, B., Guardabassi, L., Nielsen, S.S., Larsen, J., Addo, K.K., Newman, M.J., Larsen, A.R., 2013. Prevalence of nasal carriage and diversity of *Staphylococcus aureus* among inpatients and hospital staff at Korle Bu Teaching Hospital, Ghana. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 1, 189-193.
- El-Sayed, A., Alber, J., Lämmle, C., Abdulmawjood, A., Zschöck, M., Castaneda, V.H., 2006. Comparative sequence analysis of spa gene of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis: characterization of an unusual spa gene variant. *Journal of dairy research* 73, 322-327.
- El Karamany, R., Imam, I., 1990. Antibodies to lymphocytic choriomeningitis virus in wild rodent sera in Egypt. *Journal of hygiene, epidemiology, microbiology, and immunology* 35, 97-103.
- Enright, M.C., Day, N.P., Davies, C.E., Peacock, S.J., Spratt, B.G., 2000. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology* 38, 1008-1015.
- Escalante, A.A., Cornejo, O.E., Freeland, D.E., Poe, A.C., Durrego, E., Collins, W.E., Lal, A.A., 2005. A monkey's tale: the origin of *Plasmodium vivax* as a human malaria parasite. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 1980-1985.
- Escutenaire, S., Pastoret, P., 2000. Hantavirus infections. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* 19, 64-78.
- Espinosa-Gongora, C., Chrobak, D., Moodley, A., Bertelsen, M.F., Guardabassi, L., 2012. Occurrence and distribution of *Staphylococcus aureus* lineages among zoo animals. *Veterinary microbiology* 158, 228-231.
- Essa, Z.I., Connolly, C., Essack, S.Y., 2009. *Staphylococcus aureus* from public hospitals in KwaZulu-Natal, South Africa-infection detection and strain-typing: original research. *Southern African Journal of Epidemiology and Infection* 24, 4-7.
- Estrada, A., Garber, P.A., Rylands, A.B., Roos, C., Fernandez-Duque, E., Di Fiore, A., Nekaris, K.A.-I., Nijman, V., Heymann, E.W., Lambert, J.E., 2017. Impending extinction crisis of the world's primates: Why primates matter. *Science Advances* 3, e1600946.
- Euzéby, J., 2009. List of prokaryotic names with standing in nomenclature (LPSN). Formerly list of bacterial names with standing in nomenclature (LBSN).
- Ezenwa, V.O., 2004. Host social behavior and parasitic infection: a multifactorial approach. *Behavioral Ecology* 15, 446-454.
- Falk, K., Batts, W., Kvellestad, A., Kurath, G., Wiik-Nielsen, J., Winton, J., 2008. Molecular characterisation of Atlantic salmon paramyxovirus (ASPV): a novel paramyxovirus associated with proliferative gill inflammation. *Virus research* 133, 218-227.
- Fall, C., Richard, V., Dufougeray, A., Biron, A., Seck, A., Laurent, F., Breurec, S., 2014. *Staphylococcus aureus* nasal and pharyngeal carriage in Senegal. *Clinical Microbiology and Infection* 20, O239-O241.
- Fall, C., Seck, A., Richard, V., Ndour, M., Sembene, M., Laurent, F., Breurec, S., 2012. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* in pigs and farmers in the largest farm in Dakar, Senegal. *Foodborne pathogens and disease* 9, 962-965.
- Fang, H., Hedin, G., Li, G., Nord, C., 2008. Genetic diversity of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in southern Stockholm, 2000-2005. *Clinical Microbiology and Infection* 14, 370-376.

- Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U., Ball, L.A., 2005. Virus taxonomy: VIIIth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press.
- Feil, E.J., Cooper, J.E., Grundmann, H., Robinson, D.A., Enright, M.C., Berendt, T., Peacock, S.J., Smith, J.M., Murphy, M., Spratt, B.G., Moore, C.E., Day, N.P., 2003. How clonal is *Staphylococcus aureus*? *Journal of bacteriology* 185, 3307-3316.
- Field, H., 2008. Hendra re-visited. *Virologica Sinica* 24, 105-109.
- Field, H., Young, P., Yob, J.M., Mills, J., Hall, L., Mackenzie, J., 2001. The natural history of Hendra and Nipah viruses. *Microbes Infect* 3, 307-314.
- Fleming, T.H., 1992. How do fruit- and nectar-feeding birds and mammals track their food resources?
- Fleming, T.H., Eby, P., Kunz, T., Fenton, M., 2003. Ecology of bat migration. *Bat ecology*, 156-208.
- Folstad, I., Karter, A.J., 1992. Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. *American Naturalist*, 603-622.
- Frenay, H.M., Bunschoten, A.E., Schouls, L.M., van Leeuwen, W.J., Vandenbroucke-Grauls, C.M., Verhoef, J., Mooi, F.R., 1996. Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the basis of protein A gene polymorphism. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology 15, 60-64.
- Fru-Cho, J., Bumah, V.V., Safeukui, I., Nkuo-Akenji, T., Titanji, V.P., Haldar, K., 2014. Molecular typing reveals substantial *Plasmodium vivax* infection in asymptomatic adults in a rural area of Cameroon. *Malaria journal* 13, 170.
- Galicia, M.M., Buenrostro, A., Garcia, J., 2014. [Specific bacterial diversity in bats of different food guilds in Southern sierra Oaxaca, Mexico]. *Revista de biologia tropical* 62, 1673-1681.
- Gangrade, B., Dominic, C., 1984. Studies of the male-originating pheromones involved in the Whitten effect and Bruce effect in mice. *Biology of reproduction* 31, 89-96.
- Gargas, A., Trest, M., Christensen, M., Volk, T.J., Blehert, D., 2009. *Geomyces destructans* sp. nov. associated with bat white-nose syndrome. *Mycotaxon* 108, 147-154.
- Gautier-Hion, A., 1975. Dimorphisme sexuel et organisation sociale chez les cercopithecines forestiers africains. *Mammalia* 39, 365-374.
- Gautier-Hion, A., Colyn, M., Gautier, J.-P., Dewynter, M., Bouchain, C., 1999. Histoire naturelle des primates d'Afrique Centrale. *Ecofac Libreville, Gabon*.
- Genest-Villard, H., 1978. Radio-tracking of a small rodent, *Hybomys univittatus*, in an African equatorial forest. *Bull. Carnegie Mus. Nat. Hist* 6, 92-96.
- Genest-Villard, H. 1980. Régime alimentaire des rongeurs myomorphes de forêt équatoriale (région de M'Baiki, République Centrafricaine). In *Mammalia*, 423.
- Genton, C., Cristescu, R., Gatti, S., Levrero, F., Bigot, E., Caillaud, D., Pierre, J.-S., Menard, N., 2012. Recovery potential of a western lowland gorilla population following a major Ebola outbreak: results from a ten year study. *PloS one* 7, e37106.
- Gessain, A., Rua, R., Betsem, E., Turpin, J., Mahieux, R., 2013. HTLV-3/4 and simian foamy retroviruses in humans: discovery, epidemiology, cross-species transmission and molecular virology. *Virology* 435, 187-199.
- Gilardi, K., Gillespie, T., Leendertz, F., Macfie, E., Travis, D., Whittier, C., Williamson, E., 2015. Best practice guidelines for health monitoring and disease control in great ape populations. *Occasional Papers of the IUCN Species Survival Commission*.
- Gillespie, T.R., Nunn, C.L., Leendertz, F.H., 2008. Integrative approaches to the study of primate infectious disease: implications for biodiversity conservation and global health. *American journal of physical anthropology* 137, 53-69.
- Gillet, Y., Issartel, B., Vanhems, P., Fournet, J.-C., Lina, G., Bes, M., Vandenesch, F., Piémont, Y., Brousse, N., Floret, D., 2002. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *The Lancet* 359, 753-759.
- Goering, R.V., McDougal, L.K., Fosheim, G.E., Bonnstetter, K.K., Wolter, D.J., Tenover, F.C., 2007. Epidemiologic distribution of the arginine catabolic mobile element among selected methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates. *Journal of clinical microbiology* 45, 1981-1984.
- Goldberg, T.L., Gillespie, T.R., Rwego, I.B., Estoff, E.L., Chapman, C.A., 2008a. Forest fragmentation as cause of bacterial transmission among nonhuman primates, humans, and livestock, Uganda. *Forest*.

- Goldberg, T.L., Gillespie, T.R., Rwego, I.B., Estoff, E.L., Chapman, C.A., 2008b. Forest fragmentation as cause of bacterial transmission among nonhuman primates, humans, and livestock, Uganda. *Emerging infectious diseases* 14, 1375-1382.
- Goldberg, T.L., Gillespie, T.R., Rwego, I.B., Wheeler, E., Estoff, E.L., Chapman, C.A., 2007. Patterns of gastrointestinal bacterial exchange between chimpanzees and humans involved in research and tourism in western Uganda. *Biological Conservation* 135, 511-517.
- Golding, G.R., Bryden, L., Levett, P.N., McDonald, R.R., Wong, A., Wylie, J., Graham, M.R., Tyler, S., Van Domselaar, G., Simor, A.E., 2010. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sequence type 398 in humans, Canada. *Emerging infectious diseases* 16, 587-594.
- Gomez, P., Gonzalez-Barrio, D., Benito, D., Garcia, J.T., Vinuela, J., Zarazaga, M., Ruiz-Fons, F., Torres, C., 2014. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carrying the *mecC* gene in wild small mammals in Spain. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 69, 2061-2064.
- Gonzalez, J.P., Prugnolle, F., Leroy, E., 2013. Men, primates, and germs: an ongoing affair. *Current topics in microbiology and immunology* 365, 337-353.
- Goodman, S., Hutterer, R., Ngnegueu, P., 2001. A report on the community of shrews (Mammalia: Soricidae) occurring in the Minkebe Forest, northeastern Gabon. *Mammalian Biology* 66, 22-+.
- Grall, N., Barraud, O., Wieder, I., Hua, A., Perrier, M., Babosan, A., Gaschet, M., Clermont, O., Denamur, E., Catzefflis, F., 2015. Lack of dissemination of acquired resistance to  $\beta$ -lactams in small wild mammals around an isolated village in the Amazonian forest. *Environmental microbiology reports* 7, 698-708.
- Grassé, P.P., 1953. *Traité de zoologie: anatomie, systématique, biologie. Phylogénie Protozoaires: Rhizopodes, Actinopodes, Sporozoaires, Cnidosporidies.* Masson et cie.
- Gu, S.H., Lim, B.K., Kadjo, B., Arai, S., Kim, J.A., Nicolas, V., Lalis, A., Denys, C., Cook, J.A., Dominguez, S.R., Holmes, K.V., Urushadze, L., Sidamonidze, K., Putkaradze, D., Kuzmin, I.V., Kosoy, M.Y., Song, J.W., Yanagihara, R., 2014. Molecular phylogeny of hantaviruses harbored by insectivorous bats in Cote d'Ivoire and Vietnam. *Viruses* 6, 1897-1910.
- Guernier, V., Hochberg, M.E., Guégan, J.-F., 2004. Ecology drives the worldwide distribution of human diseases. *PLoS Biol* 2, e141.
- Guerra, C.A., Howes, R.E., Patil, A.P., Gething, P.W., Van Boeckel, T.P., Temperley, W.H., Kabaria, C.W., Tatem, A.J., Manh, B.H., Elyazar, I.R., 2010. The international limits and population at risk of *Plasmodium vivax* transmission in 2009. *PLoS neglected tropical diseases* 4, e774.
- Guindon, S., Delsuc, F., Dufayard, J.F., Gascuel, O., 2009. Estimating maximum likelihood phylogenies with PhyML. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 537, 113-137.
- Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., Gascuel, O., 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic biology* 59, 307-321.
- Habig, B., Archie, E.A., 2015. Social status, immune response and parasitism in males: a meta-analysis. *Phil. Trans. R. Soc. B* 370, 20140109.
- Haenni, M., Saras, E., Châtre, P., Médaille, C., Bes, M., Madec, J.-Y., Laurent, F., 2011. A USA300 variant and other human-related methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains infecting cats and dogs in France. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, dkr499.
- Haenni, M., Targant, H., Forest, K., Sévin, C., Tapprest, J., Laugier, C., Madec, J.-Y., 2010. Retrospective study of necropsy-associated coagulase-positive staphylococci in horses. *Journal of veterinary diagnostic investigation* 22, 953-956.
- Hahn, B.H., Shaw, G.M., De Cock, K.M., Sharp, P.M., 2000. AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. *Science (New York, N.Y.)* 287, 607-614.
- Hamilton, W.D., Zuk, M., 1982. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science (New York, N.Y.)* 218, 384-387.
- Hansen, M.C., Stehman, S.V., Potapov, P.V., Loveland, T.R., Townshend, J.R., DeFries, R.S., Pittman, K.W., Arunarwati, B., Stolle, F., Steining, M.K., 2008. Humid tropical forest clearing from 2000 to 2005 quantified by using multitemporal and multiresolution remotely sensed data. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 9439-9444.
- Hanssen, A.-M., Sollid, J.U.E., 2006. SCCmec in staphylococci: genes on the move. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 46, 8-20.

- Harris, A., Forouhar, F., Qiu, S., Sha, B., Luo, M. 2001. The crystal structure of the influenza matrix protein M1 at neutral pH: M1-M1 protein interfaces can rotate in the oligomeric structures of M1. In: International Congress Series, 405-410.
- Harrison, M.J., 1988. A new species of guenon (genus *Cercopithecus*) from Gabon. *Journal of Zoology* 215, 561-575.
- Hartwig, W.C., 2002. The primate fossil record, Vol 33. Cambridge University Press.
- Haurez, B., Petre, C.-A., Doucet, J.-L., 2013. Impacts de l'exploitation forestière et de la chasse sur les populations de gorille des plaines de l'Ouest (*Gorilla gorilla gorilla*) et conséquences pour la régénération forestière (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 17, 364-372.
- Hausfater, G., Watson, D., 1976. Social and reproductive correlates of parasite ova emissions by baboons.
- Hayman, D.T., Fooks, A.R., Horton, D., Suu-Ire, R., Breed, A.C., Cunningham, A.A., Wood, J.L., 2008. Antibodies against Lagos bat virus in megachiroptera from West Africa. *Emerging infectious diseases* 14, 926.
- Heinemann, P., Tia, M., Alabi, A., Anon, J.C., Auste, B., Essbauer, S., Gnionsahe, A., Kigninman, H., Klempa, B., Kraef, C., Kruger, N., Leendertz, F.H., Ndhatz-Sanogo, M., Schaumburg, F., Witkowski, P.T., Akoua-Koffi, C.G., Kruger, D.H., 2016. Human infections by non-rodent associated hantaviruses in Africa. *The Journal of infectious diseases*.
- Herbert, A., Boundenga, L., Meyer, A., Moukodoum, D.N., Okouga, A.P., Arnathau, C., Durand, P., Magnus, J., Ngoubangoye, B., Willaume, E., Ba, C.T., Rougeron, V., Renaud, F., Ollomo, B., Prugnolle, F., 2015. Malaria-like symptoms associated with a natural *Plasmodium reichenowi* infection in a chimpanzee. *Malaria journal* 14, 220.
- Hill, J.E., Smith, J.D., 1984. *Bats: a natural history*. Cambridge Univ Press.
- Himsworth, C.G., Miller, R.R., Montoya, V., Hoang, L., Romney, M.G., Al-Rawahi, G.N., Kerr, T., Jardine, C.M., Patrick, D.M., Tang, P., 2014. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by wild urban Norway rats (*Rattus norvegicus*). *PLoS one* 9, e87983.
- Hoar, B.R., Chomel, B.B., Argazz, R.F., Colley, P.A., 1998. Zoonoses and potential zoonoses transmitted by bats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 212, 1714-1720.
- Holmes, A., Ganner, M., McGuane, S., Pitt, T., Cookson, B., Kearns, A., 2005. *Staphylococcus aureus* isolates carrying Panton-Valentine leucocidin genes in England and Wales: frequency, characterization, and association with clinical disease. *Journal of clinical microbiology* 43, 2384-2390.
- Holmes, E.C., Zhang, Y.Z., 2015. The evolution and emergence of hantaviruses. *Current opinion in virology* 10, 27-33.
- Holt, R., 1969. The classification of staphylococci from colonized ventriculo-atrial shunts. *Journal of clinical pathology* 22, 475-482.
- Honacki, J.H., Kinman, K.E., Koeppl, J.W., 1982. *Mammals species of the world; a taxonomic and geographic reference*.
- Hookey, J.V., Richardson, J.F., Cookson, B.D., 1998. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. *Journal of clinical microbiology* 36, 1083-1089.
- Hsu, V.P., Hossain, M.J., Parashar, U.D., Ali, M.M., Ksiazek, T.G., Kuzmin, I., Niezgod, M., Rupprecht, C., Bresee, J., Breiman, R.F., 2004. Nipah virus encephalitis reemergence, Bangladesh. *Emerging infectious diseases* 10, 2082-2087.
- Huang, Y.C., Ho, C.F., Chen, C.J., Su, L.H., Lin, T.Y., 2008. Comparative molecular analysis of community-associated and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children in northern Taiwan. *Clinical Microbiology and Infection* 14, 1167-1172.
- Hyatt, A.D., Selleck, P.W., 1996. Ultrastructure of equine morbillivirus. *Virus research* 43, 1-15.
- Ito, T., Katayama, Y., Hiramatsu, K., 1999. Cloning and nucleotide sequence determination of the entire *mec* DNA of pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* N315. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 43, 1449-1458.
- IUCN, 2014. *Regional Action Plan for the Conservation of Western Lowland Gorillas and Central Chimpanzees 2015-*
2025. Gland, Switzerland: IUCN SSC Primate Specialist Group. 56 pp.



- Jack, P.J., Boyle, D.B., Eaton, B.T., Wang, L.-F., 2005. The complete genome sequence of J virus reveals a unique genome structure in the family Paramyxoviridae. *Journal of virology* 79, 10690-10700.
- Jánoska, M., Vidovszky, M., Molnár, V., Liptovszky, M., Harrach, B., Benkő, M., 2011. Novel adenoviruses and herpesviruses detected in bats. *The Veterinary Journal* 189, 118-121.
- Jarraud, S., Mougel, C., Thioulouse, J., Lina, G., Meugnier, H., Forey, F., Nesme, X., Etienne, J., Vandenesch, F., 2002. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infection and immunity* 70, 631-641.
- Jarvis, J., 1981. Eusociality in a mammal: cooperative breeding in naked mole-rat colonies. *Science (New York, N.Y.)* 212, 571-573.
- Jean Wickings, E., Ambrose, L., K Bearder, S., 1998. Sympatric populations of *Galagoides demidoff* and *Galagoides thomasi* in the Haut-Ogooué region of Gabon. *Folia Primatologica* 69, 389-393.
- Jemiolo, B., Harvey, S., Novotny, M., 1986. Promotion of the Whitten effect in female mice by synthetic analogs of male urinary constituents. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83, 4576-4579.
- Jones, K.E., Patel, N.G., Levy, M.A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J.L., Daszak, P., 2008. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 451, 990-993.
- Jun, M., 1976. Studies on a virus isolated from wild mice (*Mus musculus*). MS James Cook University, Townsville, Queensland, Australia.
- Jun, M., Karabatsos, N., Johnson, R., 1977. A new mouse paramyxovirus (J virus). *The Australian journal of experimental biology and medical science* 55, 645-647.
- Kaessmann, H., Wiebe, V., Weiss, G., Pääbo, S., 2001. Great ape DNA sequences reveal a reduced diversity and an expansion in humans. *Nature genetics* 27, 155-156.
- Kaiser, M., Löwa, A., Ulrich, M., Ellerbrok, H., Goffe, A.S., Blasse, A., Zommers, Z., Couacy-Hymann, E., Babweteera, F., Zuberbühler, K., 2010. Wild chimpanzees infected with 5 *Plasmodium* species.
- Katakweba, A.S., Muhairwa, A.P., Espinosa-Gongora, C., Guardabassi, L., Mtambo, M.M.A., Olsen, J.E., 2016. spa typing and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* from healthy humans, pigs and dogs in Tanzania. *Journal of infection in developing countries* 10, 143-148.
- Katayama, Y., Ito, T., Hiramatsu, K., 2000. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 44, 1549-1555.
- Kateete, D.P., Namazzi, S., Okee, M., Okeng, A., Baluku, H., Musisi, N.L., Katabazi, F.A., Joloba, M.L., Ssentongo, R., Najjuka, F.C., 2011. High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the surgical units of Mulago hospital in Kampala, Uganda. *BMC research notes* 4, 326.
- Kaur, T., Singh, J., Tong, S., Humphrey, C., Clevenger, D., Tan, W., Szekely, B., Wang, Y., Li, Y., Alex Muse, E., 2008. Descriptive epidemiology of fatal respiratory outbreaks and detection of a human-related metapneumovirus in wild chimpanzees (*Pan troglodytes*) at Mahale Mountains National Park, Western Tanzania. *American journal of primatology* 70, 755-765.
- Kaw Bing, C., Chua, B.H., Wang, C.W., 2002. Anthropogenic deforestation, El Niiio and the emergence of Nipah virus in Malaysia.
- Kazakova, S.V., Hageman, J.C., Matava, M., Srinivasan, A., Phelan, L., Garfinkel, B., Boo, T., McAllister, S., Anderson, J., Jensen, B., 2005. A clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among professional football players. *New England Journal of Medicine* 352, 468-475.
- Kechrid, A., Pérez-Vázquez, M., Smaoui, H., Hariga, D., Rodríguez-Baños, M., Vindel, A., Baquero, F., Cantón, R., Del Campo, R., 2011. Molecular analysis of community-acquired methicillin-susceptible and resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered from bacteraemic and osteomyelitis infections in children from Tunisia. *Clinical Microbiology and Infection* 17, 1020-1026.
- Keele, B.F., Van Heuverswyn, F., Li, Y., Bailes, E., Takehisa, J., Santiago, M.L., Bibollet-Ruche, F., Chen, Y., Wain, L.V., Liegeois, F., Loul, S., Ngole, E.M., Bienvenue, Y., Delaporte, E., Brookfield, J.F., Sharp, P.M., Shaw, G.M., Peeters, M., Hahn, B.H., 2006. Chimpanzee reservoirs of pandemic and nonpandemic HIV-1. *Science (New York, N.Y.)* 313, 523-526.

- Keesing, F., Belden, L.K., Daszak, P., Dobson, A., Harvell, C.D., Holt, R.D., Hudson, P., Jolles, A., Jones, K.E., Mitchell, C.E., 2010. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature* 468, 647-652.
- Keita, M.B., Hamad, I., Bittar, F., 2014. Looking in apes as a source of human pathogens. *Microbial pathogenesis* 77, 149-154.
- King, M.D., Humphrey, B.J., Wang, Y.F., Kourbatova, E.V., Ray, S.M., Blumberg, H.M., 2006. Emergence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA 300 clone as the predominant cause of skin and soft-tissue infections. *Annals of internal medicine* 144, 309-317.
- Klevens, R.M., Morrison, M.A., Nadle, J., Petit, S., Gershman, K., Ray, S., Harrison, L.H., Lynfield, R., Dumyati, G., Townes, J.M., Craig, A.S., Zell, E.R., Fosheim, G.E., McDougal, L.K., Carey, R.B., Fridkin, S.K., 2007. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *Jama* 298, 1763-1771.
- Klimpel, S., Förster, M., Schmahl, G., 2007. Parasite fauna of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*) in an urban region of Germany: reservoir host of zoonotic metazoan parasites? *Parasitology research* 102, 69-75.
- Kloos, W., Zimmerman, R., Smith, R., 1976. Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. *Applied and environmental microbiology* 31, 53-59.
- Kluytmans, J., Van Belkum, A., Verbrugh, H., 1997a. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clinical microbiology reviews* 10, 505-520.
- Kluytmans, J., van Belkum, A., Verbrugh, H., 1997b. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clinical microbiology reviews* 10, 505-520.
- Kobayashi, S.D., DeLeo, F.R., 2013. *Staphylococcus aureus* protein A promotes immune suppression. *mBio* 4, e00764-00713.
- Kokko, H., Ranta, E., Ruxton, G., Lundberg, P., 2002. Sexually transmitted disease and the evolution of mating systems. *Evolution* 56, 1091-1100.
- Köndgen, S., Kühl, H., N'Goran, P.K., Walsh, P.D., Schenk, S., Ernst, N., Biek, R., Formenty, P., Mätz-Rensing, K., Schweiger, B., 2008. Pandemic human viruses cause decline of endangered great apes. *Current Biology* 18, 260-264.
- Koreen, L., Ramaswamy, S.V., Graviss, E.A., Naidich, S., Musser, J.M., Kreiswirth, B.N., 2004. spa typing method for discriminating among *Staphylococcus aureus* isolates: implications for use of a single marker to detect genetic micro- and macrovariation. *Journal of clinical microbiology* 42, 792-799.
- Kouomou, D.W., Nerrienet, E., Mfoupouendoun, J., Tene, G., Whittle, H., Wild, T.F., 2002. Measles virus strains circulating in Central and West Africa: Geographical distribution of two B3 genotypes. *Journal of medical virology* 68, 433-440.
- Kreiswirth, B., Kornblum, J., Arbeit, R.D., Eisner, W., Maslow, J.N., McGeer, A., Low, D.E., Novick, R.P., 1993. Evidence for a clonal origin of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *SCIENCE-NEW YORK THEN WASHINGTON*- 259, 227-227.
- Krief, S., Escalante, A.A., Pacheco, M.A., Mugisha, L., Andre, C., Halbwax, M., Fischer, A., Krief, J.M., Kasenene, J.M., Cranfield, M., Cornejo, O.E., Chavatte, J.M., Lin, C., Letourneur, F., Gruner, A.C., McCutchan, T.F., Renia, L., Snounou, G., 2010. On the diversity of malaria parasites in African apes and the origin of *Plasmodium falciparum* from Bonobos. *PLoS pathogens* 6, e1000765.
- Krzywanek, K., Metz-Gercek, S., Mittermayer, H., 2009. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from human patients, upper Austria. *Emerging infectious diseases* 15, 766-769.
- Kuhn, G., Francioli, P., Blanc, D., 2006. Evidence for clonal evolution among highly polymorphic genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of bacteriology* 188, 169-178.
- Kuhn, G., Francioli, P., Blanc, D., 2007. Double-locus sequence typing using *clfB* and *spa*, a fast and simple method for epidemiological typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of clinical microbiology* 45, 54-62.
- Kumar, S., 2003. Inadequate research facilities fail to tackle mystery disease. *BMJ: British Medical Journal* 326, 12.
- Kunz, T.H., Lumsden, L.F., Kunz, T., Fenton, M., 2003. Ecology of cavity and foliage roosting bats. *Bat ecology*, 3-89.



- Kunz, T.H., Parsons, S. 2009. *Ecological and Behavioral Methods for the Study of Bats* [2nd (Johns Hopkins University Press)].
- Kuzmin, I.V., Niezgodá, M., Franka, R., Agwanda, B., Markotter, W., Breiman, R.F., Shieh, W.-J., Zaki, S.R., Rupprecht, C.E., 2010. Marburg virus in fruit bat, Kenya. *Emerging infectious diseases* 16, 352-355.
- Lallemant, Y.J., d'Alfort, É.N.V., 1987. Contribution à l'étude de l'influence de la vitamine A sur la reproduction et le post-partum de la rate. *Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort*.
- Lamb, R.A., Parks, G. D. , 2007. *Paramyxoviridae: The viruses and their replication*. . Fields Virology, eds DM Knipe and PM Howley (Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia) 5th Ed, , pp 1449-1496.
- Lamikanra, A., Paul, B.D., Akinwole, O.B., Paul, M.O., 1985. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in a population of healthy Nigerian students. *Journal of medical microbiology* 19, 211-216.
- Landry, S.O., 1970. The Rodentia as omnivores. *The Quarterly Review of Biology* 45, 351-372.
- Langreth, S.G., Jensen, J.B., Reese, R.T., Trager, W., 1978. Fine structure of human malaria in vitro. *The Journal of protozoology* 25, 443-452.
- Lau, S.K., Woo, P.C., Li, K.S., Huang, Y., Tsoi, H.-W., Wong, B.H., Wong, S.S., Leung, S.-Y., Chan, K.-H., Yuen, K.-Y., 2005. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 14040-14045.
- le Fichoux, Y., Quaranta, J.-F., Aueuvre, J.-P., Lelievre, A., Marty, P., Suffia, I., Rousseau, D., Kubar, J., 1999. Occurrence of *Leishmania infantum* parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in southern France. *Journal of clinical microbiology* 37, 1953-1957.
- LeBreton, M., Switzer, W.M., Djoko, C.F., Gillis, A., Jia, H., Sturgeon, M.M., Shankar, A., Zheng, H., Nkeunen, G., Tamoufe, U., Nana, A., Le Doux Dikko, J., Tafon, B., Kiyang, J., Schneider, B.S., Burke, D.S., Wolfe, N.D., 2014. A gorilla reservoir for human T-lymphotropic virus type 4. *Emerging microbes & infections* 3, e7.
- Lederberg, J., Shope, R.E., Oaks Jr, S.C., 1992. *Emerging infections: microbial threats to health in the United States*. National Academies Press.
- Ledesma, J., 2009. Independent Lineage of Lymphocytic Choriomeningitis Virus in Wood Mice (*Apodemus sylvaticus*), Spain-Volume 15, Number 10—October 2009-*Emerging Infectious Disease journal-CDC*.
- Leendertz, F.H., Pauli, G., Maetz-Rensing, K., Boardman, W., Nunn, C., Ellerbrok, H., Jensen, S.A., Junglen, S., Christophe, B., 2006. Pathogens as drivers of population declines: the importance of systematic monitoring in great apes and other threatened mammals. *Biological Conservation* 131, 325-337.
- Leroy, E.M., Epelboin, A., Mondonge, V., Pourrut, X., Gonzalez, J.P., Muyembe-Tamfum, J.J., Formenty, P., 2009. Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector borne and zoonotic diseases* (Larchmont, N.Y.) 9, 723-728.
- Leroy, E.M., Kumulungui, B., Pourrut, X., Rouquet, P., Hassanin, A., Yaba, P., Délicat, A., Paweska, J.T., Gonzalez, J.-P., Swanepoel, R., 2005. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature* 438, 575-576.
- Leroy, E.M., Rouquet, P., Formenty, P., Souquiere, S., Kilbourne, A., Froment, J.M., Bermejo, M., Smit, S., Karesh, W., Swanepoel, R., Zaki, S.R., Rollin, P.E., 2004. Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of central African wildlife. *Science (New York, N.Y.)* 303, 387-390.
- Li, W., Shi, Z., Yu, M., Ren, W., Smith, C., Epstein, J.H., Wang, H., Crameri, G., Hu, Z., Zhang, H., Zhang, J., McEachern, J., Field, H., Daszak, P., Eaton, B.T., Zhang, S., Wang, L.F., 2005. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science (New York, N.Y.)* 310, 676-679.
- Li, Z., Yu, M., Zhang, H., Magoffin, D.E., Jack, P.J., Hyatt, A., Wang, H.-Y., Wang, L.-F., 2006. Beilong virus, a novel paramyxovirus with the largest genome of non-segmented negative-stranded RNA viruses. *Virology* 346, 219-228.
- Lien, J.C., Cross, J.H., 1968. *Plasmodium* (*Vinckeia*) *watteni* sp. n. from the Formosan giant flying squirrel, *Petaurista petaurista grandis*. *The Journal of parasitology*, 1171-1174.

- Lina, G., Piémont, Y., Godail-Gamot, F., Bes, M., Peter, M.-O., Gauduchon, V., Vandenesch, F., Etienne, J., 1999. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clinical Infectious Diseases* 29, 1128-1132.
- Liu, G.Y., Essex, A., Buchanan, J.T., Datta, V., Hoffman, H.M., Bastian, J.F., Fierer, J., Nizet, V., 2005. *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. *The Journal of experimental medicine* 202, 209-215.
- Liu, W., Li, Y., Learn, G.H., Rudicell, R.S., Robertson, J.D., Keele, B.F., Ndjango, J.B., Sanz, C.M., Morgan, D.B., Locatelli, S., Gonder, M.K., Kranzusch, P.J., Walsh, P.D., Delaporte, E., Mpoudi-Ngole, E., Georgiev, A.V., Muller, M.N., Shaw, G.M., Peeters, M., Sharp, P.M., Rayner, J.C., Hahn, B.H., 2010. Origin of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in gorillas. *Nature* 467, 420-425.
- Liu, W., Li, Y., Shaw, K.S., Learn, G.H., Plenderleith, L.J., Malenke, J.A., Sundararaman, S.A., Ramirez, M.A., Crystal, P.A., Smith, A.G., Bibollet-Ruche, F., Ayouba, A., Locatelli, S., Esteban, A., Mouacha, F., Guichet, E., Butel, C., Ahuka-Mundeke, S., Inogwabini, B.I., Ndjango, J.B., Speede, S., Sanz, C.M., Morgan, D.B., Gonder, M.K., Kranzusch, P.J., Walsh, P.D., Georgiev, A.V., Muller, M.N., Piel, A.K., Stewart, F.A., Wilson, M.L., Pusey, A.E., Cui, L., Wang, Z., Farnert, A., Sutherland, C.J., Nolder, D., Hart, J.A., Hart, T.B., Bertolani, P., Gillis, A., LeBreton, M., Tafon, B., Kiyang, J., Djoko, C.F., Schneider, B.S., Wolfe, N.D., Mpoudi-Ngole, E., Delaporte, E., Carter, R., Culleton, R.L., Shaw, G.M., Rayner, J.C., Peeters, M., Hahn, B.H., Sharp, P.M., 2014. African origin of the malaria parasite *Plasmodium vivax*. *Nature communications* 5, 3346.
- Loehle, C., 1995. Social barriers to pathogen transmission in wild animal populations. *Ecology* 76, 326-335.
- Löffler, B., Hussain, M., Grundmeier, M., Brück, M., Holzinger, D., Varga, G., Roth, J., Kahl, B.C., Proctor, R.A., Peters, G., 2010. *Staphylococcus aureus* panton-valentine leukocidin is a very potent cytotoxic factor for human neutrophils. *PLoS pathogens* 6, e1000715.
- Lorenz, J.G., Jackson, W.E., Beck, J.C., Hanner, R., 2005. The problems and promise of DNA barcodes for species diagnosis of primate biomaterials. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 360, 1869-1877.
- Lowy, F.D., 1998. *Staphylococcus aureus* infections. *New England journal of medicine* 339, 520-532.
- Lowy, F.D., 2003. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *The Journal of clinical investigation* 111, 1265-1273.
- Luby, S.P., Gurley, E.S., Hossain, M.J., 2009. Transmission of human infection with Nipah virus. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 49, 1743-1748.
- Ludlow, M., Rennick, L.J., Nambulli, S., de Swart, R.L., Duprex, W.P., 2014. Using the ferret model to study morbillivirus entry, spread, transmission and cross-species infection. *Current opinion in virology* 4, 15-23.
- Luis, A.D., Hayman, D.T., O'Shea, T.J., Cryan, P.M., Gilbert, A.T., Pulliam, J.R., Mills, J.N., Timonin, M.E., Willis, C.K., Cunningham, A.A. 2013. A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: are bats special? In: *Proc. R. Soc. B*, 20122753.
- Lund, G., Tyrrell, D., Bradley, R., Scraba, D., 1984. The molecular length of measles virus RNA and the structural organization of measles nucleocapsids. *Journal of general virology* 65, 1535-1542.
- Lutz, H.L., Patterson, B.D., Peterhans, J.C.K., Stanley, W.T., Webala, P.W., Gnoske, T.P., Hackett, S.J., Stanhope, M.J., 2016. Diverse sampling of East African haemosporidians reveals chiropteran origin of malaria parasites in primates and rodents. *Molecular phylogenetics and evolution* 99, 7-15.
- Macfie, E.J., Williamson, E.A., 2010. Best practice guidelines for great ape tourism. IUCN.
- Mackenstedt, U., Jenkins, D., Romig, T., 2015. The role of wildlife in the transmission of parasitic zoonoses in peri-urban and urban areas. *International journal for parasitology. Parasites and wildlife* 4, 71-79.
- Madec, J.-Y., Haenni, M., 2010. Les staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM) chez les animaux en France : Prévalence et résistances associées.
- Maganga, G.D., 2012. Identification et caractérisation des virus à ARN potentiellement pathogènes pour l'homme chez les populations de chauves-souris d'Afrique Centrale. Montpellier 2,

- Maganga, G.D., Bourgarel, M., Ella, G.E., Drexler, J.F., Gonzalez, J.P., Drosten, C., Leroy, E.M., 2011. Is Marburg virus enzootic in Gabon? *The Journal of infectious diseases* 204 Suppl 3, S800-803.
- Maganga, G.D., Bourgarel, M., Obame Nkoghe, J., N'Dilimabaka, N., Drosten, C., Paupy, C., Morand, S., Drexler, J.F., Leroy, E.M., 2014a. Identification of an unclassified paramyxovirus in *Coleura afra*: a potential case of host specificity. *PLoS one* 9, e115588.
- Maganga, G.D., Iroungou, B.A., Bole-Feyssot, C., Leroy, E.M., Ndouo, F.S.T., Berthet, N., 2014b. Complete genome sequence of mumps virus genotype G from a vaccinated child in Franceville, southeastern Gabon, in 2013. *Genome announcements* 2, e00972-00914.
- Maganga, G.D., Verrier, D., Zerbinati, R.M., Drosten, C., Drexler, J.F., Leroy, E.M., 2013. Molecular typing of PPRV strains detected during an outbreak in sheep and goats in south-eastern Gabon in 2011. *Virology* 10, 82.
- Maiolino, S., Boyer, D.M., Rosenberger, A., 2011. Morphological correlates of the grooming claw in distal phalanges of platyrrhines and other primates: a preliminary study. *The Anatomical Record* 294, 1975-1990.
- Majolo, B., de Bortoli Vizioli, A., Schino, G., 2008. Costs and benefits of group living in primates: group size effects on behaviour and demography. *Animal Behaviour* 76, 1235-1247.
- Makanga, B., Yangari, P., Rahola, N., Rougeron, V., Elguero, E., Boundenga, L., Moukodoum, N.D., Okouga, A.P., Arnathau, C., Durand, P., 2016. Ape malaria transmission and potential for ape-to-human transfers in Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201603008.
- Mangombi, J., Brouat, C., Loiseau, A., Banga, O., Leroy, E., Bourgarel, M., Duplantier, J.M., 2016. Urban population genetics of the invasive black rats in Franceville, Gabon. *Journal of Zoology*.
- Manguin, S., Carnevale, P., Mouchet, J., Coosemans, M., Julvez, J., Richard-Lenoble, D., Sircoulon, J., 2008. Biodiversity of malaria in the world.
- Marschang, R.E., Papp, T., Frost, J.W., 2009. Comparison of paramyxovirus isolates from snakes, lizards and a tortoise. *Virus research* 144, 272-279.
- Marshall, A.G., 1983. Bats, flowers and fruit: evolutionary relationships in the Old World. *Biological journal of the Linnean Society* 20, 115-135.
- Marshall, A.G., Williams, A.N.M., 1982. Ecological observations on epomorphine fruit-bats (Megachiroptera) in West African savanna woodland. *Journal of Zoology* 198, 53-67.
- Martin, M.J., Rayner, J.C., Gagneux, P., Barnwell, J.W., Varki, A., 2005. Evolution of human-chimpanzee differences in malaria susceptibility: relationship to human genetic loss of N-glycolylneuraminic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 12819-12824.
- Mawili-Mboumba, D.P., Bouyou-Akotet, M.K., Kombila, M., 2011. [Parental administration of unprescribed antimalarial drugs to treat febrile children in Gabon]. *Sante (Montrouge, France)* 21, 127-131.
- Mboumba, J.-F., Nicolas, V., Colyn, M., Deleporte, P., 2012. The phylogeography of *Lemniscomys striatus* (Rodentia: Muridae) confirms a remarkable vicariant event in neighbouring savanna populations in Central Gabon. *African Zoology* 47, 285-293.
- McCracken, G.F., Wilkinson, G.S., 2000. Bat mating systems. *Reproductive biology of bats* 12, 3-5.
- McGhee, R.B., 1949. The occurrence of bat malaria in the New Hebrides and Philippine Islands. *Journal of Parasitology* 3.
- Meerburg, B., Jacobs-Reitsma, W., Wagenaar, J., Kijlstra, A., 2006. Presence of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. in wild small mammals on organic farms. *Applied and environmental microbiology* 72, 960-962.
- Mellmann, A., Weniger, T., Berssenbrugge, C., Rothganger, J., Sammeth, M., Stoye, J., Harmsen, D., 2007. Based Upon Repeat Pattern (BURP): an algorithm to characterize the long-term evolution of *Staphylococcus aureus* populations based on spa polymorphisms. *BMC microbiology* 7, 98.
- Millar, S.B., Cox-Singh, J., 2015. Human infections with *Plasmodium knowlesi*—zoonotic malaria. *Clinical Microbiology and Infection* 21, 640-648.
- Miller, L.G., Eells, S.J., Taylor, A.R., David, M.Z., Ortiz, N., Zychowski, D., Kumar, N., Cruz, D., Boyle-Vavra, S., Daum, R.S., 2012. *Staphylococcus aureus* colonization among household contacts of patients with skin infections: risk factors, strain discordance, and complex ecology. *Clinical Infectious Diseases* 54, 1523-1535.

- Miller, L.H., Mason, S.J., Clyde, D.F., McGinniss, M.H., 1976. The resistance factor to Plasmodium vivax in blacks: the Duffy-blood-group genotype, FyFy. *New England Journal of Medicine* 295, 302-304.
- Miller, P.J., Boyle, D.B., Eaton, B.T., Wang, L.-F., 2003. Full-length genome sequence of Mossman virus, a novel paramyxovirus isolated from rodents in Australia. *Virology* 317, 330-344.
- Molnár, V., Jánoska, M., Harrach, B., Glávits, R., Pálmai, N., Rigó, D., Sós, E., Liptovszky, M., 2008. Detection of a novel bat gammaherpesvirus in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica* 56, 529-538.
- Mombo, L.-E., Ntoumi, F., Bisseye, C., Ossari, S., Lu, C.Y., Nagel, R.L., Krishnamoorthy, R., 2003. Human genetic polymorphisms and asymptomatic plasmodium falciparum malaria in Gabonese school children. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 68, 186-190.
- Monadjem, A., Taylor, P.J., Cotterill, W., Schoeman, M., 2010. Bats of southern and central Africa: a biogeographic and taxonomic synthesis. Wits University Press Johannesburg.
- Money, V.A., McPhee, H.K., Mosely, J.A., Sanderson, J.M., Yeo, R.P., 2009. Surface features of a Mononegavirales matrix protein indicate sites of membrane interaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 4441-4446.
- Mooring, M.S., Hart, B.L., 1992. Animal grouping for protection from parasites: selfish herd and encounter-dilution effects. *Behaviour* 123, 173-193.
- Moran, G.J., Amii, R.N., Abrahamian, F.M., Talan, D.A., 2005. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in community-acquired skin infections. *Emerging infectious diseases* 11, 928-930.
- Moran, G.J., Krishnadasan, A., Gorwitz, R.J., Fosheim, G.E., McDougal, L.K., Carey, R.B., Talan, D.A., 2006. Methicillin-resistant S. aureus infections among patients in the emergency department. *New England Journal of Medicine* 355, 666-674.
- Morris, D.O., Rook, K.A., Shofer, F.S., Rankin, S.C., 2006. Screening of Staphylococcus aureus, Staphylococcus intermedius, and Staphylococcus schleiferi isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003-04). *Veterinary dermatology* 17, 332-337.
- Morse, S.S., 1996. Emerging viruses. Oxford University Press on Demand.
- Mouinga-Ondeme, A., Caron, M., Nkoghe, D., Telfer, P., Marx, P., Saib, A., Leroy, E., Gonzalez, J.P., Gessain, A., Kazanji, M., 2012. Cross-species transmission of simian foamy virus to humans in rural Gabon, Central Africa. *Journal of virology* 86, 1255-1260.
- Mraidi, R., 2014. Modélisation et contrôle de la transmission du virus de la maladie de Newcastle dans les élevages aviaires familiaux de Madagascar.
- Mu, J., Joy, D.A., Duan, J., Huang, Y., Carlton, J., Walker, J., Barnwell, J., Beerli, P., Charleston, M.A., Pybus, O.G., 2005. Host switch leads to emergence of Plasmodium vivax malaria in humans. *Molecular biology and evolution* 22, 1686-1693.
- Mudakikwa, A.B., Cranfield, M.R., Sleeman, J., Eilenberger, U., 2001. Clinical medicine, preventive health care and research on mountain gorillas in the Virunga Volcanoes region. *CAMBRIDGE STUDIES IN BIOLOGICAL AND EVOLUTIONARY ANTHROPOLOGY*, 341-360.
- Muehlenbein, M.P., Campbell, B.C., Richards, R.J., Watts, D.P., Svec, F., Falkenstein, K.P., Murchison, M.A., Myers, L., 2005. Leptin, adiposity, and testosterone in captive male macaques. *American journal of physical anthropology* 127, 335-341.
- Muehlenbein, M.P., Watts, D.P., 2010. The costs of dominance: testosterone, cortisol and intestinal parasites in wild male chimpanzees. *BioPsychoSocial Medicine* 4, 1.
- Murakami, K., Minamide, W., Wada, K., Nakamura, E., Teraoka, H., Watanabe, S., 1991. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *Journal of clinical microbiology* 29, 2240-2244.
- Murray, K., Selleck, P., Hooper, P., Hyatt, A., 1995. A morbillivirus that caused fatal disease in horses and humans. *Science (New York, N.Y.)* 268, 94.
- Musser, J.M., Kapur, V., 1992. Clonal analysis of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains from intercontinental sources: association of the mec gene with divergent phylogenetic lineages implies dissemination by horizontal transfer and recombination. *Journal of clinical microbiology* 30, 2058-2063.
- N'dilimabaka, N., Berthet, N., Rougeron, V., Mangombi, J.B., Durand, P., Maganga, G.D., Bouchier, C., Schneider, B.S., Fair, J., Renaud, F., Leroy, E.M., 2015. Evidence of lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) in domestic mice in Gabon: risk of emergence of LCMV encephalitis in Central Africa. *Journal of virology* 89, 1456-1460.



- Nadine, N., Berthet, N., Rougeron, V., Mangombi, J.B., Durand, P., Maganga, G.D., Bouchier, C., Schneider, B.S., Fair, J., Renaud, F., 2015. Evidence of lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) in domestic mice in Gabon: risk of emergence of LCMV encephalitis in Central Africa. *Journal of virology* 89, 1456-1460.
- Nagel, M., Dischinger, J., Turck, M., Verrier, D., Oedenkoven, M., Ngoubangoye, B., Le Flohic, G., Drexler, J.F., Bierbaum, G., Gonzalez, J.P., 2013. Human-associated *Staphylococcus aureus* strains within great ape populations in Central Africa (Gabon). *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 19, 1072-1077.
- Ngoubangoye, B., Boundenga, L., Arnathau, C., Mombo, I.M., Durand, P., Tsoumbou, T.-A., Otoro, B.V., Sana, R., Okouga, A.-P., Moukodoum, N., 2016. The host specificity of ape malaria parasites can be broken in confined environments. *International journal for parasitology* 46, 737-744.
- Nicolas, V., Akpatou, B., Wendelen, W., KERBIS PETERHANS, J., Olayemi, A., Decher, J., MISSOUP, A.D., Denys, C., Barriere, P., Cruaud, C., 2010. Molecular and morphometric variation in two sibling species of the genus *Praomys* (Rodentia: Muridae): implications for biogeography. *Zoological Journal of the Linnean Society* 160, 397-419.
- Nicolas, V., Barrière, P., Guimondou, S., Colyn, M., 2004. Variabilité structurale des peuplements forestiers de rongeurs (Muridae) et musaraignes (Soricidae) dans les Monts Doudou, Gabon. Monts Doudou, Gabon, a floral and faunal inventory with reference to elevational variation, 107-127.
- Nicolas, V., Colyn, M., 2003. Seasonal variations in population and community structure of small rodents in a tropical forest of Gabon. *Canadian Journal of Zoology* 81, 1034-1046.
- Nicolas, V., WENDELEN, W., VERHEYEN, W., COLYN, M., 2003. Geographical distribution and morphometry of *Heimyscus fumosus* (Brosset et al., 1965), Vol 58. *Société nationale de protection de la nature et d'acclimatation de France*, Paris, FRANCE, 12 p.
- Nienhoff, U., Kadlec, K., Chaberny, I.F., Verspohl, J., Gerlach, G.-F., Schwarz, S., Simon, D., Nolte, I., 2009. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between humans and dogs: two case reports. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, dkp243.
- Nizeyi, J.B., Innocent, R.B., Erume, J., Kalema, G.R., Cranfield, M.R., Graczyk, T.K., 2001. *Campylobacteriosis*, salmonellosis, and shigellosis in free-ranging human-habituated mountain gorillas of Uganda. *Journal of Wildlife Diseases* 37, 239-244.
- Nkoghe, D., Akue, J.-P., Gonzalez, J.-P., Leroy, E.M., 2011. Prevalence of *Plasmodium falciparum* infection in asymptomatic rural Gabonese populations. *Malaria journal* 10, 33.
- Noble, W., Valkenburg, H., Wolters, C., 1967. Carriage of *Staphylococcus aureus* in random samples of a normal population. *J Hyg (Lond)* 65, 567-573.
- Nouwen, J., Boelens, H., Van Belkum, A., Verbrugh, H., 2004. Human factor in *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Infection and immunity* 72, 6685-6688.
- Novick, R., 1990. The staphylococcus as a molecular genetic system. *Molecular biology of the staphylococci*, 1-37.
- Nowak, R.M., 1994. *Walker's bats of the world*. JHU Press.
- Nunn, C., Altizer, S. 2003. Sociality and infectious disease in wild primate populations. In: *AMERICAN JOURNAL OF PHYSICAL ANTHROPOLOGY*, 160-160.
- Nunn, C.L., Dokey, A.T.-W., 2006. Ranging patterns and parasitism in primates. *Biology Letters* 2, 351-354.
- Nunn, C.L., Heymann, E.W., 2005. Malaria infection and host behavior: a comparative study of Neotropical primates. *Behav Ecol Sociobiol* 59, 30-37.
- Nutter, F., Whittier, C., Cranfield, M., Lowenstine, L. 2005. Causes of death for mountain gorillas (*Gorilla beringei beringei* and *gb* undecided) from 1968-2004: an aid to conservation programs. In: *Proceedings of the Wildlife Disease Association International Conference*. June 26-July 1, 2005, Cairns, Australia, 200-201.
- O'sullivan, J., Allworth, A., Paterson, D., Snow, T., Boots, R., Gleeson, L., Gould, A., Hyatt, A., Bradfield, J., 1997. Fatal encephalitis due to novel paramyxovirus transmitted from horses. *The Lancet* 349, 93-95.
- O'Brien, C., McSHEA, W., Guimondou, S., Barrière, P., Carleton, M., 2006. Terrestrial small mammals (Soricidae and Muridae) from the Gamba Complex of Protected Areas, Gabon: species composition and comparison of sampling techniques. Alonso, A., ME Lee, P. Campbell, OSG Pauwels et F. Dallmeier, eds., *Gamba, Gabon: Biodiversité d'une forêt équatoriale africaine*. Bulletin of the Biological Society of Washington.

- Oates, J.F., 1984. The niche of the potto, *Perodicticus potto*. *International Journal of Primatology* 5, 51-61.
- Oates, J.F., 1996. African primates : status survey and conservation action plan / compiled by John F. Oates. Gland ; Cambridge : IUCN, c1996.
- Okuda, K., Toepfner, N., Alabi, A., Arnold, B., B elard, S., Falke, U., Menschner, L., Monecke, S., Ruppelt-Lorz, A., Berner, R., 2016. Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* from Lambar en , Gabon. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 35, 1963-1973.
- Ollomo, B., Durand, P., Prugnolle, F., Douzery, E., Arnathau, C., Nkoghe, D., Leroy, E., Renaud, F., 2009. A new malaria agent in African hominids. *PLoS pathogens* 5, e1000446.
- Oosthuysen, W., Orth, H., Lombard, C., Sinha, B., Wasserman, E., 2014. Population structure analyses of *Staphylococcus aureus* at Tygerberg Hospital, South Africa, reveals a diverse population, a high prevalence of Panton-Valentine leukocidin genes, and unique local methicillin-resistant *S. aureus* clones. *Clinical Microbiology and Infection* 20, 652-659.
- Opinel, A., 2013. Les Hommes de science c el bres: Louis Pasteur (1822-1895). HEGEL [ISSN 2115-452X], 2013, 2.
- Orenstein, A., 2011. The Discovery and Naming of *Staphylococcus aureus*. Periodical [serial online]. Date. Available from.
- Otto, T.D., Rayner, J.C., Bohme, U., Pain, A., Spottiswoode, N., Sanders, M., Quail, M., Ollomo, B., Renaud, F., Thomas, A.W., Prugnolle, F., Conway, D.J., Newbold, C., Berriman, M., 2014. Genome sequencing of chimpanzee malaria parasites reveals possible pathways of adaptation to human hosts. *Nature communications* 5, 4754.
- Pacheco, M.A., Cranfield, M., Cameron, K., Escalante, A.A., 2013. Malarial parasite diversity in chimpanzees: the value of comparative approaches to ascertain the evolution of *Plasmodium falciparum* antigens. *Malaria journal* 12, 328.
- Pacheco, M.A., Reid, M.J., Schillaci, M.A., Lowenberger, C.A., Galdikas, B.M., Jones-Engel, L., Escalante, A.A., 2012. The origin of malarial parasites in orangutans. *PloS one* 7, e34990.
- Palacios, G., Lowenstine, L.J., Cranfield, M.R., Gilardi, K.V., Spelman, L., Lukasik-Braum, M., Kinani, J.-F., Mudakikwa, A., Nyirakaragire, E., Bussetti, A.V., 2011. Human metapneumovirus infection in wild mountain gorillas, Rwanda. *Emerging infectious diseases* 17, 711-714.
- Patz, J.A., Graczyk, T.K., Geller, N., Vittor, A.Y., 2000. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. *International journal for parasitology* 30, 1395-1405.
- Paupy, C., Makanga, B., Ollomo, B., Rahola, N., Durand, P., Magnus, J., Willaume, E., Renaud, F., Fontenille, D., Prugnolle, F., 2013. *Anopheles moucheti* and *Anopheles vinckei* are candidate vectors of ape *Plasmodium* parasites, including *Plasmodium praefalciparum* in Gabon. *PloS one* 8, e57294.
- Pavri, K.M., Singh, K., Hollinger, F., 1971. Isolation of a new parainfluenza virus from a frugivorous bat, *Rousettus leschenaulti*, collected at Poona, India. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 20, 125-130.
- Peeters, B.P., de Leeuw, O.S., Koch, G., Gielkens, A.L., 1999. Rescue of Newcastle disease virus from cloned cDNA: evidence that cleavability of the fusion protein is a major determinant for virulence. *Journal of virology* 73, 5001-5009.
- Peeters, M., Honore, C., Huet, T., Bedjabaga, L., Ossari, S., Bussi, P., Cooper, R.W., Delaporte, E., 1989. Isolation and partial characterization of an HIV-related virus occurring naturally in chimpanzees in Gabon. *AIDS (London, England)* 3, 625-630.
- Perelman, P., Johnson, W.E., Roos, C., Seu anez, H.N., Horvath, J.E., Moreira, M.A., Kessing, B., Pontius, J., Roelke, M., Rumpler, Y., 2011. A molecular phylogeny of living primates. *PLoS genetics* 7, e1001342.
- Perkins, S.L., 2014. Malaria's many mates: past, present, and future of the systematics of the order Haemosporida. *Journal of Parasitology* 100, 11-25.
- Perkins, S.L., Sarkar, I.N., Carter, R., 2007. The phylogeny of rodent malaria parasites: simultaneous analysis across three genomes. *Infection, Genetics and Evolution* 7, 74-83.
- Perkins, S.L., Schall, J.J., 2002. A molecular phylogeny of malarial parasites recovered from cytochrome b gene sequences. *The Journal of parasitology* 88, 972-978.
- Perret, J., Ngomo, M., 1993. Autom dication antipalustre chez les adultes consultant pour fi vre au centre hospitalier de Libreville. *Med Afr Noire* 40.
- Pimley, E.R., Bearder, S.K., Dixson, A.F., 2005. Home range analysis of *Perodicticus potto edwardsi* and *Sciurocheirus cameronensis*. *International Journal of Primatology* 26, 191-206.

- Plowright, R.K., Field, H.E., Smith, C., Divljan, A., Palmer, C., Tabor, G., Daszak, P., Foley, J.E., 2008. Reproduction and nutritional stress are risk factors for Hendra virus infection in little red flying foxes (*Pteropus scapulatus*). *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 275, 861-869.
- Pomares, C., Marty, P., Banuls, A.L., Lemichez, E., Pratlong, F., Faucher, B., Jeddi, F., Moore, S., Michel, G., Aluru, S., Piarroux, R., Hide, M., 2016. Genetic Diversity and Population Structure of *Leishmania infantum* from Southeastern France: Evaluation Using Multi-Locus Microsatellite Typing. *PLoS neglected tropical diseases* 10, e0004303.
- Porrero, M.C., Mentaberre, G., Sanchez, S., Fernandez-Llario, P., Gomez-Barrero, S., Navarro-Gonzalez, N., Serrano, E., Casas-Diaz, E., Marco, I., Fernandez-Garayzabal, J.F., Mateos, A., Vidal, D., Lavin, S., Dominguez, L., 2013. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriage in different free-living wild animal species in Spain. *Veterinary journal* (London, England : 1997) 198, 127-130.
- Poulin, R., 1996. Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male? *The American Naturalist* 147, 287-295.
- Pourrut, X., Kumulungui, B., Wittmann, T., Moussavou, G., Délicat, A., Yaba, P., Nkoghe, D., Gonzalez, J.-P., Leroy, E.M., 2005. The natural history of Ebola virus in Africa. *Microbes and infection* 7, 1005-1014.
- Pourrut, X., Souris, M., Towner, J.S., Rollin, P.E., Nichol, S.T., Gonzalez, J.-P., Leroy, E., 2009a. Large serological survey showing cocirculation of Ebola and Marburg viruses in Gabonese bat populations, and a high seroprevalence of both viruses in *Rousettus aegyptiacus*. *BMC infectious diseases* 9, 159.
- Pourrut, X., Souris, M., Towner, J.S., Rollin, P.E., Nichol, S.T., Gonzalez, J.P., Leroy, E., 2009b. Large serological survey showing cocirculation of Ebola and Marburg viruses in Gabonese bat populations, and a high seroprevalence of both viruses in *Rousettus aegyptiacus*. *BMC infectious diseases* 9, 159.
- Pouydebat, E., Berge, C., Gorce, P., Coppens, Y., 2006. La préhension chez les Primates: précision, outils et perspectives évolutives. *Comptes Rendus Palevol* 5, 597-602.
- Pratlong, F., Dedet, J.P., Marty, P., Portus, M., Deniau, M., Dereure, J., Abranches, P., Reynes, J., Martini, A., Lefebvre, M., et al., 1995. *Leishmania*-human immunodeficiency virus coinfection in the Mediterranean basin: isoenzymatic characterization of 100 isolates of the *Leishmania infantum* complex. *The Journal of infectious diseases* 172, 323-326.
- Predari, S.C., Ligozzi, M., Fontana, R., 1991. Genotypic identification of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci by polymerase chain reaction. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 35, 2568-2573.
- Prevention, C.f.D.C.a., 1998. Update: leptospirosis and unexplained acute febrile illness among athletes participating in triathlons--Illinois and Wisconsin, 1998. *Jama* 280, 1474-1475.
- Prugnolle, F., Durand, P., Neel, C., Ollomo, B., Ayala, F.J., Arnathau, C., Etienne, L., Mpoudi-Ngole, E., Nkoghe, D., Leroy, E., Delaporte, E., Peeters, M., Renaud, F., 2010. African great apes are natural hosts of multiple related malaria species, including *Plasmodium falciparum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, 1458-1463.
- Prugnolle, F., Durand, P., Ollomo, B., Duval, L., Ariey, F., Arnathau, C., Gonzalez, J.P., Leroy, E., Renaud, F., 2011a. A fresh look at the origin of *Plasmodium falciparum*, the most malignant malaria agent. *PLoS pathogens* 7, e1001283.
- Prugnolle, F., Ollomo, B., Durand, P., Yalcindag, E., Arnathau, C., Elguero, E., Berry, A., Pourrut, X., Gonzalez, J.P., Nkoghe, D., Akiana, J., Verrier, D., Leroy, E., Ayala, F.J., Renaud, F., 2011b. African monkeys are infected by *Plasmodium falciparum* nonhuman primate-specific strains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 11948-11953.
- Prugnolle, F., Rougeron, V., Becquart, P., Berry, A., Makanga, B., Rahola, N., Arnathau, C., Ngoubangoye, B., Menard, S., Willaume, E., Ayala, F.J., Fontenille, D., Ollomo, B., Durand, P., Paupy, C., Renaud, F., 2013. Diversity, host switching and evolution of *Plasmodium vivax* infecting African great apes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, 8123-8128.
- Quinn, G.A., Cole, A.M., 2007. Suppression of innate immunity by a nasal carriage strain of *Staphylococcus aureus* increases its colonization on nasal epithelium. *Immunology* 122, 80-89.



- Ramachandran, C., Ramalingam, S., Chelvam, M., 1966. A filarial parasite from the flying fox (*Pteropus vampyrus*). *The Medical journal of Malaya* 20, 338.
- Ramdani-Bouguessa, N., Bes, M., Meugnier, H., Forey, F., Reverdy, M.-E., Lina, G., Vandenesch, F., Tazir, M., Etienne, J., 2006. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the Panton-Valentine leukocidin genes in an Algiers hospital. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 50, 1083-1085.
- Rammelkamp, C.H., Maxon, T., 1942. Resistance of *Staphylococcus aureus* to the Action of Penicillin. *Experimental Biology and Medicine* 51, 386-389.
- Rannala, B., Yang, Z., 1996. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. *Journal of molecular evolution* 43, 304-311.
- Raoult, D., 2012. The apes as reservoir of human pathogens. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 18, 513.
- Rayner, J.C., Liu, W., Peeters, M., Sharp, P.M., Hahn, B.H., 2011. A plethora of *Plasmodium* species in wild apes: a source of human infection? *Trends in parasitology* 27, 222-229.
- Rich, S.M., Leendertz, F.H., Xu, G., LeBreton, M., Djoko, C.F., Aminake, M.N., Takang, E.E., Dikko, J.L., Pike, B.L., Rosenthal, B.M., Formenty, P., Boesch, C., Ayala, F.J., Wolfe, N.D., 2009. The origin of malignant malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106, 14902-14907.
- Rodhain, J. 1952. Un deuxième *Plasmodium* parasite de rongeur sauvages au Katanga. In: *Annales de la Societe Belge de Medicine Tropicale*, 275-279.
- Rodriguez, R.M., Hoffmann, F., Porter, C.A., Baker, R., 2006. La communauté de chauves-souris du champ pétrolifère de Rabi dans le Complexe d'Aires Protégées de Gamba, Gabon. *Bulletin of the biological society of Washington* 12, 149-154.
- Rolland, R., Hausfater, G., Marshall, B., Levy, S., 1985. Antibiotic-resistant bacteria in wild primates: increased prevalence in baboons feeding on human refuse. *Applied and environmental microbiology* 49, 791-794.
- Rosatte, R.C., 1987. Bat rabies in Canada: history, epidemiology and prevention. *The Canadian Veterinary Journal* 28, 754.
- Roussel, M., Pontier, D., Ngoubangoye, B., Kazanji, M., Verrier, D., Fouchet, D., 2015. Modes of transmission of Simian T-lymphotropic Virus Type 1 in semi-captive mandrills (*Mandrillus sphinx*). *Veterinary microbiology* 179, 155-161.
- Rowe, N., 1996. *Pictorial guide to the living primates*. Pogonias Press.
- Rydell, J., 2006. Bats and their insect prey at streetlights. *Ecological consequences of artificial night lighting* 2, 43-60.
- Sakwinska, O., Blanc, D.S., Lazor-Blanchet, C., Moreillon, M., Giddey, M., Moreillon, P., 2010. Ecological temporal stability of *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Journal of clinical microbiology* 48, 2724-2728.
- Sakwinska, O., Kuhn, G., Balmelli, C., Francioli, P., Giddey, M., Perreten, V., Riesen, A., Zysset, F., Blanc, D.S., Moreillon, P., 2009. Genetic diversity and ecological success of *Staphylococcus aureus* strains colonizing humans. *Applied and environmental microbiology* 75, 175-183.
- Sandosham, A., Yap, L., Omar, I., 1965. A Malaria Parasite, *Plasmodium* (*Vinckeid*) *booliati* sp. nov. from a Malayan Giant Flying Squirrel. *Medical Journal of Malaya* 20, 3-7.
- Sasaki, M., Ishii, A., Orba, Y., Thomas, Y., Hang'ombe, B.M., Moonga, L., Mweene, A.S., Ogawa, H., Nakamura, I., Kimura, T., 2013. Human parainfluenza virus type 3 in wild nonhuman primates, Zambia. *Emerging infectious diseases* 19, 1500-1503.
- Schaberg, D.R., Zervos, M.J., 1986. Intergeneric and interspecies gene exchange in gram-positive cocci. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 30, 817.
- Schaer, J., Perkins, S.L., Decher, J., Leendertz, F.H., Fahr, J., Weber, N., Matuschewski, K., 2013. High diversity of West African bat malaria parasites and a tight link with rodent *Plasmodium* taxa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, 17415-17419.
- Schaumburg, F., Alabi, A., Mombo-Ngoma, G., Kaba, H., Zoleko, R., Diop, D., Mackanga, J.R., Basra, A., Gonzalez, R., Menendez, C., 2014a. Transmission of *Staphylococcus aureus* between mothers and infants in an African setting. *Clinical Microbiology and Infection* 20, O390-O396.
- Schaumburg, F., Alabi, A.S., Kock, R., Mellmann, A., Kremsner, P.G., Boesch, C., Becker, K., Leendertz, F.H., Peters, G., 2012a. Highly divergent *Staphylococcus aureus* isolates from African non-human primates. *Environmental microbiology reports* 4, 141-146.

- Schaumburg, F., Alabi, A.S., Peters, G., Becker, K., 2014b. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Africa. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 20, 589-596.
- Schaumburg, F., Köck, R., Friedrich, A.W., Soulanoudjingar, S., Ngoa, U.A., von Eiff, C., Issifou, S., Kreamsner, P.G., Herrmann, M., Peters, G., 2011a. Population structure of *Staphylococcus aureus* from remote African Babongo Pygmies. *PLoS neglected tropical diseases* 5, e1150.
- Schaumburg, F., Mugisha, L., Kappeller, P., Fichtel, C., Kock, R., Kondgen, S., Becker, K., Boesch, C., Peters, G., Leendertz, F., 2013. Evaluation of non-invasive biological samples to monitor *Staphylococcus aureus* colonization in great apes and lemurs. *PLoS one* 8, e78046.
- Schaumburg, F., Mugisha, L., Peck, B., Becker, K., Gillespie, T.R., Peters, G., Leendertz, F.H., 2012b. Drug-resistant human *Staphylococcus aureus* in sanctuary apes pose a threat to endangered wild ape populations. *American journal of primatology* 74, 1071-1075.
- Schaumburg, F., Ngoa, U.A., Kesters, K., Kock, R., Adegnika, A.A., Kreamsner, P.G., Lell, B., Peters, G., Mellmann, A., Becker, K., 2011b. Virulence factors and genotypes of *Staphylococcus aureus* from infection and carriage in Gabon. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 17, 1507-1513.
- Schaumburg, F., Pauly, M., Anoh, E., Mossoun, A., Wiersma, L., Schubert, G., Flammen, A., Alabi, A.S., Muyembe-Tamfum, J.J., Grobusch, M.P., Karhemere, S., Akoua-Koffi, C., Couacy-Hymann, E., Kreamsner, P.G., Mellmann, A., Becker, K., Leendertz, F.H., Peters, G., 2015. *Staphylococcus aureus* complex from animals and humans in three remote African regions. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 21, 345.e341-348.
- Setchell, J.M., Jean Wickings, E., 2005. Dominance, status signals and coloration in male mandrills (*Mandrillus sphinx*). *Ethology* 111, 25-50.
- Sexton, T., Clarke, P., O'Neill, E., Dillane, T., Humphreys, H., 2006. Environmental reservoirs of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in isolation rooms: correlation with patient isolates and implications for hospital hygiene. *The Journal of hospital infection* 62, 187-194.
- Seybold, U., Kourbatova, E.V., Johnson, J.G., Halvosa, S.J., Wang, Y.F., King, M.D., Ray, S.M., Blumberg, H.M., 2006. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 genotype as a major cause of health care-associated blood stream infections. *Clinical Infectious Diseases* 42, 647-656.
- Shariati, L., Validi, M., Hashemina, A.M., Ghasemikhah, R., Kianpour, F., Karimi, A., Nafisi, M.R., Tabatabaiefar, M.A., 2016. *Staphylococcus aureus* Isolates Carrying Panton-Valentine Leucocidin Genes: Their Frequency, Antimicrobial Patterns, and Association With Infectious Disease in Shahrekord City, Southwest Iran. *Jundishapur journal of microbiology* 9.
- Sheldon, B.C., Verhulst, S., 1996. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends Ecol Evol* 11, 317-321.
- Sherein, I., Ahmed, F., Omaima, H., 2009. *Staphylococcus aureus*-A cause of fatal toxic shock syndrome in Egyptian horses (first record). *Nature and Science* 7, 79-87.
- Sherman, P.W., Seeley, T.D., Reeve, H.K., 1988. Parasites, pathogens, and polyandry in social Hymenoptera. *The American Naturalist* 131, 602-610.
- Shittu, A.O., Okon, K., Adesida, S., Oyedara, O., Witte, W., Strommenger, B., Layer, F., Nübel, U., 2011. Antibiotic resistance and molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* in Nigeria. *BMC microbiology* 11, 92.
- Shopsin, B., Gomez, M., Montgomery, S., Smith, D., Waddington, M., Dodge, D., Bost, D., Riehm, M., Naidich, S., Kreiswirth, B., 1999. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of clinical microbiology* 37, 3556-3563.
- Simmons, N.B., Geisler, J.H., 1998. Phylogenetic relationships of *Icaronycteris*, *Archaeonycteris*, *Hassianycteris*, and *Palaeochiropteryx* to extant bat lineages, with comments on the evolution of echolocation and foraging strategies in *Microchiroptera*. *Bulletin of the AMNH*; no. 235.
- Simonová, M., Fotta, M., Lauková, A., 2007. Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from rabbits. *Folia microbiologica* 52, 291.
- Singh, B., Sung, L.K., Matusop, A., Radhakrishnan, A., Shamsul, S.S., Cox-Singh, J., Thomas, A., Conway, D.J., 2004. A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *The Lancet* 363, 1017-1024.

- Skurnik, D., Ruimy, R., Andremont, A., Amorin, C., Rouquet, P., Picard, B., Denamur, E., 2006. Effect of human vicinity on antimicrobial resistance and integrons in animal faecal *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial chemotherapy* 57, 1215-1219.
- Smith, A., Jackson, M., Bagg, J., 2001. The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. *Journal of medical microbiology* 50, 940-946.
- Smith, I., Wang, L.-F., 2013. Bats and their virome: an important source of emerging viruses capable of infecting humans. *Current opinion in virology* 3, 84-91.
- Smith, M.J., Telfer, S., Kallio, E.R., Burthe, S., Cook, A.R., Lambin, X., Begon, M., 2009. Host-pathogen time series data in wildlife support a transmission function between density and frequency dependence. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 7905-7909.
- Smith, T.C., Moritz, E.D., Leedom Larson, K.R., Ferguson, D.D., 2010. The environment as a factor in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission. *Reviews on environmental health* 25, 121-134.
- Smolinski, M.S., Hamburg, M.A., Lederberg, J., 2003. *Microbial threats to health: emergence, detection, and response*. National Academies Press.
- Snounou, G., Escalante, A., Kasenene, J., Rénia, L., Gruener, A.-C., Krief, S., 2011. Malaria in hominids. *Bulletin de l'Academie nationale de medecine* 195, 1945-1954.
- Spelman, L.H., Gilardi, K.V., Lukasik-Braum, M., Kinani, J.-F., Nyirakaragire, E., Lowenstine, L.J., Cranfield, M.R., 2013. Respiratory disease in mountain gorillas (*Gorilla beringei beringei*) in Rwanda, 1990-2010: outbreaks, clinical course, and medical management. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 44, 1027-1035.
- Spencer, H., Palmer, C., Parry-Jones, K., 1991. Movements of fruit-bats in eastern Australia, determined by using radio-tracking. *Wildlife Research* 18, 463-467.
- Springfeld, C., Von Messling, V., Tidona, C.A., Darai, G., Cattaneo, R., 2005. Envelope targeting: hemagglutinin attachment specificity rather than fusion protein cleavage-activation restricts *Tupaia paramyxovirus* tropism. *Journal of virology* 79, 10155-10163.
- Stamatakis, A., Ludwig, T., Meier, H. 2004. A fast program for Maximum Likelihood-based inference of large phylogenetic trees. In: *Proceedings of the 2004 ACM symposium on applied computing*, 197-201.
- Stegger, M., Wirth, T., Andersen, P.S., Skov, R.L., De Grassi, A., Simoes, P.M., Tristan, A., Petersen, A., Aziz, M., Kiil, K., Cirkovic, I., Udo, E.E., del Campo, R., Vuopio-Varkila, J., Ahmad, N., Tokajian, S., Peters, G., Schaumburg, F., Olsson-Liljequist, B., Givskov, M., Driebe, E.E., Vigh, H.E., Shittu, A., Ramdani-Bougessa, N., Rasigade, J.P., Price, L.B., Vandenesch, F., Larsen, A.R., Laurent, F., 2014. Origin and evolution of European community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *mBio* 5, e01044-01014.
- Stern, N., Nachamkin, I., Blaser, M., Tompkins, L., 1992. Reservoirs for *Campylobacter jejuni* and approaches for intervention in poultry. *AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, DC(USA)*. 1992.
- Sulkin, S.E., Allen, R., 1974. Virus infections in bats.
- Sundararaman, S.A., Liu, W., Keele, B.F., Learn, G.H., Bittinger, K., Mouacha, F., Ahuka-Mundeke, S., Manske, M., Sherrill-Mix, S., Li, Y., Malenke, J.A., Delaporte, E., Laurent, C., Mpoudi Ngole, E., Kwiatkowski, D.P., Shaw, G.M., Rayner, J.C., Peeters, M., Sharp, P.M., Bushman, F.D., Hahn, B.H., 2013. *Plasmodium falciparum*-like parasites infecting wild apes in southern Cameroon do not represent a recurrent source of human malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, 7020-7025.
- Sussman, R.W., 1991. Primate origins and the evolution of angiosperms. *American journal of primatology* 23, 209-223.
- Swanepoel, R., 2007. Studies of reservoir hosts for Marburg virus. *Studies*.
- Szentiks, C.A., Köndgen, S., Silinski, S., Speck, S., Leendertz, F.H., 2009. Lethal pneumonia in a captive juvenile chimpanzee (*Pan troglodytes*) due to human-transmitted human respiratory syncytial virus (HRSV) and infection with *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of medical primatology* 38, 236-240.
- Talan, D.A., Krishnadasan, A., Gorwitz, R.J., Fosheim, G.E., Limbago, B., Albrecht, V., Moran, G.J., 2011. Comparison of *Staphylococcus aureus* from skin and soft-tissue infections in US emergency department patients, 2004 and 2008. *Clinical infectious diseases* 53, 144-149.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution* 28, 2731-2739.

- Tang, X., Zhang, J., Zhang, S., Wang, P., Fan, X., Li, L., Li, G., Dong, B., Liu, W., Cheung, C., 2006. Prevalence and genetic diversity of coronaviruses in bats from China. *Journal of virology* 80, 7481-7490.
- Taylor, L.H., Latham, S.M., Mark, E., 2001a. Risk factors for human disease emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 356, 983-989.
- Taylor, L.H., Latham, S.M., Woolhouse, M.E., 2001b. Risk factors for human disease emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 356, 983-989.
- Tchatchou, B., Sonwa, D.J., Ifo, S., Tiani, A.M., 2015. Déforestation et dégradation des forêts dans le Bassin du Congo: état des lieux, causes actuelles et perspectives, Vol 120. CIFOR.
- Teeling, E.C., Madsen, O., Van Den Bussche, R.A., de Jong, W.W., Stanhope, M.J., Springer, M.S., 2002. Microbat paraphyly and the convergent evolution of a key innovation in Old World rhinolophoid microbats. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, 1431-1436.
- Teeling, E.C., Scally, M., Kao, D.J., Romagnoli, M.L., Springer, M.S., Stanhope, M.J., 2000. Molecular evidence regarding the origin of echolocation and flight in bats. *Nature* 403, 188-192.
- Teeling, E.C., Springer, M.S., Madsen, O., Bates, P., O'Brien, S.J., Murphy, W.J., 2005. A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. *Science (New York, N.Y.)* 307, 580-584.
- Tenover, F.C., Goering, R.V., 2009. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain USA300: origin and epidemiology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 64, 441-446.
- Terrier, O., Cartet, G., Lina, B., 2008. La génétique inverse chez les paramyxovirus: applications et perspectives. *Virologie* 12, 15-25.
- Thomas, F., Guégan, J.-F., Renaud, F., 2012. Ecologie et Evolution des systèmes parasités.
- Thrall, P.H., Antonovics, J., Dobson, A.P., 2000. Sexually transmitted diseases in polygynous mating systems: prevalence and impact on reproductive success. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 267, 1555-1563.
- Tibayrenc, M., Bain, O., Ramachandran, C., 1979. Deux nouvelles Litomosa (Filarioidea) de chauves-souris. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, 4e Série* 1, 183-189.
- Towner, J.S., Amman, B.R., Sealy, T.K., Carroll, S.A.R., Comer, J.A., Kemp, A., Swanepoel, R., Paddock, C.D., Balinandi, S., Khristova, M.L., 2009. Isolation of genetically diverse Marburg viruses from Egyptian fruit bats. *PLoS pathogens* 5, e1000536.
- Towner, J.S., Pourrut, X., Albarino, C.G., Nkogue, C.N., Bird, B.H., Grard, G., Ksiazek, T.G., Gonzalez, J.P., Nichol, S.T., Leroy, E.M., 2007. Marburg virus infection detected in a common African bat. *PloS one* 2, e764.
- Trevejo, R.T., Rigau-Perez, J.G., Ashford, D.A., McClure, E.M., Jarquin-Gonzalez, C., Amador, J.J., de los Reyes, J.O., Gonzalez, A., Zaki, S.R., Shieh, W.J., McLean, R.G., Nasci, R.S., Weyant, R.S., Bolin, C.A., Bragg, S.L., Perkins, B.A., Spiegel, R.A., 1998. Epidemic leptospirosis associated with pulmonary hemorrhage-Nicaragua, 1995. *The Journal of infectious diseases* 178, 1457-1463.
- Tristan, A., Bes, M., Meugnier, H., Lina, G., Bozdogan, B., Courvalin, P., Reverdy, M.E., Enright, M.C., Vandenesch, F., Etienne, J., 2007. Global distribution of Pantone-Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, 2006. *Emerging infectious diseases* 13, 594-600.
- Turmelle, A., Jackson, F., Green, D., McCracken, G., Rupprecht, C., 2010. Host immunity to repeated rabies virus infection in big brown bats. *Journal of General Virology* 91, 2360-2366.
- Tutin, C.E., Fernandez, M., 1984. Nationwide census of gorilla (*Gorilla g. gorilla*) and chimpanzee (*Pan t. troglodytes*) populations in Gabon. *American journal of primatology* 6, 313-336.
- Unwin, S., Robinson, I., Schmidt, V., Colin, C., Ford, L., Humle, T., 2012. Does confirmed pathogen transfer between sanctuary workers and great apes mean that reintroduction should not occur? Commentary on "Drug-resistant human *Staphylococcus aureus* findings in sanctuary apes and its threat to wild ape populations". *American journal of primatology* 74, 1076-1083.
- Van Belkum, A., Scherer, S., Van Alphen, L., Verbrugh, H., 1998. Short-sequence DNA repeats in prokaryotic genomes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62, 275-293.
- Van de Giessen, A., van Santen-Verheuevel, M., Hengeveld, P., Bosch, T., Broens, E., Reusken, C., 2009. Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in rats living on pig farms. *Preventive veterinary medicine* 91, 270-273.
- van den Akker, E.L., Nouwen, J.L., Melles, D.C., van Rossum, E.F., Koper, J.W., Uitterlinden, A.G., Hofman, A., Verbrugh, H.A., Pols, H.A., Lamberts, S.W., 2006. *Staphylococcus aureus* nasal



- carriage is associated with glucocorticoid receptor gene polymorphisms. *Journal of Infectious Diseases* 194, 814-818.
- Van Den Berg, S., Van Wamel, W.J., Snijders, S.V., Ouwering, B., de Vogel, C.P., Boelens, H.A., Willems, R.J., Huijsdens, X.W., Verreck, F.A., Kondova, I., 2011. Rhesus macaques (*Macaca mulatta*) are natural hosts of specific *Staphylococcus aureus* lineages. *PLoS one* 6, e26170.
- Van Der Kaay, H., 1964. Description of a New Plasmodium, *Plasmodium voltaicum* Sp. Nov., Found in a Fruit-Bat, *Rousettus smithi*, in Ghana. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 58, 261-264.
- Van Hooste, W., Vaerewijck, M., 2002. Hantavirose in Europa: een literatuuroverzicht. *Tijdschrift voor Geneeskunde* 58, 105-114.
- Van Riel, J., Hiernaux-L'Hoëst, J., 1951. Description of a plasmodium found in a bat, *Rousettus leachi*. *Parasitology* 41, 270-273.
- Vandendriessche, S., Hallin, M., Catry, B., Jans, B., Deplano, A., Nonhoff, C., Roisin, S., De Mendonça, R., Struelens, M., Denis, O., 2012. Previous healthcare exposure is the main antecedent for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage on hospital admission in Belgium. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* 31, 2283-2292.
- Vandendriessche, S., Vanderhaeghen, W., Soares, F.V., Hallin, M., Catry, B., Hermans, K., Butaye, P., Haesebrouck, F., Struelens, M.J., Denis, O., 2013. Prevalence, risk factors and genetic diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carried by humans and animals across livestock production sectors. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, dkt047.
- Vautor, E., Abadie, G., Guibert, J.-M., Chevalier, N., Pepin, M., 2005. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in dairy sheep. *Veterinary microbiology* 106, 235-239.
- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.-H., Whitman, W., 2011. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes, Vol 3.* Springer Science & Business Media.
- Walsh, P.D., Abernethy, K.A., Bermejo, M., Beyers, R., De Wachter, P., Akou, M.E., Huijbregts, B., Mambounga, D.I., Toham, A.K., Kilbourn, A.M., 2003. Catastrophic ape decline in western equatorial Africa. *Nature* 422, 611-614.
- Wanaguru, M., Liu, W., Hahn, B.H., Rayner, J.C., Wright, G.J., 2013. RH5-Basigin interaction plays a major role in the host tropism of *Plasmodium falciparum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, 20735-20740.
- Wang, H.Y., Kim, S., Kim, J., Park, S.D., Uh, Y., Lee, H., 2014. Multiplex real-time PCR assay for rapid detection of methicillin-resistant staphylococci directly from positive blood cultures. *Journal of clinical microbiology* 52, 1911-1920.
- Watanabe, S., Ueda, N., Iha, K., Masangkay, J.S., Fujii, H., Alviola, P., Mizutani, T., Maeda, K., Yamane, D., Walid, A., 2009. Detection of a new bat gammaherpesvirus in the Philippines. *Virus genes* 39, 90-93.
- Waters, A., Higgins, D., McCutchan, T., 1991. *Plasmodium falciparum* appears to have arisen as a result of lateral transfer between avian and human hosts. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 88, 3140-3144.
- Webster, J.P., Macdonald, D.W., 2009. Parasites of wild brown rats (*Rattus norvegicus*) on UK farms. *Parasitology* 111, 247-255.
- Wertheim, H.F., Vos, M.C., Ott, A., van Belkum, A., Voss, A., Kluytmans, J.A., van Keulen, P.H., Vandembroucke-Grauls, C.M., Meester, M.H., Verbrugh, H.A., 2004. Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers. *The Lancet* 364, 703-705.
- Wesson, C.A., Liou, L.E., Todd, K.M., Bohach, G.A., Trumble, W.R., Bayles, K.W., 1998. *Staphylococcus aureus* Agr and Sar global regulators influence internalization and induction of apoptosis. *Infection and immunity* 66, 5238-5243.
- WHO, 2015. *WORLD MALARIA Report 2014.* 242.
- WHO, 2016. *Rapport sur le paludisme dans le monde 2015: résumé.*
- Wibbelt, G., Kurth, A., Yasmum, N., Bannert, M., Nagel, S., Nitsche, A., Ehlers, B., 2007. Discovery of herpesviruses in bats. *Journal of General Virology* 88, 2651-2655.
- Wilkinson, G.S., 1985. The social organization of the common vampire bat: II. Mating system, genetic structure, and relatedness. *Behav Ecol Sociobiol*, 123-134.
- Wilkinson, G.S., South, J.M., 2002. Life history, ecology and longevity in bats. *Aging cell* 1, 124-131.
- Wilks, C., 1990. *La conservation des écosystèmes forestiers du Gabon, Vol 14.* IUCN.
- Wilson, D.E., Reeder, D.M., 2005. *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference, Vol 1.* JHU Press.

- Witte, W., Strommenger, B., Stanek, C., Cuny, C. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in humans and animals, Central Europe (Infektionskrankheiten / Erreger).
- Wolfe, N.D., Daszak, P., Kilpatrick, A.M., Burke, D.S., 2005. Bushmeat hunting, deforestation, and prediction of zoonotic disease. *Emerging infectious diseases* 11, 1822-1827.
- Wolff, J.O., Sherman, P.W., 2008. Rodent societies: an ecological and evolutionary perspective, Vol 2008 (ISBN 978-0-226-90538-9), « Chapter 3: Male Mating Strategies in Rodents », p. 28-39. University of Chicago Press.
- Woo, P.C., Lau, S.K., Wong, B.H., Wong, A.Y., Poon, R.W., Yuen, K.-Y., 2011. Complete genome sequence of a novel paramyxovirus, Tailam virus, discovered in Sikkim rats. *Journal of virology* 85, 13473-13474.
- Wulf, M., Sørum, M., Van Nes, A., Skov, R., Melchers, W., Klaassen, C., Voss, A., 2008. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinarians: an international study. *Clinical Microbiology and Infection* 14, 29-34.
- Yaiw, K.C., Crameri, G., Wang, L., Chong, H.T., Chua, K.B., Tan, C.T., Goh, K.J., Shamala, D., Wong, K.T., 2007. Serological evidence of possible human infection with Tioman virus, a newly described paramyxovirus of bat origin. *Journal of Infectious Diseases* 196, 884-886.
- Yang, Z., 1994. Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: approximate methods. *Journal of Molecular evolution* 39, 306-314.
- Yuan, J., Zhang, Y., Li, J., Zhang, Y., Wang, L.-F., Shi, Z., 2012. Serological evidence of ebolavirus infection in bats, China. *Virology journal* 9, 1.
- Zahavi, A., 1975. Mate Selection: A Selection for a Handicap. *J. theor. Biol.* 53, 205-214.
- Zeltina, A., Bowden, T.A., Lee, B., 2016. Emerging Paramyxoviruses: Receptor Tropism and Zoonotic Potential. *PLoS pathogens* 12, e1005390.
- Zhang, G., Cowled, C., Shi, Z., Huang, Z., Bishop-Lilly, K.A., Fang, X., Wynne, J.W., Xiong, Z., Baker, M.L., Zhao, W., 2013. Comparative analysis of bat genomes provides insight into the evolution of flight and immunity. *Science (New York, N.Y.)* 339, 456-460.
- Zhou, P., Tachedjian, M., Wynne, J.W., Boyd, V., Cui, J., Smith, I., Cowled, C., Ng, J.H., Mok, L., Michalski, W.P., 2016. Contraction of the type I IFN locus and unusual constitutive expression of IFN- $\alpha$  in bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201518240.