



HAL
open science

Prévalence du parasite *Angiostrongylus cantonensis* en Haïti chez les rats et gastéropodes

Jimmy Fedna

► **To cite this version:**

Jimmy Fedna. Prévalence du parasite *Angiostrongylus cantonensis* en Haïti chez les rats et gastéropodes. Médecine humaine et pathologie. Université Bourgogne Franche-Comté, 2024. Français. NNT : 2024UBFCD017 . tel-04718032

HAL Id: tel-04718032

<https://theses.hal.science/tel-04718032v1>

Submitted on 2 Oct 2024

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.

THESE DE DOCTORAT DE L'ETABLISSEMENT UNIVERSITE BOURGOGNE
FRANCHE-COMTE

Préparée à l'Université Bourgogne-Franche-Comte,
Besançon Ecole doctorale ES (n°554)
Environnements-Santé

Doctorat Sciences de la vie et de la Santé

Prévalence du parasite *Angiostrongylus cantonensis* en Haïti chez les
rats et gastéropodes.

Par

Jimmy FEDNA

Thèse présentée et soutenue à Besançon, le 12 avril 2024.

Composition du Jury:

M. Serge Morand

*DR CNRS (IRL HealthDEEP - CNRS - Kasetsart University –
Mahidol University, Thailand)*

Rapporteur

Mme Hélène Moné

*DR CNRS (HDR), IHPE UMR-CNRS 5244
Université de Perpignan via Domitia*

Rapporteuse

Mme. Nicole Desbois-Nogard

*PharmD, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie,
Pôle de Biologie-Pathologie, Hôpital Pierre Zobda-Quitman,
CHU de la Martinique*

Examinatrice

M. Patrick Giraudoux

*Professeur émérite Université de Franche-Comté –
UMR-CNRS 6249 Chrono-environnement, Besançon*

Examineur

M. Jacques Blaise

*Dr, Professeur de Parasitologie animale, Faculté d'Agronomie
et de Médecine Vétérinaire (FAMV),
Damien, Université d'État d'Haïti (UEH).
Rattaché au labo : Groupe de Recherche en Agriculture
et Santé Publique (GRASP)/ FAMV.*

Examineur

Mme. Gudrun Bornette

DR CNRS, UMR-CNRS 6249 Chrono-environnement, Besançon

Directrice de thèse

M. Jean Hugues Henrys

*MD, Équipe de Recherche sur l'Écologie des Maladies Infectieuses
et Tropicales (EREMIT) Port-au-Prince, Haïti.*

Directeur de thèse

M. Francis Raoul

*Professeur des Universités–UMR-CNRS 6249 Chrono-environnement,
Besançon*

Codirecteur de thèse

Résumé

Ma recherche examine la prévalence et la répartition du parasite *Angiostrongylus cantonensis* en Haïti, également connu sous le nom de ver pulmonaire du rat, et qui est la première cause de méningite à éosinophiles chez l'homme dans le monde. Ce parasite a un cycle de vie complexe impliquant à la fois des hôtes définitifs (rats) et des hôtes intermédiaires (escargots et les limaces). J'ai documenté l'écologie du parasite et sa persistance deux décennies après sa découverte initiale dans le pays. Trois objectifs ont été fixés : synthétiser les connaissances sur les dimensions spatiales et écologiques d'*A. cantonensis*, déterminer sa présence et sa répartition en Haïti parmi les populations de rats et de gastéropodes à l'aide d'analyses moléculaires et morphologiques, et identifier les similitudes génétiques entre les souches haïtiennes et celles provenant d'autres régions du monde. Nous avons ciblé deux contextes écologiques contrastés : la vallée de l'Artibonite (milieu rural) et la zone urbaine de Port-au-Prince. L'échantillonnage a eu lieu pendant la saison des pluies et à la fin de la saison des pluies en raison de l'influence potentielle de la saisonnalité hydrologique sur la prévalence du parasite.

Une revue systématique utilisant la méthode PRISMA a synthétisé les connaissances existantes sur la niche écologique du parasite, en mettant l'accent sur les facteurs abiotiques et biotiques affectant sa dynamique. Soixante-dix rats ont été capturés : 23 *Rattus norvegicus* et 47 *Rattus rattus*. Sous la loupe binoculaire, nous avons récupéré des vers adultes chez seulement cinq rats (7%, 5/70) mais la détection moléculaire a révélé une prévalence d'*A. cantonensis* dans les poumons de rat de 31,4 %, (22/70), le parasite étant détecté dans quatre des huit sites, dont Port-au-Prince. La prévalence du parasite n'était pas reliée de manière significative aux variables prédictives telles que l'âge, la saison, le sexe et l'espèce de rat. Un seul haplotype COX1, le génotype II-G, a été identifié en Haïti, ce qui suggère une large répartition similaire à celle d'autres régions. La technique qPCR AcanR3990 a permis d'identifier deux échantillons positifs d'espèces de gastéropodes : *Subulina octona* à Port-au-Prince et une limace de la famille des Veronicellidae dans l'Artibonite, concordant avec la présence du parasite retrouvé chez les rats à ces endroits.

C'est la première étude sur *A. cantonensis* en Haïti portant à la fois sur les hôtes définitifs et intermédiaires. Les diagnostics moléculaires par PCR révèlent une prévalence plus élevée que l'identification morphologique, ce qui est prometteur pour l'étude systématique de la contamination potentielle des espèces hôtes. Les résultats indiquent une endémicité du parasite potentiellement principalement liée à deux

espèces de gastéropodes : l'escargot terrestre *S. octona* et les limaces Veronicellidae, ainsi que les rats *R. rattus* et *R. norvegicus*, soulignant les risques importants pour la santé des populations locales.

Abstract

My research examines the prevalence and distribution of the parasite *Angiostrongylus cantonensis*, also known as the rat lungworm, in Haiti. It is the leading cause of eosinophilic meningitis in humans worldwide. This parasite has a complex life cycle involving definitive hosts (rats) and intermediate hosts (snails and slugs). I documented the parasite's ecology and persistence two decades after its initial discovery in the country. Three objectives were set: synthesizing knowledge on the spatial and ecological dimensions of *A. cantonensis*' niche, determining its presence and distribution in Haiti among rat and gastropod populations using molecular and morphological analyses, and identifying genetic similarities between Haitian strains and those from other regions of the world. We targeted two contrasting ecological contexts: the Artibonite Valley (rural environment) and the urban area of Port-au-Prince. Sampling occurred during and at the end of the rainy season due to the potential influence of hydrological seasonality on parasite prevalence. A systematic review using the PRISMA method synthesized existing knowledge on the parasite's ecological niche, focusing on abiotic and biotic factors affecting its dynamics. Seventy rats were captured: 23 *Rattus norvegicus* and 47 *Rattus rattus*. Under a binocular loupe, we recovered adult worms from only five rats (7%, 5/70), but molecular detection revealed a prevalence of *A. cantonensis* in rat lungs of 31.4% (22/70), with the parasite detected in four of the eight sites, including Port-au-Prince. Parasite prevalence was not significantly related to predictive variables such as age, season, sex, and rat species. Only one COX1 haplotype, genotype II-G, was identified in Haiti, suggesting a widespread distribution similar to other regions. The qPCR technique AcanR3990 identified two positive samples of gastropod species: *Subulina octona* in Port-au-Prince and a Veronicellidae slug in the Artibonite, indicating the presence of the parasite found in rats at these locations. This is the first study on *A. cantonensis* in Haiti addressing both definitive and intermediate hosts. Molecular diagnostics by PCR reveal a higher prevalence than morphological identification, promising for the systematic study of potential host species contamination. Results indicate that endemicity of the parasite may primarily be linked to two gastropod species: the land snail *S. octona* and Veronicellidae slugs, as well as *R. rattus* and *R. norvegicus* rats,

highlighting significant health risks for local populations.

Rezime (en créole haïtien)

Rechèch mwen an egzamine prevalans ak distribisyon parazit *Angiostrongylus cantonensis*, ke yo rele tou ann angle "rat lungworm", ann Ayiti e li se premye koz menenjit eozinofil lakay moun nan mond lan. Parazit sa gen yon sik-de-vi ki konplèks ki enplike rat (ot definitif) ak gasteropòd (eskago, kalmason) ki se ot entèmedyè. Mwen dokimante ekoloji ak pèsistans parazit la ven lanne aprè premye dekouvèt li nan peyi a. Mwen te fikse twa objektif : sentèz konesans sou dimansyon espasyal ak ekolojik parazit la, detèmine prezans li ak distribisyon li ann Ayiti pami popilasyon rat ak gasteropòd (eskago, kalmason) gras ak analiz molekilè ak mòfolojik, epi idantifye resanblans jenetik ant souch parazit la nou jwenn ann Ayiti ak sa ki sòti nan lòt rejyon nan mond lan. Nou te vize de kontèks ekolojik diferan : vale Latibonit (anviwònman riral) ak zòn iben Pòtoprens. Echantiyonaj yo te fèt pandan sezon lapli ak nan fen sezon lapli akòz enfliyans potansyèl ke sezon lapli ta genyen sou prevalans parazit la. Nou te fè yon revi sistematik avèk metòd PRISMA pou fè sentèz konesans ki deja egziste sou nich ekolojik parazit la, ak mete aksan sou faktè abiyotik ak byotik ki afekte dinamik li yo. Nou te kaptire swasann dis rat, ladann yo venn-twa *Rattus norvegicus* ak karant-sèt *Rattus rattus*. Gras ak loup binokilè, nou te retire vè adilt yo lakay senk rat sèlman (7%, 5/70) men deteksyon molekilè revele yon prevalans *A. cantonensis* nan poumon rat ki 31.4%, (22/70). Parazit la detekte nan kat pami uit sit nou te envestige yo, ki gen ladann Pòtoprens. Varyab prediktè tankou laj, sezon, sèks ak espès rat yo pa t gen enfliyans sou prevalans parazit la. Yon sèl aplotip COX1, jenotip II-G, te idantifye ann Ayiti, sa ki sijere yon distribisyon laj menm jan ak lòt rejyon nan mond lan. Teknik qPCR ki te sible rejyon AcanR3990 nan jenom parazit la te idantifye de echantiyon pozitif nan espès gasteropòd yo; *Subulina octona* nan Pòtoprens ak yon kalmason Veronicellidae nan Latibonit, nan menm sit nou te jwenn rat yo enfekte a. Se premye deteksyon *A. cantonensis* ann Ayiti pami espès gasteropòd.

Sa a se premye etid sou *A. cantonensis* ann Ayiti ki fè sou ot definitif ak ot entèmedyè an menm tan. Diagnostik molekilè PCR revele yon prevalans ki pi wo pase idantifikasyon si nou t ap chachè vè yo sèlman ak loup binokilè a, yon rezilta enteresan pou lòt etid ki ap gen pou chachè vèa parazit nan bèt. Rezilta yo endike ke parazit la andemik ann Ayiti e li sitou lye ak de espès gasteropod: eskago terès *S. octona* ak kalmason Veronicellidae, epi de espès rat *R. rattus* ak *R. norvegicus*. Rezilta mete aksan sou risk pou sante nan popilasyon lokal yo.

Remerciements

Mes remerciements vont d'abord aux institutions qui ont rendu cette thèse de doctorat possible. Merci aux laboratoires **Chrono-environnement** et **EREMIT** (Equipe de Recherche sur l'Écologie des Maladies Infectieuses et Tropicales, Haïti) pour leur accueil et leur soutien tout au long de ces années. Mes remerciements envers **l'Ambassade de France en Haïti**, à **l'Observatoire des Sciences de l'Univers Terre Homme Environnement Temps Astronomie (OSU-THETA)**, à la **Région Bourgogne Franche Comté** pour leur soutien financier.

Ce projet de thèse de doctorat a trouvé son premier appui en la personne de Gudrun **Bornette**, ma directrice de thèse. C'est grâce à son enthousiasme et cet appui initial que ce projet, d'abord sur les zones humides et maladies infectieuses en Haïti puis sur cette zoonose angiostrongylose nerveuse humaine, a pu voir le jour. Merci infiniment Gudrun ! Mes sincères remerciements vont au Dr. Jean Hugues **Henrys**, directeur de thèse, dont l'aide logistique, moral et conseils d'orientation ont été d'une importance capitale.

Une thèse c'est une aventure à la fois intellectuelle et humaine. Francis **Raoul**, mon co-directeur de thèse est devenu aussi un ami. Francis a joué un rôle inestimable en m'offrant non seulement un encadrement académique solide comme il en a l'habitude avec ses thésardEs mais aussi une amitié sincère. Les soirées de dégustation de vin, de fêtes, de réveillons de nouvel an, de vernissages, de matches de foot, de comptage nocturnes vécues avec lui et ses amiEs : Renaud **Scheifler**, Thomas **Déforêt**, Michael **Coeurdassier** (les 4 mousquetaires), Philippe **Martin** et leurs compagnes/femmes respectives : Catherine **Raoul**, Anne Sophie **Prudent**, Laurence **Déforêt**, Laurence **Lamaze**, Anne, Chantal **Drain**, ont constitué un soutien moral essentiel et m'ont permis de ne pas me sentir seul loin de chez moi (7.311,63 km séparent Haïti et la France et entre 8 à 10 heures de vol).

A Francis et à ses amiEs je tiens à partager cette anecdote.

En 2009, alors que j'étais en Master à Toulouse (France), j'ai été appelé un jour tard dans l'après-midi par une boîte d'intérim pour aller travailler à 21 heures dans une zone industrielle dont je ne connaissais pas l'adresse précise. J'ai demandé à une femme « blanche » (le mot à son importance ici) de m'indiquer SVP l'adresse. Cette femme a choisi de me conduire de préférence à l'endroit exact. En tant qu'homme noir, me

retrouver à 21 heures dans une zone industrielle complètement déserte muni d'un bonnet contre le froid portant l'inscription NYC, correspondait aux stéréotypes de criminels, de violeurs, d'assassins associés aux hommes noirs dans les films et je me faisais peur à moi-même. Pourtant, cette femme « blanche », seule dans sa voiture avec un bébé à l'arrière, a accepté de me prendre à bord à cette heure-là. Cette expérience m'a marqué. Le jour suivant, en discutant de cette nuit avec mon ami George Eddy **Lucien**, que je remercie, il a commenté par cette phrase que je n'ai jamais oubliée : "Ce sont des gens comme ça qui t'obligent à nuancer". Quand je suis avec Francis et ses amiEs, cette histoire me revient en mémoire, ainsi que le commentaire de mon ami. Merci à vous les amiEs, vous permettez de nuancer et de continuer à croire en l'harmonie entre les hommes. Merci pour votre ouverture d'esprit et votre capacité à dépasser les préjugés. Vous êtes la preuve que l'amitié entre les humains est la meilleure stratégie, elle est évolutivement stable.

Je suis reconnaissant envers tous ceux qui ont encadré cette thèse qui ont apporté leur expertise et leur soutien sans faille : Frédéric **Grenouillet**, Romain **Borne**, Grégory **Karadjian**, Dominique **Rieffel**. Leur contribution a été importante dans la réussite de ce travail. Frédéric, peine à définir précisément son rôle dans cette thèse : tour à tour directeur ; encadrant ou simple membre du comité de thèse, tellement il s'était investi. Grand merci à toi Fred ! Sous la responsabilité de Romain, toute la partie de biologie moléculaire a été remarquablement gérée ; j'ai beaucoup appris à ses côtés. Merci Romain ! Merci à monsieur **Karadjian** pour ses questions et remarques lors des comités de thèse. Monsieur **Karadjian** a apporté des connaissances précieuses et une réflexion critique à ce travail. Ses commentaires ont grandement contribué à l'amélioration de ce travail. Un grand merci à Dominique pour son aide précieuse dans le diagnostic des rats. Sa disponibilité à m'aider, même sur des aspects personnels en dehors du cadre de la thèse, est remarquable. Une véritable amitié s'est nouée entre nous. One Love Dom !

Merci aux membres du jury, les rapporteuse, teur ; Hélène **Moné** et Serge **Morand**, examinateur, trice ; Patrick **Giraudoux** et Nicole **Desbois-Nogard**, Jacques **Blaise** d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Vos remarques, corrections et suggestions vont grandement enrichir ce travail de recherche. Merci pour votre contribution.

Merci à Antoine **Talarmin** et Séverine **Ferdinand** de l'Institut Pasteur de la Guadeloupe pour leur collaboration. Nos échanges, discussions sur les protocoles de biologie moléculaire pour la détection du parasite chez les escargots et les limaces ont été très importantes. Leur générosité en partageant leurs protocoles nous a permis de mener à bien nos propres analyses et de contribuer ainsi à l'avancement des connaissances dans ce domaine.

Mes sincères remerciements aux malacologues cubains, A.A. **Vazquez** et A. **Alba** qui ont apporté une contribution essentielle à notre étude en identifiant de manière morphologique les escargots de notre échantillon. Leurs expertises ont été précieuses pour attribuer des noms aux différentes espèces d'escargot, ce qui a enrichi notre compréhension de la diversité des hôtes intermédiaires impliqués dans le cycle de vie du parasite.

Merci à ceux et celles que j'ai rencontrés au laboratoire **Chrono-environnement**. Quentin **Devalloir**, ancien doctorant devenu docteur en écotoxicologie, avec qui j'ai partagé des échanges fructueux et des moments de détente pour alléger la pression. Nos discussions sur l'évolution selon Darwin, les statistiques, l'écotoxicologie et même les bières ont été d'une grande aide pour mes propres recherches. Je tiens à remercier également les doctorantes : Clémence **Kavira**, Ségolène **Lireux**, Colette **Gaillard**, Elia **Roulé**, Milva **Druguet Dayras** pour leur amitié et leurs encouragements. Je leur adresse mes vœux de courage et de détermination pour la suite de leur thèse. Accrochez-vous, les filles !

Fanny **Canone** et Caroline **Schaal** m'ont assisté pour la prise de photos d'escargots d'une qualité remarquable. Ces clichés de haute qualité ont été envoyés à des experts en malacologie à Cuba afin d'identifier les différentes espèces d'escargots. Merci à toutes les deux de cet appui.

Merci aux collègues d'**EREMIT** : Dr. Aude Melody **Achille**, Dr. Kenny **Moise**, Bertiny **Bourdeau**, Dr. Gérald **Lerebours**, Aurèlie Desire **Myrtil**, Dr. Wevney **Lubin**. « *La moisson est grande les ouvriers peu nombreux* ». Vous faites partie de ceux qui ne perdent pas espoir dans ce pays, qui croient en la nécessité de continuer à construire. Tenez bon !

Les mots manquent pour dire merci à mon ami, mon frère depuis 26 ans, Roubens **Duvilaire**, (alias Ben) également membre d'**EREMIT**. Ben qui a vu naître ce « rêve »

depuis nos premières années à l'université à l'École Normale Supérieure de Port-au-Prince, son évolution en un projet réalisable, partageant avec moi les désillusions et les espoirs. Ensemble, nous formons une équipe « Djanm » (mot créole pour dire fort, sérieux, robuste), les "2 mousquetaires", œuvrant pour l'enseignement et la recherche en Haïti. Merci mon frère !

À celles et ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à ce projet, je vous dis merci. Renan Anonce **Pierre-Louis**, Nicolas **Thelusma**, Mylande **Denis**, Manoucheka **Domerge**, Béatrice **Guerrier**, Guirlène **Mascary**, Elizabeth **Boisson**, Renel **Exantus**, Edelyn **Dorismond**, Fremont **Alexis**, Adrien et Maragareth **Ferdinand**, Dukernst **Biamby**, Damas **Porcena**, Joseph **Isnadin**, **Hébert** (ainsi connu) et tant d'autres dont les noms ne sont pas cités ici mais dont l'apport a été précieux. Merci pour votre soutien, qu'il ait été moral, technique, professionnel ou intime.

Isaac Newton a dit : « *Expliquer toute la nature est une tâche trop difficile pour un seul homme (ou « une seule femme », c'est nous qui l'ajoutons) ou même pour un certain âge. Il est préférable de faire un peu avec certitude et de laisser le reste aux autres qui viendront après toi....* » *Quiconque devient scientifique, animé par la curiosité du fonctionnement de la nature, bénéficiera certainement grandement du riche réservoir de découvertes faites par d'autres qui l'ont précédé* ».

Je veux rendre un hommage tout particulier aux Dr. Jacques **Blaise** et Dr. Christian **Raccurt**, pionniers de la recherche sur les zoonoses en Haïti et qui ont découvert le parasite *Angiostrongylus cantonensis* dans ce pays. Vous avez ouvert la voie et nous l'avons suivie. Nous pensons qu'avec ce travail nous avons fait encore un tout petit peu, le reste aux autres qui viendront après nous.

... mais c'est avant tout pour maman, Marie **Fedna** partie beaucoup trop tôt.

Ce travail est dédié à ma famille qui m'a toujours encouragé et soutenu dans la voie de l'éducation depuis mes années de préscolaires jusqu' ici.

Mes taties : Hélène et Olga **Aubourg**, mon oncle Raymond **Quins**, mes cousins et cousines : Khreyslove, Kharkhovitchie et Klébert **Calixte**, Murielle **Desgrottes François** et Thierry Lhee **François**. A mon père, Jean Phillippe **Prosper**.

Publications et communications sur le sujet

Publications

J. Fedna, J.H. Henrys, G. Bornette, F. Grenouillet, F. Raoul. 2024. **Transmission ecology of *Angiostrongylus cantonensis*. A systematic review.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (En révision).

J. Fedna, R. Borne, D. Rieffel, G. Bornette, J.H. Henrys, F. Grenouillet, F. Raoul. 2024. **Molecular study of the endemic status of *Angiostrongylus cantonensis* in rats in Haiti.** Parasite (Bientôt soumis).

J. Fedna, R. Borne, D. Rieffel, G. Bornette, J.H. Henrys, F. Grenouillet, F. Raoul. 2024. **First report of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) in gastropods *Subulina octona* ((Bruguière, 1789) (Mollusca: Gastropoda) and slugs Veronicellidae from Haiti.** (En préparation).

Communications

Présentation de poster

J. Fedna, R. Borne, D. Rieffel, G. Bornette, J.H. Henrys, F. Grenouillet, F. Raoul. ***Angiostrongylus cantonensis*, un pathogène endémique à Haïti ?** Congrès délocalisé de la Société Française de Parasitologie, Marrakech – 24 au 27 mai 2023.

Présentations orales

J. Fedna, R. Borne, D. Rieffel, G. Bornette, J.H. Henrys, **F. Grenouillet**, F. Raoul. **Molecular study of the endemic status of *Angiostrongylus cantonensis* in rats in Haiti.** 7th International Workshop on Tenerife. *Angiostrongylus* and Angiostrongyliasis, September 21st-22nd, 2023.

J. Fedna, R. Borne, D. Rieffel, G. Bornette, J.H. Henrys, F. Grenouillet, F. Raoul. **Molecular study of the endemic status of *Angiostrongylus cantonensis* in rats in Haiti.** "International Workshop on Infectious Neurological Syndrome of Parasitic Cause" Cuba-SNIP, "Pedro Kourí" Tropical Medicine Institute Havana, Cuba, 7 al 9 noviembre 2023.

Table des matières

Liste des figures et tableaux.....	13
A. Introduction	16
A.1 Généralités	16
A.2 Organisation du travail	18
A.3 Facteurs écologiques qui influencent la transmission des parasites : le « concept de filtre » comme cadre théorique.	19
A.3.1 Conditions pour la survie des formes libres des parasites (œufs, larves)...	20
A.3.2 Activités anthropiques et dynamique de transmission des parasites.	22
A.3.3 Dynamique parasitaire : effets des facteurs écologiques et du comportement des hôtes sur la transmission.....	25
A.4 Nématodes parasites : Généralités	28
A.4.1 Le modèle d'étude : <i>A. cantonensis</i>	29
A.4.2 Origine et distribution géographique d' <i>A. cantonensis</i>	33
A.4.3 Contexte épidémiologique global Asie, Amériques, Caraïbes, Europe	34
A.4.4 Profil épidémiologique des patients présentant des cas de méningite en Haïti.	36
A.5.1 Chez les hôtes accidentels : humains, primates et autres.	37
A.5.2 Chez les différents hôtes (définitifs, intermédiaires et paraténiques)	39
A.6 Ecologie de la transmission de l' <i>A. cantonensis</i> : Revue de littérature.....	41
A.6.1 Lacunes dans les connaissances actuelles et perspectives de recherche .	41
A.6.2 Le modèle conceptuel	43
A.6.3 Objectifs.....	44
B. Matériel et Méthodes	46
B.1 Présentation d'Haïti.....	46
B.2 Choix du département de l'Artibonite et de Port-au-Prince.....	48
B.3 Description des sites, et périodes d'échantillonnage	50
B.4 Captures et dissection des rats.....	57
B.5 Conservation et stockage des rats	60
B.6 Détermination des espèces de rats.....	60
B.7 Diagnostic et détection d' <i>A. cantonensis</i> chez les rats.....	60
C. Résultats - Articles	62
C.1 J. Fedna, J.H. Henrys, G. Bornette, F. Grenouillet, F. Raoul. 2024. Transmission ecology of <i>Angiostrongylus cantonensis</i> . A systematic review. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (En révision).	62
C.2 J. Fedna, R. Borne, D. Rieffel, G. Bornette, J.H. Henrys, F. Grenouillet, F.	

Raoul. 2024. Molecular study of the endemic status of <i>Angiostrongylus cantonensis</i> in rats in Haiti. Parasite (Bientôt soumis).	122
C.3 J. Fedna, R. Borne, D. Rieffel, G. Bornette, J.H. Henrys, F. Grenouillet, F. Raoul. 2024. First report of <i>Angiostrongylus cantonensis</i> (Nematoda: Metastrongylidae) in gastropods <i>Subulina octona</i> (Bruguière, 1789) (Mollusca: Gastropoda) and Veronicellidae from Haiti. (En préparation)	152
D. Discussion générale et Perspectives	166
E. Références bibliographiques	177
F. Annexes Photos.....	204

Liste des figures et tableaux

Figure 1 Cycle de développement d'*A. cantonensis*.

Figure 2 Carte d'Haïti avec les départements, sites de l'étude

Figure 3 Carte d'Haïti présentant ses reliefs

Figure 4a Diagramme ombrothermique de Port-au-Prince.

Figure 4b Diagramme ombrothermique de Saint-Marc (Département de l'Artibonite)

Figure 5 Classes d'occupation du sol (en%) des différents sites échantillonnés.

Figure 6 Analyses complémentaires par qPCR AcanR3990

Figure 7 Stratégie pour constituer des lots

Figure 8 Stratégie pour constituer les lots. Exemple pour 100 individus de *S. octona*.

Figure 9 Gamme étalon de la qPCR AcanR3990 à partir d'ADNg d'*A. cantonensis*

Figure 10 Courbes d'amplification qPCR pour *A. cantonensis* chez les gastéropodes de l'étude.

Figure 11 Prévalence du parasite (Maximum Likelihood Estimate) chez les espèces de gastéropodes espèce et Intervalle de confiance.

Figure 12 Echanges commerciaux entre Haïti quelques pays

Tableau 1 Tableau conceptuel de la transmission du parasite.

Tableau 2. Différents sites échantillonnés en fonction de leur niveau d'anthropisation, du contexte paysager et de l'effort d'échantillonnage.

Tableau 3. Nombre de rats capturés/ infectés par site et par espèces de rat.

Tableau 4 Différents vers soient détectés par PCR (D) ou récupérés dans les organes comme cœur (C), poumons (P), estomac (E).

Tableau 5 Echantillonnage des gastéropodes.

Tableau 6 Séquences recherchées à l'aide de BLAST.

Tableau 7 Nombre de lots d'individus en fonction de la taille de l'échantillon initial.

Avertissement !

Au-delà des frontières de cette thèse de doctorat. A propos du contexte de cette thèse.

"La science, c'est le voyage vers l'inconnu, armé du savoir et de la détermination."
(Auteur inconnu)

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude pour l'opportunité qui m'a été offerte de faire cette thèse de doctorat sur l'écologie de transmission du parasite *Angiostrongylus cantonensis*, la première cause de méningite à éosinophiles chez l'homme. Cette thèse de doctorat, financée par une bourse de l'Ambassade de France en Haïti, s'est avérée être un parcours du combattant rempli de défis et de situations compliquées.

Il est essentiel de noter que cette thèse de doctorat a été menée en Haïti de 2019 à 2023 dans un contexte socio-politique et sécuritaire complexe. Les crises socio-politiques et les problèmes d'insécurité ont profondément entravé nos efforts pour explorer intégralement tous les sites prévus dans nos protocoles. Par exemple, un site à Carrefour, une commune à la périphérie sud de Port-au-Prince dans laquelle des rats portant le parasite *A. cantonensis* ont été déjà trouvés par des chercheurs en 2002, n'a pas pu être revisitée dans notre étude en raison de la présence de gangs armés ayant coupé les voies d'accès vers cette zone.

Ce soutien financier de l'ambassade de France est soumis à une condition de présence alternée en France et en Haïti, en périodes de 6 mois. En Haïti, je ne bénéficiais donc pas de soutien financier et devais assurer ma subsistance en enseignant à la faculté. Cette situation a inévitablement impacté ma disponibilité pour cette thèse.

Les contraintes logistiques et administratives ont également entravé la progression de mon travail. Les échantillons animaux (rats et escargots) collectés en Haïti ont mis 2 ans à parvenir en France. En effet, les autorisations douanières pour le transport de ces échantillons biologiques ont été particulièrement difficiles à obtenir, retardant de manière significative mon travail de laboratoire.

D'un autre côté, les mesures restrictives mises en place pendant la période de confinement liée au Covid-19 ont entraîné d'importants ajustements. Les limitations de

déplacement et la fermeture d'institutions ont entravé l'accès à des ressources importantes, tandis que le passage au travail à distance a modifié les interactions et les échanges académiques habituels. De plus, les contraintes logistiques et émotionnelles induites par la situation sanitaire ont créé un environnement inédit, impactant le rythme de travail et les perspectives d'achèvement.

En raison de ces obstacles inattendus et de la nécessité d'ajustements continus, la durée de la thèse initialement prévue de trois ans, a dû être étendue à cinq ans pour permettre l'achèvement du travail.

Ces multiples difficultés auxquelles j'ai été confronté méritaient d'être soulignées. Malgré cela, cette thèse a été menée à bien, et les résultats obtenus apporteront je l'espère une contribution significative à la compréhension des maladies infectieuses transmises par les rats et les mollusques en général, et à l'écologie de la transmission d'*A. cantonensis* en particulier.

Mille mercis à tous ceux et celles qui ont rendu ce travail possible. "La science ne connaît pas de pays, car le savoir appartient à l'humanité, et c'est le flambeau qui éclaire le monde." - Louis Pasteur

A. Introduction

A.1 Généralités

Les parasites sont des organismes qui vivent sur, ou à l'intérieur d'autres organismes vivants, appelés hôtes, et dépendent d'eux pour leur cycle de vie, y compris la survie et la reproduction, les distinguant ainsi des organismes vivants libres (Robert Poulin 2007). Certains parasites peuvent avoir un stade de vie libre dans leur cycle, ce qui les oblige à développer des stratégies pour d'abord surmonter les contraintes environnementales et trouver l'hôte, et d'autre part surmonter les contraintes physiologiques liées à la réponse immunitaire de l'hôte, afin de s'y installer avec succès. Cela entraîne des interactions biotiques complexes entre le parasite et son hôte. Les parasites élaborent des stratégies pour rencontrer, contourner le système immunitaire ou même manipuler le comportement de l'hôte (Adamo et Hughes 2012; Lafferty et Shaw 2013) tandis que l'hôte développe des mécanismes pour résister ou tolérer le parasite. Ces pressions mutuelles peuvent conduire à des adaptations réciproques au fil du temps, résultant en une interaction durable (Gandon et Van Zandt 1998; Moné, Mouahid, et Morand 1999; Combes 2001).

Les parasites sont responsables de maladies infectieuses, appelées zoonoses, lorsqu'elles sont transmises naturellement entre les animaux vertébrés et les êtres humains, posant ainsi un problème majeur de santé publique pour les humains, et les animaux sauvages et domestiques (Mas-Coma, Valero, et Bargues 2008). Ces zoonoses, causées par divers agents pathogènes tels que des virus, des bactéries, des protistes, des champignons ou des prions, représentent 60% des maladies infectieuses, entraînant des millions de décès chaque année dans le monde, dont 43% dans les Pays en Voie de Développement (PED) (<https://www.emro.who.int/fr/about-who/rc61/zoonotic-diseases.html>, consulté le 31 juillet 2023). Environ 60 à 80% des nouvelles infections sont d'origine zoonotique, initialement dépendantes d'un réservoir animal pour leur survie (Woolhouse et Gowtage-Sequeria 2005; Jones et al. 2008). Les helminthes, une catégorie courante d'endoparasites comprenant les nématodes gastro-intestinaux, et neurotropes peuvent exercer des effets significatifs sur la santé des humains et des animaux. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a identifié divers nématodes, cestodes et trématodes comme responsables d'infections humaines importantes, avec la participation notable d'autres hôtes animaux vertébrés

(WHO 1979).

La plupart des maladies infectieuses émergent en raison d'une modification des interactions entre l'hôte et le parasite, induite par des changements dans la démographie humaine, les comportements ou la structure sociale (Jackson, Hilborn, et Thomas 2006; McGinnis et Kerans 2013). Les Helminthes, dont une partie du cycle de vie se déroule en dehors de l'hôte, sont sensibles aux caractéristiques de l'habitat et aux facteurs abiotiques tels que l'humidité et la température, influençant ainsi la survie des larves et des œufs, et affectant la prévalence, l'intensité et la distribution géographique (Brouat et al. 2007 ; Mas-Coma, Valero, et Bargues 2008). La fragmentation du paysage et l'urbanisation engendrent des interactions entre les animaux sauvages, les animaux domestiques et les êtres humains, favorisant ainsi les échanges de parasites et d'agents pathogènes (Murray et Daszak 2013). Les modifications dans le paysage et les pratiques agricoles perturbent la dynamique des populations d'hôtes animaux, ce qui a des répercussions sur la transmission des maladies (Graham et al. 2004). Par conséquent, il est crucial d'intégrer les connaissances écologiques dans les analyses des variations spatiales et temporelles des zoonoses (Graham et al. 2004).

Nous avons centré notre attention sur l'écologie de la transmission d'*Angiostrongylus cantonensis*, un nématode parasite qui est la principale cause de méningite à éosinophiles chez l'humain. Ce parasite, doté d'un cycle de vie complexe, dépend des interactions prédateur-proie pour sa transmission. Les hôtes définitifs (rongeurs) sont infectés par la consommation d'un hôte intermédiaire infecté (gastéropodes : escargots, limaces) ou d'un hôte paraténique (crustacés, lézards) qui à leur tour s'infectent par contact avec les larves infectieuses présentes dans les fèces des rats. Ainsi, il offre un modèle idéal pour explorer les mécanismes régissant la possibilité de contact entre un parasite et ses hôtes potentiels, ainsi que les facteurs influençant sa propagation et son maintien dans les écosystèmes.

Notre étude a pour objectif de rechercher la présence du parasite dans le pays et d'analyser les facteurs susceptibles de favoriser les interactions entre les rats et les gastéropodes dans le contexte du paysage haïtien. Le choix d'Haïti est justifié par la présence d'*A. cantonensis* chez les rats en milieu urbain haïtien, observée à la fin de la saison sèche et pendant la saison des pluies en 2022 (Raccurt, Blaise, et Durette-Desset 2003). De plus, l'utilisation des terres en Haïti pour l'agriculture (rizières) et

l'urbanisation crée un environnement propice à la cohabitation et à la rencontre entre rongeurs et gastéropodes (escargots, limaces) en fournissant une abondance de ressources (habitats, nourriture) pour ces deux taxons. Conformément aux principes du concept « One Health¹ » il est essentiel de décrire la dynamique de transmission des parasites, comprendre les facteurs qui influencent cette transmission, et son impact sur la santé des humains, des populations animales et des écosystèmes. Dans ce cadre, l'écologie de la transmission est une approche pertinente et qui peut fournir des outils nécessaires à la prévention des épidémies et à la conception de plans de gestion visant à limiter les risques sanitaires associés aux parasites (Stearns et Ebert 2001; TO 2010).

A.2 Organisation du travail

La première partie jette les bases théoriques de notre étude. Les différentes études citées dans cette partie nous aideront à discuter des résultats de nos recherches. Ainsi, cette première partie de ce manuscrit est dédiée au contexte et à la problématique de notre étude, en se focalisant sur le taxon d'intérêt. Elle met en évidence l'importance de l'écologie de la transmission des parasites pour comprendre les dynamiques des maladies infectieuses. Des informations générales sur les nématodes, en mettant l'accent sur notre modèle d'étude, *A. cantonensis*, sont également incluses. Cette section offre également des détails sur les méthodes de diagnostic chez les hôtes intermédiaires, paraténiques, définitifs et accidentels (humains et primates non humains). Enfin, elle explore l'origine et la distribution du parasite *A. cantonensis*, le contexte épidémiologique mondial de l'angiostrongylose nerveuse, le profil épidémiologique des cas de méningites en Haïti, et présente un modèle conceptuel guidant le choix des sites de recherche.

La deuxième partie du manuscrit est consacrée à la description du matériel et des méthodes. Elle offre une présentation d'Haïti, explique le choix des sites de l'étude, et décrit en détail les sites de recherche et les méthodologies utilisées pour l'échantillonnage de terrain et l'analyse des échantillons.

¹ (Selon [Centers for Disease Control and Prevention, CDC](https://www.cdc.gov/onehealth/basics/index.html) : One Health est une approche qui reconnaît que la santé des personnes est étroitement liée à la santé des animaux et à notre environnement commun. [...] de nombreux facteurs ont modifié les interactions entre les personnes, les animaux, les plantes et notre environnement. <https://www.cdc.gov/onehealth/basics/index.html>).

La troisième partie du manuscrit présente et discute les résultats obtenus au cours de cette étude, structurés sous forme de trois articles scientifiques à des degrés variés d'aboutissement.

La quatrième partie propose une discussion générale, analysant les résultats présentés dans la partie précédente. Elle offre également des perspectives de recherche pour les années à venir.

En annexe de ce manuscrit figurent des photos illustrant notre organisation lors des campagnes de terrain. Ces images documentent divers aspects de nos activités, notamment la fabrication et le déploiement des pièges, l'anesthésie des rats, la dissection des rats sur le terrain, des collectes d'escargots ainsi que des moments de rencontre avec les habitants des différentes localités. Ces photographies mettent en évidence l'intégration des communautés à notre projet, reflétant notre engagement envers la science participative. En outre, des clichés décrivent les manipulations effectuées en laboratoire, telles que le pesage des cristallins des rats, l'extraction d'ADN. Ces images complètent notre manuscrit en offrant un aperçu concret des différentes étapes de notre travail de recherche.

A.3 Facteurs écologiques qui influencent la transmission des parasites : le « concept de filtre » comme cadre théorique.

Combes (Combes 2001) a introduit le concept de filtre pour représenter les facteurs qui influent sur l'établissement et le succès des parasites au sein des populations hôtes. Ce concept explique les mécanismes responsables de la "restriction du spectre d'hôte". Deux filtres doivent être franchis par un parasite pour établir une interaction durable avec une espèce hôte. Le premier est le filtre de rencontre, qui définit les opportunités de rencontre entre le parasite et son hôte. Ce filtre intègre toutes les dimensions écologiques (par exemple, cohabitation, partage du même habitat au même moment) et éthologiques (comportement de l'hôte : déplacements, alimentation, défécation) de la rencontre, excluant ainsi tous les animaux qui ne peuvent pas entrer en contact avec le parasite pour des raisons écologiques ou comportementales (Combes 2001). Le deuxième est le filtre de compatibilité, qui concerne l'acceptation du parasite par l'hôte et sa survie, et englobe les traits physiologiques et immunologiques de l'hôte et du parasite.

Le filtre de compatibilité a suscité un intérêt soutenu dans la communauté scientifique

depuis plus d'une cinquantaine d'années, donnant lieu à de nombreuses recherches. En revanche, les études sur le filtre de rencontre sont plus récentes, probablement en raison de la complexité d'aborder le système parasite-hôte dans sa composante environnementale. Il est évident qu'une étude sur l'écologie de la transmission ne peut se limiter à l'examen exclusif de l'un ou l'autre des filtres. Les paragraphes suivants explorent quelques exemples de la littérature ciblés sur les nématodes, examinant divers éléments du cadre du filtre de rencontre, tout en utilisant l'écologie du paysage comme une approche pertinente pour comprendre la dynamique de la transmission des parasites nématodes.

A.3.1 Conditions pour la survie des formes libres des parasites (œufs, larves).

Un cycle parasitaire peut inclure la dispersion des formes libres des œufs ou des larves infectieuses dans le paysage. Ces formes libres doivent résister aux contraintes environnementales, étant sensibles aux facteurs abiotiques tels que les précipitations, la température et l'humidité. Les œufs ou larves, excrétés dans les selles d'un hôte infecté chez les nématodes, doivent survivre dans l'environnement jusqu'à ce qu'ils soient ingérés par un hôte compétent ou qu'ils entrent en contact avec celui-ci (Bowman et al. 2003). Le climat, qui régit les variations saisonnières de température et de précipitations, exerce une influence directe sur la survie des œufs et des larves, jouant ainsi un rôle significatif dans la transmission parasitaire (Appleton et Gouws 1996; Kutz et al. 2005 ; P. J. Hudson et al. 2006 ; Mas-Coma, Valero, et Bargues 2008 ; Kenyon et al. 2009).

Effet du climat et de la saison

Bonnell et collègues (Bonnell et al. 2016) ont analysé l'impact des conditions climatiques régionales et des caractéristiques du paysage local sur la transmission des *Trichuris* spp. chez une population de singes colobes roux dans le parc national de Kibale, en Ouganda. Ils ont constaté une corrélation linéaire entre la vitesse de propagation du parasite dans la population hôte et les variations climatiques régionales telles que l'humidité et la température. L'étude a révélé que l'adéquation du climat régional *i.e* le nombre moyen de jours qu'un groupe de dépôts d'œufs de *Trichuris* spp. qui persistera dans l'environnement dans des conditions de paysage local idéales,

avait un impact plus significatif sur les modèles de prévalence des hôtes que la sensibilité aux caractéristiques du paysage local. Les résultats indiquent que lorsque la persistance des œufs est influencée par les caractéristiques locales du paysage, le parasite démontre une résilience en se propageant principalement à travers quelques emplacements propices, formant ainsi des refuges comme des microhabitats par exemples.

Une autre étude menée par Waller et collègues (Waller et al. 2004) dans une ferme suédoise a examiné les schémas saisonniers d'infection par *Haemonchus contortus*, un nématode parasite des moutons. Cette espèce de nématode a évolué pour inhiber son développement chez les hôtes pendant l'hiver et devenir mature après la chute de l'immunité périnatale printanière. Ils ont observé un effet saisonnier, où les changements de température et de durée du jour pendant la saison de pâturage influençaient le développement qui était arrêté de *H. contortus* pour survivre aux températures froides de l'hiver.

Une idée largement répandue est que les parasites avec des cycles de vie indirects (ceux qui nécessitent obligatoirement au moins deux espèces hôtes) sont plus sensibles aux fluctuations des conditions environnementales que ceux avec des cycles de vie directs (nécessitant un seul hôte). Cette hypothèse se fonde sur la conviction que l'extinction locale d'au moins une espèce hôte obligatoire est plus probable avec des cycles de vie indirects (Robert Poulin et Morand 2005; A. Dobson et al. 2008). Molnar et collègues (Molnár, Dobson, et Kutz 2013) ont introduit le concept d'« effet refuge », suggérant que la thermorégulation comportementale « Behavioral thermoregulation² » de l'hôte intermédiaire pourrait agir comme une protection pour les stades larvaires des parasites transmis de manière indirecte, les préservant ainsi des températures extrêmes et du réchauffement climatique.

Cette étude remet en question l'idée selon laquelle les cycles de vie indirects seraient universellement plus sensibles aux changements environnementaux.

Effet de la composition du sol

Langford et Janovy (Langford et Janovy 2016) ont étudié l'écologie du ver pulmonaire

² Maintien d'une température corporelle constante en se prélassant, en s'abritant, en frissonnant, *etc.*
<https://www.encyclopedia.com/science/dictionaries-thesauruses-pictures-and-press-releases/behavioural-thermoregulation>

Rhabdias joaquinensis chez les amphibiens du Nebraska, en particulier les raisons de son absence dans l'ouest du Nebraska. Les études sur le terrain indiquent selon les auteurs une prospérité des vers le long des cours d'eau, surtout sur les rives de l'est du Nebraska. En se focalisant sur les stades libres du ver dans les excréments des hôtes et dans les sols environnants, les auteurs ont adopté une approche comparative pour expliquer cette disparité géographique. Les expériences en laboratoire, manipulant la composition, l'humidité et la température du sol, révèlent que les sols limoneux favorisent le développement des vers pulmonaires, tandis qu'une teneur élevée en argile ou en sable limite leur croissance et leur développement. Une humidité du sol inférieure à 50 % n'est pas propice au développement du ver pulmonaire. Le type de sol, la diversité bactérienne ont un impact significatif sur le développement du ver pulmonaire, la végétation basse facilitant la transmission. En s'appuyant sur d'autres études, les auteurs expliquent que de nombreux nématodes vivant dans le sol sont transférés à leurs hôtes via des touffes de végétation ascendantes et qu'un tel comportement (les vers pulmonaires infectieux montaient dans la végétation et se rassemblaient souvent en petits groupes sur la végétation) semble augmenter les possibilités de transmission et offre des micro habitats favorables aux nématodes.

A.3.2 Activités anthropiques et dynamique de transmission des parasites.

Les activités humaines telles que les changements d'utilisation des terres et les modifications climatiques sont à l'origine de processus altérant les interactions entre les parasites et leurs communautés d'hôtes. Ces activités peuvent entraîner une augmentation du nombre de maladies infectieuses dans un écosystème. Morand et Lajaunie (Morand et Lajaunie 2021) ont observé que l'augmentation des épidémies de maladies zoonotiques et vectorielles à l'échelle mondiale de 1990 à 2016 est liée à la déforestation, principalement dans les pays tropicaux, et au reboisement, principalement dans les régions tempérées. L'expansion de la monoculture de palmiers à huile a également un impact significatif sur les risques de maladies infectieuses, qu'elles soient zoonotiques ou vectorielles (Sloan et al. 2019 ; Morand et Lajaunie 2021). L'argument principal repose sur l'accroissement des interactions entre l'homme, la faune sauvage et les animaux domestiques, lié à la disparition de zones forestières non anthropisées servant de refuge à la faune sauvage. De plus, la

fragmentation de l'habitat perturbe les interactions hôte-parasite en désorganisant les réseaux trophiques.

Fragmentation des habitats et agriculture

Dans une étude expérimentale couvrant 26 années de suivi, Bitters et collègues (Bitters et al. 2022) ont démontré que *Hedruris wogwogensis*, un nématode parasitant un hôte intermédiaire, l'amphipode terrestre *Arcitalitrus sylvaticus*, et un hôte définitif, le lézard *Lampropholis guichenoti*, est sujet à l'extinction locale en raison de la diminution de l'abondance des hôtes compétents (Bitters et al. 2022). La disparition de *H. wogwogensis* ou sa faible prévalence dans la matrice paysagère, telle qu'une plantation forestière, étaient liées à la faible abondance de l'un ou l'autre hôte au cours des décennies précédentes. Les faibles abondances d'hôtes étaient associées au défrichage et à la plantation de haies de pins, moins favorables pour les hôtes (Bitters et al. 2022).

Kiene et collègues (Kiene et al. 2021) ont étudié l'influence des changements environnementaux anthropiques comme la fragmentation de l'habitat et le défrichage de la végétation sur les infections parasitaires gastro-intestinales chez les petits mammifères résidant dans les forêts sèches fragmentées du nord-ouest de Madagascar. En se concentrant sur quatre espèces, à savoir deux espèces de lémuriens souris (*Microcebus murinus* et *M. ravelobensis*) ainsi que deux espèces de rongeurs (*Eliurus myoxinus* et *Rattus rattus*), les auteurs ont identifié 16 morphotypes de parasites et au moins 21 taxons. Selon les auteurs, la fragmentation de l'habitat et le défrichage de la végétation ont affecté négativement la prévalence des parasites avec un environnement hétérogène ou des cycles hétéroxènes (cycle indirect avec un hôte intermédiaire). Les *Strongyloides* spp., qui présentent un cycle de vie complexe, ont montré des taux de prévalence plus élevés dans les forêts continues, avec un risque d'infection croissant en fonction de la taille de la forêt. Bien que les *Strongyloides* spp. soient des parasites homoxènes, ils peuvent connaître un développement hétérogène, avec une génération vivant librement dans l'environnement, selon des études antérieures citées par les auteurs. Ces derniers expliquent que les effets négatifs des lisières sur les *Strongyloides* spp. pourraient être liés à la sensibilité du parasite aux conditions environnementales tout au long de leur cycle, qu'il soit homogène ou hétérogène.

L'étude conclut que les lisières des forêts et le défrichage de la végétation impactent

les parasites gastro-intestinaux, influençant leur survie, leur développement et la disponibilité d'hôtes intermédiaires.

Froeschke et Sonja Matthee (Froeschke et Matthee 2014) ont aussi mené une étude sur l'influence des modifications anthropiques de l'habitat sur les schémas d'infestation par les Helminthes chez le rongeur péri-domestique, *Rhabdomys pumilio*. Ils ont comparé trois types de paysages associés à l'activité humaine (cultures, élevage et fragments urbains) avec des zones naturelles. Les résultats indiquent que *R. pumilio* agit comme un réservoir potentiel d'Helminthes zoonotiques car abondant dans tous les paysages étudiés et huit espèces d'helminthes ont été observées, avec une prévalence globale d'helminthes de 86,68 %. La diversité des espèces d'helminthes est significativement plus élevée dans les fragments de cultures (paysages riches en ressources) en raison de leur abondance en ressources, créant des conditions propices à la prolifération des rongeurs, mettant ainsi en évidence l'impact des caractéristiques du paysage sur l'infestation. Les environnements riches en ressources favorisent une prévalence accrue d'helminthes, tandis que les paysages étroitement liés aux activités humaines présentent un risque plus élevé de présence d'espèces zoonotiques.

Herawati (Herawati 2020) ont mené une enquête sur la prévalence et l'intensité des infections endoparasitaires chez les petits mammifères dans les provinces de Java Ouest et de Yogyakarta. L'étude s'est concentrée spécifiquement sur deux environnements distincts : une zone de riziculture irriguée et deux villages voisins. La zone de riziculture irriguée a révélé une prévalence plus élevée d'infections par les endoparasites, avec des taux de 36,7 % pour *Taenia taeniaeformis* (cestodes) et 35,25 % pour *Capillaria hepatica* (nématode), par rapport aux taux plus bas observés dans les villages. De plus, l'intensité des infections était également moins prononcée dans ces villages. Les résultats de la capture d'hôtes dans trois emplacements différents suggèrent un lien entre les espèces hôtes et leurs habitats préférés. En effet, selon les auteurs, les animaux semblent choisir des habitats spécifiques pour faciliter l'accès à la nourriture. Par exemple, dans les zones de culture de riz, le rat des rizières (*Rattus argentiventer*) était l'espèce prédominante capturée. Ceci s'explique par le fait que le riz constitue la principale source de nourriture pour *R. argentiventer*, en particulier pendant sa phase générative favorisant ainsi les performances de reproduction. Une abondance des cultures de riz induit la maturité des mâles *R. argentiventer*. Les populations de *R. argentiventer* présentaient la plus forte prévalence de parasites

comparativement à d'autres espèces, probablement en raison de leurs déplacements entre les rizières et les villages après la récolte, à la recherche de nourriture alternative et d'habitats de refuge temporaires. Ce mouvement augmente les échanges de rats des rizières entre les environnements, ce qui a un impact sur la prévalence de l'infection par des parasites. Les rongeurs, en général, jouent un rôle de réservoirs de maladies, avec le potentiel de transmettre des maladies aux humains et au bétail.

A.3.3 Dynamique parasitaire : effets des facteurs écologiques et du comportement des hôtes sur la transmission.

Densité et abondance des hôtes.

Des chercheurs se sont concentrés sur l'influence de deux paysages différents dans l'Indiana (une zone à prédominance forestière et un paysage plus hétérogène et dominé par l'agriculture) sur la prévalence et l'intensité de l'infection des souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*) au parasite nématode *Baylisascaris procyonis* (Page, Swihart, et Kazacos 2001). L'hypothèse postule que les modifications de l'utilisation des terres ont affecté les interactions entre les ratons laveurs (l'hôte définitif) et les souris à pattes blanches (l'hôte intermédiaire).

Les ratons laveurs (*Procyon lotor*) ont montré des réponses positives en termes d'abondance aux changements induits par l'agriculture, entraînant des implications importantes dans la dynamique de transmission de *B. procyonis*. Les chercheurs ont découvert que dans le paysage agricole très fragmenté, la prévalence, l'intensité de l'infection et le nombre moyen de larves de *B. procyonis* chez les souris à pattes blanches étaient significativement plus élevés que dans le paysage majoritairement forestier. Les résultats indiquent également qu'à mesure que les forêts devenaient plus fragmentées, les taux de rencontre entre les souris à pattes blanches et les stades infectieux de *B. procyonis* augmentaient. Cette interaction accrue a entraîné des taux de transmission plus élevés du parasite aux hôtes intermédiaires.

Une autre étude a décrit la dynamique de prévalence de trois nématodes intestinaux dans la population de renards roux sur une période de 11 ans (Mørk, Ims, et Killengreen 2019). Les auteurs se sont concentrés sur la relation entre la prévalence de ces nématodes et les cycles de population des rongeurs, qui servent d'hôtes intermédiaires à certaines espèces de nématodes. L'étude révèle que les trois nématodes intestinaux de la population de renard roux ont présenté une dynamique de prévalence contrastée au cours de la période d'étude de 11 ans. L'abondance de

deux espèces d'Ascarididae, *Toxascaris leonina* et *Toxocara canis*, chez les renards roux individuels, ces deux espèces étant connues pour utiliser les rongeurs comme hôtes intermédiaires paraténiques ou facultatifs, présentait des dynamiques cycliques marquées qui reflétaient étroitement le cycle quadriennal des populations de rongeurs. En revanche, *Uncinaria stenocephala* présentait beaucoup moins de variations d'abondance et ne montrait aucune relation avec les cycles des rongeurs. L'étude suggère qu'une abondance élevée de rongeurs pourrait augmenter la prévalence de *T. leonina* chez les renards roux. Selon les auteurs, les résultats démontrent que la dynamique cyclique des populations de rongeurs joue un rôle crucial dans l'épidémiologie de *T. leonina* et de *T. canis*. L'augmentation proportionnelle de l'abondance et de la prévalence des nématodes avec l'augmentation de la densité des rongeurs suggère que l'ingestion par le renard roux de proies de rongeurs infectés constitue un mécanisme de transmission majeur.

Comportement des hôtes et probabilité de rencontre (exposition et infection) - mode de vie et comportement défécatoire.

Pour que la transmission se produise, les hôtes intermédiaires doivent entrer en contact avec les larves présentes dans l'environnement sur le sol ou dans les matières fécales des hôtes définitifs. Ainsi, le comportement de l'hôte influence la probabilité d'exposition, car ses interactions sociales et son mode de vie peuvent le mettre en contact avec le parasite. Le comportement défécatoire des hôtes définitifs peut propager le parasite dans le paysage, et leurs habitudes alimentaires peuvent les mettre en contact avec le parasite, maintenant ainsi le cycle de vie du parasite dans l'environnement local. Les déplacements des hôtes définitifs sur de longues distances au-delà de leurs domaines vitaux ou territoires³ pour explorer, prospecter ou disperser contribuent également à la propagation spatiale des œufs et des larves du parasite (Mace, Harvey, et Clutton Brock 1983; Morley 2022).

Dans le parc national d'Ankarafantsika, au nord-ouest de Madagascar, le mode de vie de deux espèces de lémuriens, le lémurien sportif de Milne-Edward (*Lepilemur edwardsi*) et le lémurien laineux de l'Ouest (*Avahi occidentalis*), qui diffèrent dans leur habitude de couchage, a été comparé par May Hokan et collègues (Hokan et al. 2018). *Lepilemur edwardsi*, qui dort dans des trous d'arbres en utilisant fréquemment le

³ (*i.e.* les territoires, réservés à l'accouplement, l'alimentation ou la nidification, sont exclusivement disponibles pour un individu ou un groupe, excluant activement les autres animaux. Un domaine vital est la zone exclusive qu'un individu occupe (Mace, Harvey, et Clutton Brock 1983; Morley 2022)

même site de sommeil, présente des co-infections de nématodes strongles et oxyuridés. En revanche, *A. occidentalis*, qui dort sur des branches ouvertes et change fréquemment de site de sommeil, ne présente que des œufs de nématodes strongles. Les résultats révèlent une faible diversité parasitaire en raison du mode de vie arboricole des lémuriers, limitant ainsi leur exposition aux stades infectieux.

Transmission trophique : interactions prédateur-proie et disponibilité de nourriture.

De nombreux parasites, caractérisés par des cycles de vie complexes, sont tributaires des interactions prédateur-proie pour leur transmission, les hôtes définitifs étant infectés par la consommation d'un hôte intermédiaire infecté. Le risque de contamination peut être influencé par la disponibilité de ressources et de sources alimentaires alternatives, agissant à travers les interactions prédateurs-proies qui sous-tendent la transmission des parasites par voie trophique (Marcogliese 2002; Valtonen, Marcogliese, et Julkunen 2010).

Dans une étude expérimentale sur le terrain manipulant les populations naturelles de tamias oriental (*Tamias striatus*), qui peuvent être infectés par plusieurs nématodes, notamment *Capillaria tamiastriati* et *Citellinema bifurcatum*, ainsi que *Rictularia halli*, lequel utilise un hôte intermédiaire insecte pour sa transmission. Luong et collègues (Luong, Grear, et Hudson 2014) ont examiné l'impact de la présence d'aliments alternatifs sur le comportement alimentaire des hôtes définitifs. Les chercheurs ont supposé que les hôtes définitifs, placés dans un environnement offrant des sources alimentaires alternatives facilement accessibles, pourraient modifier leur comportement alimentaire, entraînant une diminution directe de l'exposition et de la transmission des parasites à transmission trophique. Les résultats de l'étude ont montré que la prévalence de l'infection a diminué en réponse à un supplément d'aliments (graines de tournesol). Cependant, aucun changement similaire n'a été observé dans la prévalence de l'infection pour les deux parasites transmis directement, c'est à dire avec un cycle à un seul hôte. Les chercheurs ont interprété ces résultats en soutenant leur hypothèse selon laquelle la recherche alimentaire de l'hôte influe directement sur l'exposition aux parasites dépendant de l'ingestion d'hôtes intermédiaires pour leur transmission. En conclusion, l'étude souligne l'importance de la disponibilité relative des différentes ressources alimentaires dans les conséquences de la transmission des parasites, en particulier ceux intégrés dans le réseau trophique.

A.4 Nématodes parasites : Généralités

Les nématodes, également désignés sous le nom de vers ronds, constituent un groupe diversifié d'organismes présents dans divers environnements. On a répertorié plus de 25 000 espèces de nématodes, dont environ 10 000 se trouvent dans les environnements marins et terrestres, 3 500 agissent en tant que parasites des invertébrés, et 12 000 parasitent les vertébrés (Robert Poulin et Morand 2000; Hugot, Baujard, et Morand 2001). Ces organismes présentent une variété de cycles de vie avec des schémas variés de développement et de transmission. Certaines espèces suivent un développement simple, sans hôte intermédiaire (monoxène). Dans ce cycle, le ver, sous forme larvaire libre, est libéré dans l'environnement pour rencontrer son hôte (phase pré-parasite). La deuxième partie du cycle débute à l'intérieur de l'hôte, où se déroulent la maturation et la reproduction. D'autres espèces suivent un cycle plus complexe, impliquant des hôtes intermédiaires où se développent les premiers stades du cycle de vie du parasite (cycle hétéroxène) (Anderson, Chabaud, et Willmott 2009). Dans le développement classique des nématodes, il existe quatre stades larvaires primaires (L1, L2, L3, L4) précédant le stade adulte. Pour certaines espèces, le stade L3 est infectieux et nécessite un hôte intermédiaire (Chabaud 1955).

Les nématodes utilisent diverses stratégies pour s'établir au sein des populations hôtes. Les modes d'infection incluent la pénétration cutanée, l'ingestion orale d'œufs, l'ingestion de larves infectieuses directement ou par l'injection via des vecteurs arthropodes suceurs de sang, pour n'en citer que quelques-uns (R. Poulin, Krasnov, et Morand 2006; Anderson, Chabaud, et Willmott 2009). Les nématodes parasites peuvent influencer significativement la dynamique de l'hôte et jouent un rôle crucial dans le fonctionnement des écosystèmes (Peter J. Hudson, Dobson, et Lafferty 2006; Fraimer et al. 2018). En infectant les animaux hôtes, ils peuvent moduler le comportement de l'hôte, ses besoins énergétiques et sa fitness (survie, reproduction) (A. P. Dobson 1988; Hurd 1990). D'autre part, les nématodes parasites, qui infectent généralement les animaux sauvages, peuvent également se transmettre aux populations humaines et aux animaux domestiques, engendrant ainsi de nouvelles sources de maladies et des problèmes de santé publique à travers le monde (Nicolas, Perez, et Carme 2006) comme l'anisakiase (Sakanari et McKerrow 1989), l'ascaridiose (Mbaye, Wade, et Klotz 2003; Nicolas, Perez, et Carme 2006).

A.4.1 Le modèle d'étude : *A. cantonensis*.

A. cantonensis (Chen, 1935) est un nématode parasite communément connu sous le nom de ver pulmonaire du rat (Famille : Angiostrongylidae. Superfamille : Metastrongyloidea). *A. cantonensis*, aux côtés de *Angiostrongylus costaricensis* Morera & Céspedes, 1971 est l'une des rares espèces parmi une vingtaine décrites du genre *Angiostrongylus* spp. capable d'infecter l'homme. Alors qu'*A. costaricensis* est responsable de l'angiostrongylose abdominale (Morera 1973), *A. cantonensis* est l'agent de l'angiostrongylose nerveuse humaine, représentant la cause la plus fréquente de méningite à éosinophiles chez l'humain.

A. cantonensis a été initialement décrit par Chen en 1935 (H.-T. Chen 1935) dans la région de Guangzhou en Chine, à partir des poumons de rats. Le cycle de vie complexe d'*A. cantonensis* implique deux hôtes obligatoires : les rats en tant qu'hôtes définitifs et les gastéropodes en tant qu'hôtes intermédiaires (voir encadré 1). Diverses espèces de rats et de gastéropodes peuvent servir d'hôtes (Cowie 2013). (L'encadré 2 décrit de manière détaillée le cycle de vie complet du parasite et la figure présente la migration du parasite chez le rat.

Encadré 1 : (Voir : Rat Lung Worm Disease Scientific Workshop, Honolulu, Hawaii August 16-18, 2011 Présentation de Jaynee R. Kim)
<https://www.hawaii.edu/cowielab/Program&Abstracts.pdf>

Ce que nous entendons par :

Hôtes définitifs. Obligatoire pour terminer le cycle de vie. Les larves se développent, deviennent matures et se reproduisent.

Hôtes intermédiaires : Obligatoire au cycle de vie. Les larves se muent et peuvent persister, parfois pendant toute la vie de l'hôte.

Hôtes accidentels : Pas obligatoire pour le cycle de vie. Impasse pour le parasite : Les larves se développent jusqu'à un certain stade mais ne se reproduisent pas et meurent. Peuvent souvent causer des maladies ou la mort.

Hôtes paraténiques : Pas obligatoire pour le cycle de vie. Les larves ne se développent pas et ne se reproduisent pas chez ces hôtes. Peuvent infecter les hôtes définitifs, accidentels ou paraténiques quand ils sont consommés. Seules les L3 survivront chez les hôtes paraténiques, mais elles ne s'y développeront pas et resteront dormantes jusqu'à ce que l'hôte paraténique soit consommé par un hôte définitif ou accidentel.

Encadré 2 : Cycle de vie de *A. cantonensis*. D'après (Cowie, 2013)

Les premières larves (L1) sont expulsées dans les excréments des rats. Ces excréments infectés sont ensuite ingérés par des escargots ou des limaces. Il est à noter que les larves peuvent pénétrer dans l'escargot en traversant la paroi corporelle ou les pores respiratoires. Les larves se développent jusqu'au troisième stade larvaire (L3) à l'intérieur de l'escargot, où elles demeurent jusqu'à ce que l'escargot soit consommé ou meure. Lorsqu'ingérées par un rat, les larves traversent l'intestin de l'animal pour atteindre l'intestin grêle. Elles pénètrent ensuite les parois intestinales et entrent dans la circulation sanguine. Voyageant passivement dans le flux sanguin, certaines larves finissent par atteindre le système nerveux central et pénétrer dans le cerveau.

Dans le cerveau, les larves se développent jusqu'au stade subadulte. Les infections légères entraînent généralement des dommages minimes et n'induisent pas de réaction comportementale significative, tandis que des infections graves peuvent provoquer des dommages plus importants et des symptômes comportementaux visibles. Une fois parvenus au stade subadulte dans le cerveau, les vers quittent cet organe, pénètrent dans le système circulatoire veineux, et se dirigent vers le ventricule droit du cœur et les artères pulmonaires. Dans ces zones, les vers se développent, atteignent leur maturité sexuelle, s'accouplent, et les femelles pondent des œufs.

Les œufs circulent dans le sang jusqu'aux poumons, d'où le nom de la maladie, la « maladie du ver pulmonaire du rat ». Dans les poumons, les œufs éclosent, donnant naissance à des larves de premier stade dans le tissu pulmonaire. Selon le niveau d'infection, les rats peuvent subir des dommages significatifs aux artères causés par les vers adultes et des lésions pulmonaires dues aux réactions inflammatoires des larves. Les larves de premier stade traversent les parois des bronchioles et des alvéoles, remontent la trachée dans les sécrétions respiratoires, et sont finalement avalées pour être libérées dans les selles. Le cycle se répète lorsque les escargots ingèrent les excréments infectés, et en supposant que le rat consomme l'escargot infecté rapidement après que les larves de l'escargot ont atteint le troisième stade, le cycle complet prend environ 45 jours.

Les humains peuvent être infectés par *A. cantonensis* de la même manière que les rats, en ingérant intentionnellement ou accidentellement des escargots ou des limaces infectés par des larves de troisième stade. Le processus de développement larvaire suit un déroulement similaire à celui du rat jusqu'à ce que les larves atteignent le stade sub-adulte dans le cerveau humain. La plupart de ces vers sont incapables de réintégrer le système circulatoire et, après s'être déplacés dans les tissus cérébraux, ils finissent par mourir. On pense que les dommages neurologiques résultent à la fois des dommages physiques causés par le mouvement des vers dans le cerveau et de l'inflammation déclenchée par la réaction immunitaire aux vers. Cette réaction immunitaire semble être plus intense en réponse aux vers morts qu'aux vers vivants. Certains vers peuvent atteindre l'artère pulmonaire et les poumons sans se reproduire. De plus, des vers ont été observés dans les yeux, un phénomène observé dans les infections par d'autres parasites neurotropes. D'autres animaux peuvent également servir d'hôtes accidentels pour *A. cantonensis*.

Les humains peuvent également être infectés en ingérant des hôtes paraténiques, qui sont des hôtes sur lesquels les larves d'*A. cantonensis* ne peuvent pas se développer complètement mais restent en vie pendant un certain temps. Les hôtes paraténiques, y compris divers autres animaux tels que les crevettes d'eau douce, les grenouilles et les vers plats, sont infectés en consommant des hôtes intermédiaires déjà infectés. Si ces hôtes intermédiaires contiennent des larves L3, elles peuvent alors être transmises à l'homme, où elles se développent et finissent par mourir.

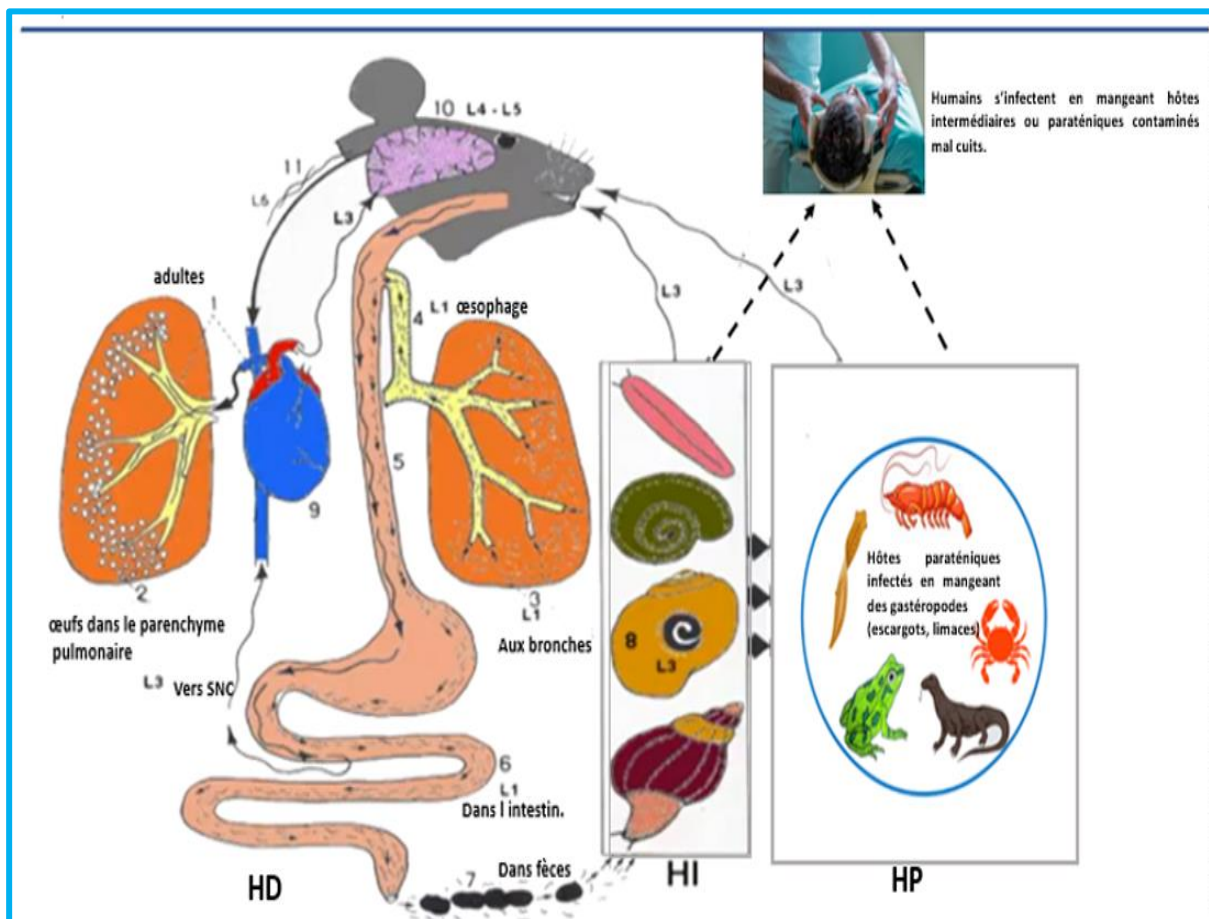


Fig.1 Cycle de développement d'*A. cantonensis*. Figure modifiée de J. Vargas (<https://www.youtube.com/watch?v=BJ3oYc2GX9k>). (HD : Hôtes définitifs ; HI Hôtes intermédiaires ; HP : Hôtes paraténiques).

La maladie chez l'humain.

Les signes de la maladie ne sont pas spécifiques et incluent des maux de tête liés à une augmentation de la pression intracrânienne (Murphy et Johnson 2013) des vomissements, des nausées, de la fièvre, une sensation de picotement, de la fatigue, etc. (Epelboin et al. 2016 ; Lv, Zhou, et Andrews 2017) , ce qui rend le diagnostic complexe. La plupart des cas sont bénins et guérissent spontanément. Cependant, des complications potentiellement mortelles peuvent survenir après une importante ingestion de larves L3 infectieuses (Bowden 1981; Epelboin et al. 2016 ; Sinawat et al. 2019). La létalité peut atteindre jusqu'à 80 % dans les infections les plus graves (Chotmongkol et Sawanyawisuth 2002). Les soins consistent en des ponctions répétées pour réduire la pression intracrânienne et l'administration d'analgésiques (J. Wang et al. 2010). L'utilisation de médicaments anthelminthiques pour traiter l'angiostrongylose nerveuse est controversée en raison de la crainte que la mort rapide des larves puisse aggraver la réponse inflammatoire dans le cerveau et la moelle

épinière (Sawanyawisuth 2010; Epelboin et al. 2016 ; Ansdell et al. 2021). Cependant, il semble qu'un consensus soit en train de se dégager. Une approche au cas par cas est recommandée pour décider de l'utilisation d'anthelminthiques en attendant des données définitives sur leur innocuité. La communauté scientifique suggère d'administrer des corticostéroïdes simultanément à l'albendazole dans le traitement de cette maladie. Il semble que l'association d'albendazole avec des corticostéroïdes soit bien tolérée et sans danger (Ansdell et al. 2021).

Graeff-Teixeira et collègues (Carlos Graeff-Teixeira et al. 2023) ont synthétisé et mis à jour l'état actuel des connaissances sur les critères de diagnostic et la définition des cas dans un article⁴. Toutefois, il est essentiel de préciser que ces critères ne sont pas définitifs, mais servent de point de départ pour une amélioration continue, comme le soulignent Carlos Graeff-Teixeira et ses collègues (Carlos Graeff-Teixeira et al. 2023). Les critères utilisés pour le diagnostic de l'angiostrongylose comprennent des tests tels que la sérologie et l'éosinophilie, classés en critères mineurs, majeurs ou confirmatifs. Le diagnostic peut varier de suspect à probable et confirmé, en fonction de la certitude étiologique. Il est renforcé par la connaissance des éléments d'exposition du patient au risque de contamination.

Encadré 3

Définitions des cas suspectés, probables, confirmés et les critères correspondants selon le Réseau international sur l'angiostrongylose (International Network on angiostrongyliasis) (Voir Carlos Graeff-Teixeira et al 2023).

Suspecté : Maux de tête OU autres symptômes neurologiques ou autres symptômes neurologiques ou éosinophilie du LCR (Si la sérologie est positive). Et Tout critère mineur (et éosinophilie du LCR).

Probable : Maux de tête OU autres troubles neurologiques signes/symptômes ET Éosinophilie du LCR (Si la sérologie est positive) ET Au moins deux critères mineurs (et éosinophilie du LCR).

Confirmé : larves dans LCR ou chambres oculaires OU détection ADN du parasite
NB : Si la sérologie est positive et que l'éosinophilie du LCR est supérieure à 40 %, considérer la NA comme hautement probable/suspecte.

⁴ Plusieurs ateliers et conférences ont été organisés à travers le monde sur la maladie, et le 23 novembre 2021 a marqué la création du Réseau international sur l'angiostrongylose (International Network on angiostrongyliasis). Depuis sa création, ce réseau organise des réunions visant à discuter de divers sujets, en mettant particulièrement l'accent sur les critères de diagnostic et la définition des cas (Carlos Graeff-Teixeira et al. 2023).

A.4.2 Origine et distribution géographique d'*A. cantonensis*.

A. cantonensis est largement répandu à l'échelle mondiale, présent sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique. Il est endémique en Asie du Sud-Est, certaines parties des Caraïbes, des îles du Pacifique, et notamment à Hawaï. Le parasite a été identifié chez des rongeurs et/ou gastéropodes dans diverses régions situées entre environ 39°N et 35°S de latitude, et de 94°W à 159°E de longitude. Il est également présent en Afrique, en Amérique du Nord, en Amérique du Sud, en Asie, en Australie, dans les Caraïbes, en Europe (notamment en Espagne et récemment à Valence), dans les îles de l'Océan Indien, et dans de nombreux autres endroits du monde (Article No.1).

En synthétisant diverses études de plusieurs chercheurs, Cowie et collègues (Cowie, Malik, et Morgan 2023) avancent l'idée que *A. cantonensis* aurait son origine en Asie du Sud-Est. Selon ces auteurs, les différentes études s'appuient principalement sur le lien évolutif étroit avec *Angiostrongylus malaysiensis*, largement répandu en Asie du Sud-Est, ainsi que sur la capacité des rats d'Asie du Sud-Est à supporter des infections graves à *A. cantonensis*. Cette adaptation a nécessité probablement un temps considérable à se développer (Cowie, Malik, et Morgan 2023).

Červená et collègues (Červená et al. 2019) ont comparé les séquences du gène COX des génomes mitochondriaux d'*A. cantonensis* provenant de l'extérieur de l'Asie du Sud-Est. Leurs résultats ont révélé une faible diversité génétique au sein d'une seule lignée d'*A. cantonensis*. Une similarité génétique a été observée entre les souches envahissant des localités très éloignées, ce qui diffère, selon ces auteurs, de la grande diversité génétique des souches originaires de l'Asie du Sud-Est, la région dite originelle. Les chercheurs ont conclu à l'existence d'un phénotype d'*A. cantonensis* invasif, tel que la capacité à s'établir dans de nouveaux territoires, qui a une composante génétique importante, comme en témoigne la présence du parasite en dehors de la zone d'endémie originelle. Certaines souches du parasite semblent ainsi plus aptes à se disperser et à s'établir dans de nouveaux endroits que d'autres (Červená et al. 2019).

Expansion de l'aire géographique

Ces différents signalements laissent envisager une expansion de l'aire géographique du parasite vers des latitudes plus élevées, présentant ainsi un potentiel risque zoonotique majeur pour l'Europe (Federspiel, Skovmand, et Skarphedinsson 2020).

Par exemple, Kim et collègues ont élaboré un modèle de l'habitat actuel du parasite à Hawaï en tenant compte des facteurs climatiques. Leur étude a révélé qu'à l'échelle locale, les zones caractérisées par des précipitations et des températures plus élevées seraient plus propices à la distribution future du parasite (Kim et al. 2019). Les auteurs suggèrent une expansion potentielle de la distribution du parasite sur l'archipel, liée à l'augmentation de facteurs abiotiques tels que les températures et les précipitations. À une échelle plus vaste, York et collègues ont évalué la propagation potentielle d'*A. cantonensis* depuis la région de la côte du Golfe et du Midwest des États-Unis. À l'aide de tests de qPCR et de séquençage de l'ADN de rats, les chercheurs ont mis en évidence la présence du parasite en Oklahoma, aux États-Unis, indiquant ainsi une expansion de son aire géographique vers des latitudes plus élevées (York et al. 2015). Le parasite était jusqu'à présent inconnu en Europe, mais *A. cantonensis* n'a été signalé que très récemment en Europe continentale (Galán-Puchades et al. 2022). Et un habitant de Paris (France), sans antécédents récents de voyage dans des zones d'endémie ou de consommation d'aliments importés, a reçu un diagnostic de méningite à éosinophiles causée par *A. cantonensis* en 2016 (Y. Nguyen et al. 2017). Le parasite a également été détecté chez *R. rattus* à Tenerife, îles Canaries (Espagne) (Foronda et al. 2010) et aux îles Baléares, Majorque (Espagne) chez *Atelerix algirus*, hérissons d'Afrique du Nord (Paredes-Esquivel et al. 2019). Il se trouve désormais sur le Espagne continentale (Galán-Puchades et al. 2022 ; Galan-Puchades et al. 2023 ; Paredes-Esquivel et al. 2023). Ces différents enregistrements suggèrent ensemble une expansion de l'aire de répartition géographique du parasite vers des latitudes plus élevées, ce qui peut constituer un risque zoonotique majeur pour L'Europe

A.4.3 Contexte épidémiologique global Asie, Amériques, Caraïbes, Europe

À travers le monde, près de 3 000 cas humains de neuroangiostrongylose ont été recensés dans au moins 25 pays (Qiao-Ping Wang et al. 2008 ; Barratt et al. 2016). Ces cas ont été diagnostiqués chez les autochtones ou chez des voyageurs. Environ 77 cas ayant été signalés en 2018, provenant de régions où le parasite est endémique, c'est-à-dire des régions tropicales ou subtropicales (Q.-P. Wang et al. 2008 ; Ansdell et Wattanagoon 2018 ; Federspiel, Skovmand, et Skarphedinsson 2020). La grande majorité de ces cas a été rapportée en Thaïlande (Q.-P. Wang et al. 2012 ; Eamsobhana 2013). Les cas de neuroangiostrongylose humaine ont également été

signalés à Hawaï (États-Unis), au Japon, sur le continent américain (New, Little, et Cross 1995; Foster et al. 2016 ; Flerlage et al. 2017 ; Al Hammoud et al. 2017; Todaka, Oshiro, et Shinzato 2020), dans les Caraïbes , Guadeloupe (Dard et al. 2017), Martinique (Dard et al. 2020), Cuba (Aguiar, Morera, et Pascual 1981) , Jamaïque (Barrow, StRose, et Lindo 1996). Également en Amérique du Sud : Brésil (Lima et al. 2009 ; de Andrade et al. 2018) , en Équateur (Dorta-Contreras et al. 2011) , en Guyane française (Defo et al. 2018). Mais aussi en Inde (Tiwari et al. 2019), au Laos (Yang et al. 2021), au Vietnam (McBride et al. 2017), en Papouasie-Nouvelle-Guinée, en Polynésie française, aux îles Fidji, aux Philippines, en Indonésie, au Sri Lanka, en Afrique du Sud et en Égypte (Cross 2004; Qiao-Ping Wang et al. 2008 ; Barratt et al. 2016 ; Cowie et al. 2022).

Les habitudes alimentaires des populations, notamment la consommation de mollusques crus ou insuffisamment cuits, jouent un rôle dans l'infection. L'angiostrongylose nerveuse a également été signalée dans les pays voisins d'Asie du Sud-Est tels que le Laos, le Cambodge et le Vietnam. Plusieurs épidémies d'angiostrongylose ont également eu lieu en Chine, où des changements dans les habitudes alimentaires, notamment la consommation d'escargots, expliquent ces épidémies (Qiao-Ping Wang et al. 2008). Cette infection humaine est désormais répertoriée parmi les maladies parasitaires émergentes d'origine alimentaire par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), comme le soulignent Hu et collègues (Hu et al. 2018). Depuis 2003, elle est classée comme une maladie infectieuse émergente par le ministère chinois de la santé (Q.-P. Wang et al. 2012 ; Hu et al. 2018) et à Hawaï elle est soumise à une déclaration obligatoire depuis 2007 (Jarvi et al. 2023a). Elle a également été proposée comme une priorité en Europe (Gonzalvez et Ruiz de Ybanez 2022).

Sur l'île d'Haïti (également appelée l'île d'Hispaniola), partagée entre Haïti et la République dominicaine, aucun cas humain n'a été signalé à ce jour. Cependant, le parasite a été détecté chez des rats de l'espèce *Rattus norvegicus* et chez des escargots terrestres de l'espèce *Subulina octona* dans des quartiers de Santo Domingo, capitale de la République dominicaine (Vargas, Gomez Perez, et Malek 1992), et uniquement chez les rats *R. rattus* et *R. norvegicus* à Port-au-Prince, la capitale d'Haïti (Raccurt, Blaise, et Durette-Desset 2003). Néanmoins, Vargas et ses collègues expliquent l'absence de cas humains en République dominicaine par le manque de systématisation des signalements de cas et d'autopsies dans les hôpitaux

et cliniques du pays. De plus, les symptômes de la maladie, tels qu'un taux élevé d'éosinophiles et de fortes fièvres, ne sont pas spécifiques, rendant ainsi le diagnostic difficile (Vargas, Gomez Perez, et Malek 1992). De son côté, Raccurt et son équipe ont identifié *A. cantonensis* en Haïti en 2002, montrant la présence du parasite chez 30% des rats capturés (n=7 sur 23) à Port-au-Prince dans deux quartiers (Damien et Carrefour) entre mars et juillet 2002. Raccurt et ses collègues soulignent l'incertitude quant à l'impact de ce parasite sur la santé humaine en Haïti, et estiment qu'il nécessiterait une évaluation, surtout compte tenu des statistiques du Ministère de la Santé Publique et de la Population d'Haïti (MSPP) indiquant que 1,3% des décès recensés en 1999 étaient dus à une méningite d'étiologie inconnue. Toutefois, aucune donnée n'a été recueillie sur les gastéropodes lors de cette étude.

A.4.4 Profil épidémiologique des patients présentant des cas de méningite en Haïti.

En Haïti, une étude a été entreprise dans le cadre d'un master en médecine, portant sur le profil épidémiologique des patients présentant des cas de méningite⁵. Ce travail, rédigé par la Dr. Wevney Lubin sous la direction du Dr. Jean Hugues Henrys (mémoire en cours), se base sur une approche descriptive rétrospective. Les données proviennent du "Projet de Renforcement de la Surveillance Epidémiologique, PRESEPI" de la Direction d'Épidémiologie, de Laboratoires, de Recherches (DELR), couvrant la période de janvier 2016 à décembre 2021, ainsi que de la base de données de l'hôpital Albert Schweitzer dans la vallée de l'Artibonite (Département de l'Artibonite). L'étude s'est concentrée sur quatre sites hospitaliers de la zone métropolitaine de Port-au-Prince (Hôpital Universitaire de la Paix, Hôpital de l'Université d'État d'Haïti, Hôpital Foyer St Camille, Hôpital Saint-Damien Nos Petits Frères et Sœurs) et l'hôpital Albert Schweitzer (HAS). Après le traitement des données, 353 unités statistiques d'observation pour l'ensemble des sites hospitaliers de Port-au-Prince et 29 observations pour l'HAS ont été retenues.

Les résultats indiquent que, dans la zone métropolitaine de Port-au-Prince, les personnes infectées étaient plus fréquemment masculines (54,4 %), avec une prévalence plus élevée chez les nourrissons (28 jours - 23 mois) à hauteur de 46,9 %. Saint-Damien a enregistré le plus grand nombre d'observations (56,9 %), tandis que

⁵ Sous l'égide du Ministère de la santé Publique en Haïti un atelier de travail a été organisé avec comme objectifs : Améliorer la qualité et standardiser les données produites par le système de surveillance national par la dotation du pays d'une liste actualisée de définitions de cas pour l'ensemble des maladies et phénomènes placés sous surveillance y compris la révision d'autres outils de cette surveillance. Malheureusement les cas définis concernent uniquement les méningites bactériennes.

la commune limitrophe de Port-au-Prince, Delmas, présentait le plus grand nombre de cas suspects (21 %). Les symptômes les plus fréquemment observés étaient la fièvre (92,5 %), la toux (63,2 %) et les convulsions (38,7 %). Aucun examen de culture du liquide céphalorachidien (LCR) n'a été réalisé. À l'HAS, la majorité des observations concernait des femmes (55,2 %), touchant principalement les adultes de 18 ans et plus (46,4 %). Des examens de culture du LCR ont été effectués chez un peu plus d'un tiers des patients (37,9 %), et une méningite bactérienne ou virale a été diagnostiquée chez 78,6 % des personnes testées. Aucun patient n'a été testé pour des cas de méningites parasitaires.

Le mémoire souligne une lacune importante, à savoir le manque d'examens directs du liquide céphalo-rachidien (37,9 %) et l'absence de tests sérologiques ou PCR, nécessaires pour diagnostiquer les cas de méningites parasitaires. Actuellement, les diagnostics de méningites sont principalement orientés vers la détection de bactéries plutôt que de parasites. Il est crucial de mettre en œuvre ces types d'examens spécifiques, car l'absence de ces données ne permet pas de conclure de manière certaine sur la non-existence de l'angiostrongylose nerveuse humaine en Haïti, contrairement à d'autres pays des Caraïbes où des cas humains ont été détectés (Aguiar, Morera, et Pascual 1981; Barrow, StRose, et Lindo 1996; Qiao-Ping Wang et al. 2008 ; Dard et al. 2017 ; Valente et al. 2018 ; Dard et al. 2020). Par ailleurs, pour obtenir une compréhension globale de la prévalence et des facteurs de risque des méningites (bactériennes, virales, parasitaires) dans le pays, une collecte de données plus étendue et diversifiée est nécessaire. La taille limitée de l'échantillon actuel entrave la généralisation des conclusions sur l'épidémiologie des différents types de méningites en Haïti. Il est impératif d'améliorer les systèmes de surveillance et de gestion des données liées à ces différentes méningites afin de mieux comprendre leur distribution et de faciliter leur contrôle. L'adoption de méthodes de diagnostic appropriées, telles que des examens directs du LCR après une ponction lombaire, des tests sérologiques et PCR, représente une étape cruciale pour atteindre ces objectifs.

A.5 Méthodes de détection du parasite

A.5.1 Chez les hôtes accidentels : humains, primates et autres.

La détection de larves d'*A. cantonensis* dans les prélèvements, obtenus par ponction lombaire ou oculaire (bien que rarement réalisée en raison du degré d'expertise requis pour sa mise en œuvre et l'identification des larves), constitue un outil confirmatoire

de l'angiostrongylose (Punyagupta, Juttijudata, et Bunnag 1975). La ponction lombaire peut révéler une pléocytose éosinophile, caractérisée par des taux anormalement élevés d'éosinophiles dans le liquide céphalorachidien ainsi que des protéines du LCR (Schmutzhard, Boongird, et Vejjajiva 1988; Dorta-Contreras et al. 2011 ; Martins, Tanowitz, et Kazacos 2015; Ansdell et al. 2021). Ce critère est considéré comme majeur pour le diagnostic de la maladie, contrairement à l'éosinophilie sanguine qui est un critère mineur (Carlos Graeff-Teixeira et al. 2023). Les techniques d'imagerie cérébrale telles que l'IRM (Imagerie par résonance magnétique) ou la TDM (Tomodensitométrie), ainsi que les tests sérologiques comme l'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (Maleewong et al. 2001 ; Eamsobhana, Yoolek, et Kreethapon 2003; Tsai et al. 2003), peuvent soutenir le diagnostic clinique, bien que leur spécificité soit limitée. En effet, les tests sérologiques pour la détection d'anticorps peuvent donner des résultats négatifs au début de l'évolution de l'infection (Ansdell et Wattanagoon 2018). Ces critères peuvent également être absents chez certains patients, soulignant ainsi les limites de la sérologie pour détecter les infections actuelles (Carlos Graeff-Teixeira et al. 2023). Pour la confirmation de la maladie, des diagnostics basés sur l'amplification de l'ADN ont été développés. Par exemple, la détection moléculaire par PCR conventionnelle (Polymerase Chain Reaction) de l'ADN du parasite dans le LCR ou le sérum en ciblant le gène de la sous-unité I (COI) de la cytochrome c oxydase mitochondriale (également appelé gène COX ou COX1) et l'ADN de l'espaceur transcrit interne 1 ou 2 (ITS1 ou ITS2) (Caldeira et al. 2003 ; Qvarnstrom et al. 2010 ; Rodpai et al. 2016 ; Galán-Puchades et al. 2022), fait partie des méthodes de diagnostic. Un test de qPCR (PCR en temps réel, utilisé pour quantifier l'ADN) plus sensible et spécifique a été développé, ciblant la région AcanR3390 pour confirmer le diagnostic de la maladie (Prociv 2019; Sears et al. 2020). Aujourd'hui, les chercheurs mettent en avant l'importance des approches moléculaires dans le diagnostic de l'angiostrongylose, surtout chez les individus dont les antécédents de contact restent inconnus (Luo et al. 2023). Certains auteurs estiment que le test AcanR3390 sera probablement le choix privilégié pour détecter l'ADN du parasite responsable de l'angiostrongylose dans un futur proche (Sears, Qvarnstrom, et Nutman 2021; Jarvi et al. 2023b).

A.5.2 Chez les différents hôtes (définitifs, intermédiaires et paraténiques)

La confirmation de la présence du parasite repose sur son identification au sein de la faune locale, incluant les hôtes définitifs et les hôtes intermédiaires et paraténiques. Pour ce faire, différentes approches sont employées, notamment celles basées sur la recherche des parasites dans les organes des hôtes suivies de leur identification morphologique, ainsi que la détection de leur l'ADN dans les tissus.

En effet, la détection du parasite chez les rongeurs implique généralement la recherche des vers adultes dans les artères pulmonaires, les poumons et le cœur lors d'autopsies, suivie d'une identification spécifique basée sur les caractéristiques morphologiques (Mackerras et Sandars 1954) . Pour isoler les larves aux stades L1 à partir des excréments frais de rats, l'appareil de Baermann peut être utilisé. Cette technique consiste à placer les excréments de rats dans l'eau et à recueillir les larves migratrices à travers un entonnoir (Baermann 1917).

Concernant les hôtes intermédiaires et paraténiques, la détection peut débuter par l'utilisation d'une solution de pepsine-HCL pour digérer les tissus, ce qui libère les larves, suivi d'une identification morphologique des larves (C. Graeff-Teixeira et Morera 1995). Cependant, cette méthode doit être réalisée peu de temps après le prélèvement de l'échantillon (Qvarnstrom, Bishop, et da Silva 2013) c'est à dire sur des échantillons frais ce qui complique l'analyse d'un grand nombre d'échantillons. Les gastéropodes de petite taille peuvent être écrasés entre lame et lamelle pour rechercher et identifier les larves incrustées dans les tissus. Pour les gros gastéropodes, une analyse microscopique des tissus pulmonaires peut être effectuée pour repérer les L3 présentes dans les nodules pulmonaires (Asato et al. 2004 ; Lv et al. 2009). Cependant, le traitement des échantillons avec de la pepsine est incompatible avec les analyses PCR (Qvarnstrom et al. 2007).

L'identification morphologique présente des inconvénients significatifs (Qvarnstrom, Bishop, et da Silva 2013). Outre le temps considérable nécessaire à cette tâche, elle requiert des parasitologues hautement qualifiés capables d'identifier l'espèce. En effet, les caractères morphologiques pertinents chez les vers adultes (Roberts et Janovy Jr 2000) et les juvéniles (Newton et al. 1998) sont limités, rendant délicate l'identification morphologique au niveau de l'espèce, en particulier pour les stades larvaires. Pour surmonter cet inconvénient, des infections expérimentales peuvent être réalisées. Cela implique la récupération de larves stades L1 à partir des excréments de rats, qui

sont ensuite utilisées pour infecter des mollusques. Les larves stades L3 sont ensuite extraites et utilisées pour infecter des rats, permettant ainsi d'obtenir des vers adultes identifiables par des spécialistes (Andersen et al. 1986 ; D. Chen et al. 2011) . Bien que moins coûteuse, l'identification morphologique est moins sensible et peut donc sous-estimer la prévalence (Zhao, Li, et Guo 2023). Ainsi, des approches moléculaires plus spécifiques et plus sensibles ont été développées telles que la PCR conventionnelle, la PCR en temps réel (qPCR) et la technique LAMP (Loop-mediated isothermal amplification). Ces approches offrent une sensibilité accrue mais sont plus coûteuses et nécessitent des compétences en biologie moléculaire. Elles peuvent être réalisées sur des tissus congelés ou conservés dans l'alcool, offrant ainsi un avantage (Qvarnstrom, Bishop, et da Silva 2013).

La première méthode de PCR mise en place pour la détection d'*A. cantonensis* et d'autres espèces du genre *Angiostrogylus* spp., *A. costaricensis* et *A. vasorum*, dans les échantillons environnementaux a été la PCR-RFLP (Polymorphisme de longueur des fragments de restriction). Développée par Caldeira et ses collègues (Caldeira et al. 2003) cette méthode utilisait des amorces PCR largement réactives pour amplifier une région génétique de vers nématodes, suivie d'une analyse du polymorphisme des fragments de longueur de restriction ou d'un séquençage de l'ADN pour fournir une identification spécifique à l'espèce (Qvarnstrom, Bishop, et da Silva 2013). La PCR-RFLP, ainsi que des PCR conventionnelles, ciblaient le gène ribosomal de la petite sous-unité (ARNr SSU), l'espaceur transcrit interne 2 (ITS2) ou le gène mitochondrial de la cytochrome oxydase I (CO1). Cependant, l'approche PCR-RFLP ne permettait pas de détecter les substitutions nucléotidiques en dehors du site de restriction précis (Fontanilla et Wade 2008). Des tests PCR en temps réel spécifiques, amplifiant les régions ITS1 et ITS2 et détectant uniquement l'*A. cantonensis*, ont donc été développés.

La méthode qPCR utilise des réactifs fluorescents dans le tube de réaction pour détecter quantitativement le marqueur ciblé. En suivant la fluorescence en temps réel, elle permet d'obtenir la courbe d'amplification et la valeur Ct⁶ (Qvarnstrom, Bishop, et da Silva 2013). Malgré sa sensibilité, sa spécificité et sa précision, cette méthode nécessite des équipements coûteux et peut être difficile à utiliser dans des zones reculées. Cependant, comparée à la PCR conventionnelle, elle offre des performances

⁶ C'est le « Threshold cycle (Ct) » valeur cycle seuil, paramètre qui représente le numéro de cycle auquel le signal de fluorescence de la réaction PCR franchit un seuil prédéterminé. Ce seuil est fixé au-dessus du niveau de fluorescence de base et est généralement placé dans la phase exponentielle de la courbe d'amplification PCR.

améliorées et ne requiert pas la confirmation de séquence d'ADN pour éliminer les faux positifs (Qvarnstrom, Bishop, et da Silva 2013). Récemment, des chercheurs ont mis en place un test qPCR ciblant la région AcanR3390 (Sears, Qvarnstrom, et Nutman 2021).

La technique LAMP représente une avancée significative dans la détection d'*A. cantonensis* et d'autres agents pathogènes (R. Chen et al. 2011 ; Liu et al. 2011 ; Qvarnstrom, Bishop, et da Silva 2013). Comparée à la PCR traditionnelle, la LAMP offre une sensibilité accrue, une détection rapide et une facilité d'utilisation. En effet, cette technique fonctionne à température constante. L'amplification de l'ADN cible est rapide avec une haute spécificité grâce à des amorces bien conçues, et la détection des résultats peut se faire visuellement. La LAMP nécessite un équipement minimal, ce qui la rend adaptée aux études sur le terrain d'où son plus gros avantage (R. Chen et al. 2011 ; Liu et al. 2011 ; Qvarnstrom, Bishop, et da Silva 2013). Elle s'est avérée plus tolérante que la PCR face à certains inhibiteurs biologiques, facilitant la détection dans des échantillons cliniques sans extraction d'ADN (R. Chen et al. 2011 ; Liu et al. 2011).

Cependant, malgré ses avantages, la LAMP requiert une température contrôlée pendant l'amplification, et les kits de détection peuvent être relativement coûteux. De plus, pour les échantillons environnementaux, la présence d'inhibiteurs peut entraver l'amplification précise de l'ADN, nécessitant parfois une dilution ou une purification plus poussée (Jiang et al. 2005 ; Qvarnstrom, Bishop, et da Silva 2013).

A.6 Ecologie de la transmission de l'*A. cantonensis* : Revue de littérature.

Nous avons conduit une revue systématique de la littérature (Article No. 1) ayant pour objectif d'approfondir la compréhension de la niche écologique d'*A. cantonensis* en analysant les éléments biotiques et abiotiques qui la composent dans un contexte spatio-temporel. Les résultats de cette revue systématique nous ont permis d'identifier les lacunes et de dégager des pistes de recherche pour l'avenir.

A.6.1 Lacunes dans les connaissances actuelles et perspectives de recherche

Notre revue a montré que :

- *A. cantonensis* se maintient dans des paysages avec des habitats favorisant la coexistence des hôtes (Hôtes intermédiaires, définitifs) comme des habitats

humides et/ou avec abondance de nourriture (surfaces agricoles) et donc des interactions biotiques de type prédation.

- A l'échelle locale les facteurs climatiques, tels que la température, l'humidité et les précipitations, influencent la survie des larves. Les saisons des pluies ou fin de saison des pluies et les habitats humides sont favorables à la survie des larves L1 car empêche leur dessiccation.

Toutefois, notre revue a mis en évidence le manque de données mettant en lien la dynamique de population des différents hôtes dans l'espace et dans le temps avec les variations de transmission du parasite. Aussi, bien qu'étant un parasite transmis par voie trophique, une seule étude a tenté de faire d'établir un lien entre les rats *R. rattus* infectés par le parasite et leur régime alimentaire au Japon (Noda et al. 1987). Le pourcentage d'estomacs de rats contenant des tissus de mollusques était relativement faible chez les rats (Noda et al. 1987).

Le rôle des fortes pluies dans le maintien du parasite a une échelle locale reste à élucider. En effet, dans un paysage donné en fonction de sa configuration de fortes pluies peuvent éliminer ou diluer les excréments de rats, ce qui peut empêcher la rencontre des L1 avec des hôtes intermédiaires ou encore noyer les jeunes escargots et donc réduire la taille de ces populations.

De nombreuses recherches sont donc encore nécessaires, notamment concernant les habitudes alimentaires des espèces étudiées, leur densité de population et le potentiel d'adaptation de l'*A. cantonensis* à des climats plus froids, tout ceci en lien avec la prévalence. De plus, il est nécessaire d'explorer plus en profondeur les contributions relatives des différents hôtes spécialement les hôtes paraténiques à la dynamique de la transmission du parasite.

Il est essentiel d'anticiper sur : quand (quelle saison ?) et où (quelles surfaces, quel habitat ?) les filtres de rencontre et de compatibilité seront ouverts simultanément. Cette approche nécessite (i) d'étudier la niche écologique du parasite et comment les facteurs tels que le paysage, la température et la saison, ainsi que les facteurs biotiques tels que les interactions intra et interspécifiques, l'âge, le sexe et les densités de la communauté d'hôtes, influent sur la dynamique de la population à différents stades de vie et sur la répartition spatiale du parasite, et (ii) identifier avec précision les contextes écologiques dans lesquels se produit l'exposition humaine.

A.6.2 Le modèle conceptuel

Nous avons développé un tableau décrivant la transmission du parasite *A. cantonensis* dans son environnement (Tableau 1). Le tableau résume les conditions de la réalisation du cycle et du maintien du parasite dans l'environnement.

Ce modèle s'appuie sur l'analyse des études concernant la transmission écologique des parasites à cycle indirect, se propageant notamment à travers des interactions trophiques. Il a servi de référence pour la sélection de nos sites d'étude et a guidé la définition des objectifs de cette recherche.

Une augmentation de la densité de population de rats est susceptible d'accroître la contamination de l'environnement par des larves du parasite ce qui augmenterait la prévalence d'*A. cantonensis* chez les mollusques (hôtes intermédiaires), crustacés et lézards (hôtes paraténiques), et donc les risques de contamination de l'homme.

Haïti, ayant un climat tropical avec des variations liées à l'altitude et à la localisation géographique, il connaît donc des saisons sèches et humides distinctes, influencées par des changements dans les schémas de précipitations. Ainsi, nous nous attendons à une transmission plus intense pendant les saisons des pluies, surtout dans les zones humides cultivées, riches en ressources alimentaires pour les rats, comme les rizières, et moins fréquemment dans les zones sèches avec des cultures peu exigeantes en eau, telles que les oignons, les aubergines et les poivrons. Les zones urbaines sont également susceptibles d'abriter davantage le parasite, du fait de l'abondance de déchets servant d'habitats pour les gastéropodes, et de sources de nourriture pour les rats, soumettant ainsi potentiellement les populations locales à un risque accru de contamination.

Tableau 1 Tableau conceptuel de la transmission du parasite. Le tableau présente les variations attendues de la présence et de l'abondance des populations hôtes et du parasite selon différentes conditions environnementales et saisonnières.

Occupations de sol	Saison des pluies	Saison sèche
Milieu rural	<p>+ Les populations hôtes peuvent augmenter en raison de conditions favorables à la reproduction et à la croissance de la végétation.</p> <p>+ L'abondance du parasite peut augmenter en raison de l'augmentation des populations d'hôtes et de l'humidité.</p> <p>+ Crée des conditions pour la survie des larves du parasite.</p>	<p>- Les populations hôtes peuvent diminuer en raison des ressources limitées en eau et en nourriture.</p> <p>- L'abondance des parasites peut diminuer en raison de la diminution des populations d'hôtes et des conditions plus sèches.</p> <p>- Mort des larves par dessiccation.</p>
Milieu urbain	<p>+ Les populations hôtes peuvent rester stables en raison des infrastructures urbaines offrant des habitats et une certaine protection contre les fluctuations environnementales.</p> <p>+ Les jardins urbains et déchets urbains attirent les rats, augmentant la densité de population.</p> <p>+ L'abondance du parasite peut rester stable en raison de la présence constante des populations hôtes et des activités humaines.</p>	<p>- Les populations hôtes peuvent diminuer légèrement en raison du nombre limité de précipitations et de la perturbation potentielle des habitats pendant les saisons sèches.</p> <p>- L'abondance du parasite peut diminuer légèrement en raison de la diminution des populations d'hôtes et des conditions plus sèches.</p>

A.6.3 Objectifs

Nous avons cherché à documenter l'écologie de la transmission du parasite en Haïti et si, deux décennies plus après sa première description dans le pays (Raccurt, Blaise, et Durette-Desset 2003) le parasite persiste en Haïti. Nous nous sommes fixés 3 objectifs :

- 1) Synthétiser les connaissances sur les dimensions spatiales et écologiques de la niche écologique d'*A. cantonensis* dans la littérature internationale.
- 2) Déterminer la présence et la répartition géographique du parasite en Haïti, notamment dans les populations de rats et de gastéropodes, en utilisant des analyses moléculaires et morphologiques.
- 3) Identifier les similitudes génétiques entre les souches *A. cantonensis* haïtiennes et celles de régions géographiquement éloignées.

Nous avons ciblé deux contextes écologiques contrastés :

(i) la vallée de l'Artibonite, qui présente une grande variété d'habitats ruraux (zones humides, agricoles).

(ii) la zone urbaine de Port au Prince, où le parasite a été décrit la première fois

Nous avons choisi 2 périodes d'échantillonnage : saison pluvieuse et fin de saison pluvieuse (début saison sèche). La saisonnalité hydrologique serait également un facteur déterminant dans l'intensification de la prévalence de l'*A. cantonensis*. La

saison des pluies serait particulièrement propice à une augmentation marquée de la prévalence chez les rats, contribuant ainsi à son expansion (Foronda et al. 2010 ; Archer et al. 2017 ; Companioni et al. 2019).

B. Matériel et Méthodes

B.1 Présentation d'Haïti

La République d'Haïti, ou Hayti (18° 32' 21" N et 72° 20' 11 O"), est un pays situé dans la région des Caraïbes (Figure 2). L'île dans son ensemble couvre une superficie de 76 000 km², dont Haïti occupe environ le tiers, soit 27 750 km², avec une population de 11 067 777 habitants et une densité de 399 hab./km², plaçant ainsi Haïti parmi les régions les plus densément peuplées du monde occidental (Théodat 1998). Haïti présente une diversité de climats, mais le climat de type « tropical de savane » prédomine largement (Classification de Köppen, AW). Globalement, le pays connaît deux saisons distinctes : la saison sèche (de novembre à mars) et la saison pluvieuse (d'avril à octobre), avec des températures annuelles moyennes oscillant entre 25°C et 30°C. Les variations climatiques à travers le pays dépendent de l'altitude. Par exemple, dans le massif de la Selle (figure 3), la température moyenne est de 20°C, avec environ 2 000 mm de précipitations annuelles, faisant de cette zone la plus humide du pays. Le relief d'Haïti est essentiellement montagneux, comprenant différents massifs, plaines, plateaux et vallées (figure 3). Sur le plan administratif, le pays est divisé en régions ou départements, chacun ayant des "possibilités naturelles" distinctes (Anglade, Atlas critique d'Haïti). Anglade a délimité ces régions en mettant en évidence leurs caractéristiques géographiques et naturelles. Chaque région est influencée par des facteurs tels que les précipitations, la topographie et le contexte historique. Ainsi, on distingue :

- Région du Nord : population dense, vastes vallées fertiles et plaines côtières.
- Région du Nord-Ouest : historiquement confrontée à des sécheresses prolongées et à des difficultés agricoles.
- Plaine et vallée de l'Artibonite : prospère grâce à une production alimentaire élevée alimentée par le fleuve de l'Artibonite, avec des marchés agissant comme des centres ruraux.
- Plateau Central : autrefois consacré à l'élevage espagnol, transformé en région agricole jouant un rôle crucial dans l'agriculture du pays.
- Agglomération de Port-au-Prince (Département de l'Ouest) : agit comme le centre politique et économique, abritant une part importante de la population du pays.

- Région du Sud : caractérisée par un relief montagneux et des villes côtières, contribuant à l'identité unique des villes telles que Jérémie, Cayes, Aquin et Jacmel.

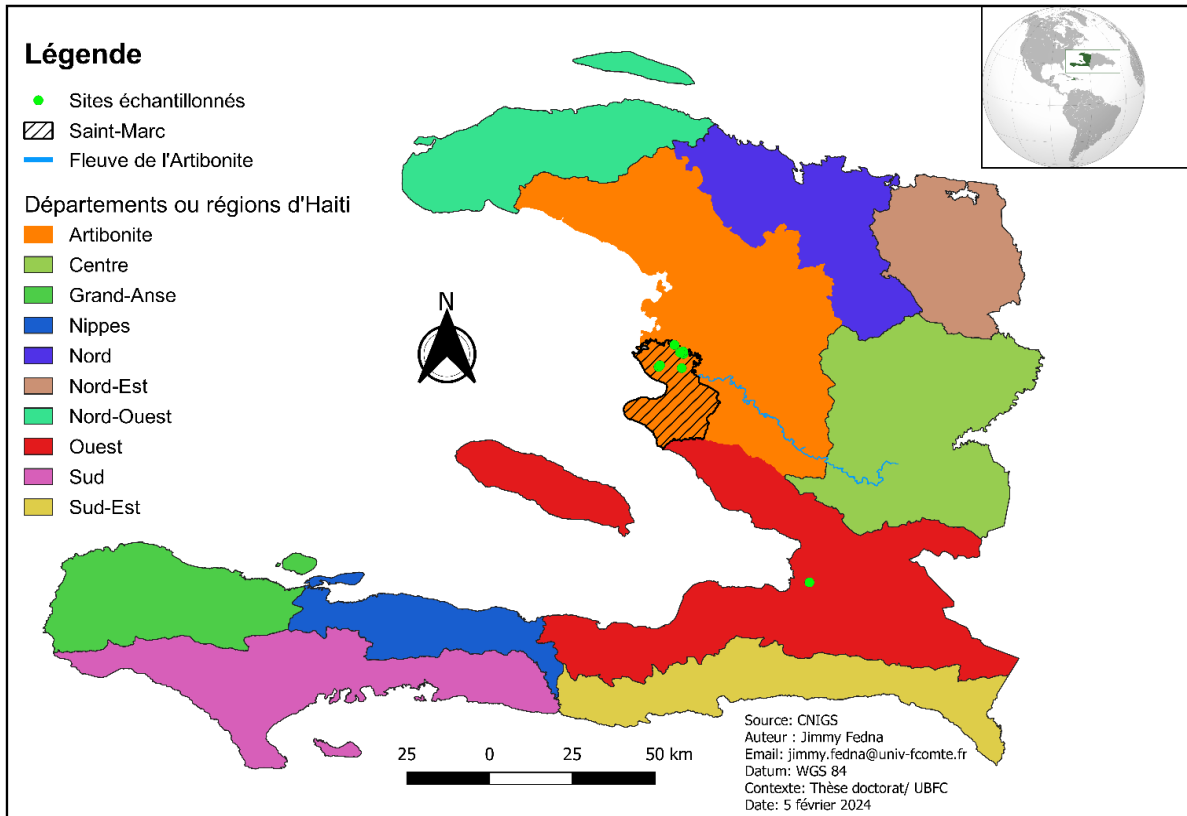


Fig.2 Carte d'Haïti avec les départements, sites de l'étude (En haut à droite : Médaillon Haïti dans le bassin Caraïbe. Image prise sur Wikipédia). Certains sites se chevauchent et n'apparaissent pas sur la carte.

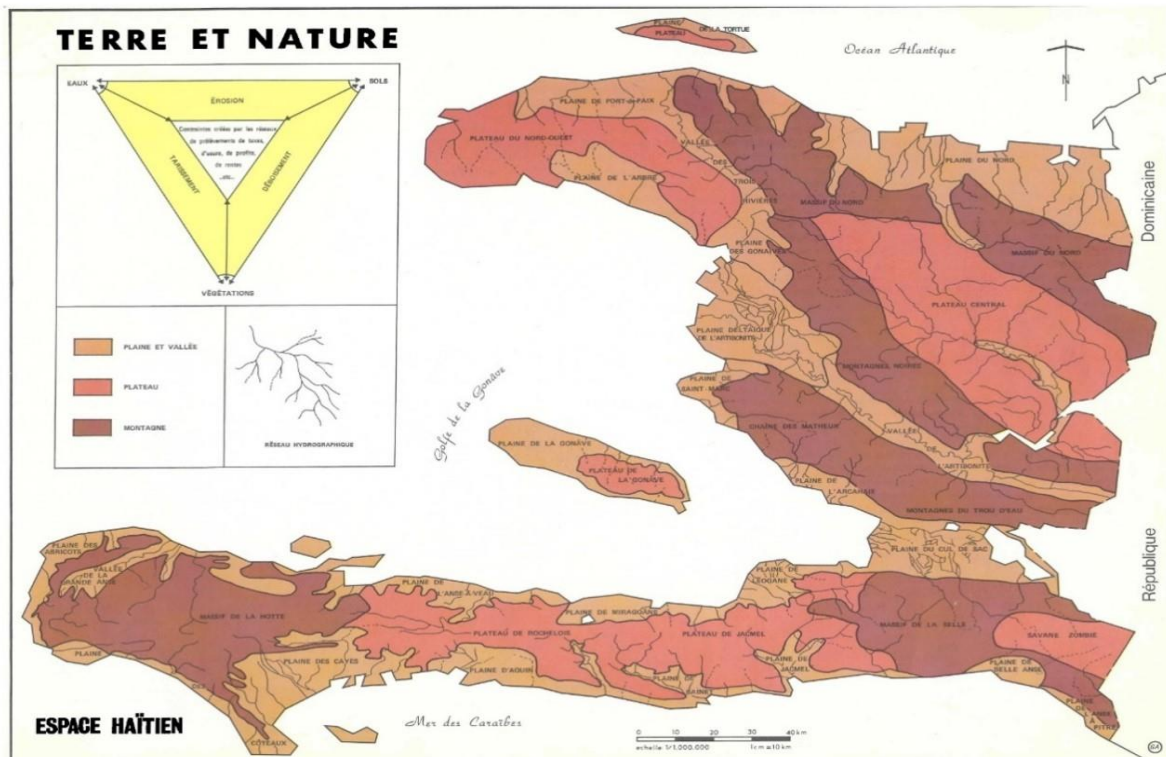


Fig. 3 Carte d’Haïti présentant ses reliefs⁷ (Anglade, caraïbes, et d’espace 1982). http://classiques.uqac.ca/contemporains/anglade_georges/atlas_critique_haiti/planches/carte_10.html.

B.2 Choix du département de l’Artibonite et de Port-au-Prince.

L’étude est réalisée sur deux départements du pays : l’Ouest et l’Artibonite. Dans le département de l’Ouest, l’agglomération de Port-au-Prince (milieu urbain) a été retenue, tandis que dans l’Artibonite (milieu rural), la commune de Saint-Marc a été retenue (Figure 2).

Les précipitations à Port-au-Prince sont très faibles de décembre à mars, avec janvier enregistrant les niveaux les plus bas de seulement 31 mm de pluie. Le mois de mai connaît davantage de précipitations, environ 240 mm de pluie, suivies de septembre et octobre avec respectivement 230 et 220 mm de pluie. La température moyenne en janvier est de 21,6 °C, faisant de ce mois le moins chaud. En revanche, en juillet et août, la température moyenne peut atteindre 24,9 °C et 24,8 °C respectivement (Figure 4a). Le département de l’Artibonite est le deuxième département le plus peuplé d’Haïti après celui de Port-au-Prince (département de l’Ouest). Sa population est estimée à 1

⁷ George Anglade Atlas Critique D’Haïti.

727 524 habitants pour une superficie de 4 987 km² et une densité de 321 hab./km² (IHSI, 2015). Environ 1200 km² de superficie sont cultivés. Le département est traversé par le fleuve de l'Artibonite, long de 365 km, drainant un bassin de 9200 km², inondant la vallée et créant des zones humides favorables à la culture du riz, qui domine dans la région. Les zones humides abondantes représentent la matrice paysagère du département. L'eau de surface est utilisée par les habitants pour divers usages tels que la baignade, l'agriculture, la pêche, la lessive, et la pâture, créant ainsi une interface homme-environnement-faune susceptible d'influencer la dynamique de transmission de parasites, de bactéries ou de virus zoonotiques. La température annuelle moyenne du département est de 25,6 °C et les précipitations annuelles moyennes sont de 674 mm. La commune de Saint-Marc a un climat tropical. Le mois le plus sec est janvier, avec 15 mm de précipitations, et la plus grande quantité de précipitations se produit en septembre, avec une moyenne de 102 mm. Le mois le plus chaud de l'année est août, avec une température moyenne de 27,2 °C. Les températures moyennes les plus basses de l'année se produisent en janvier, avoisinant les 24,1 °C (Figure 4b).

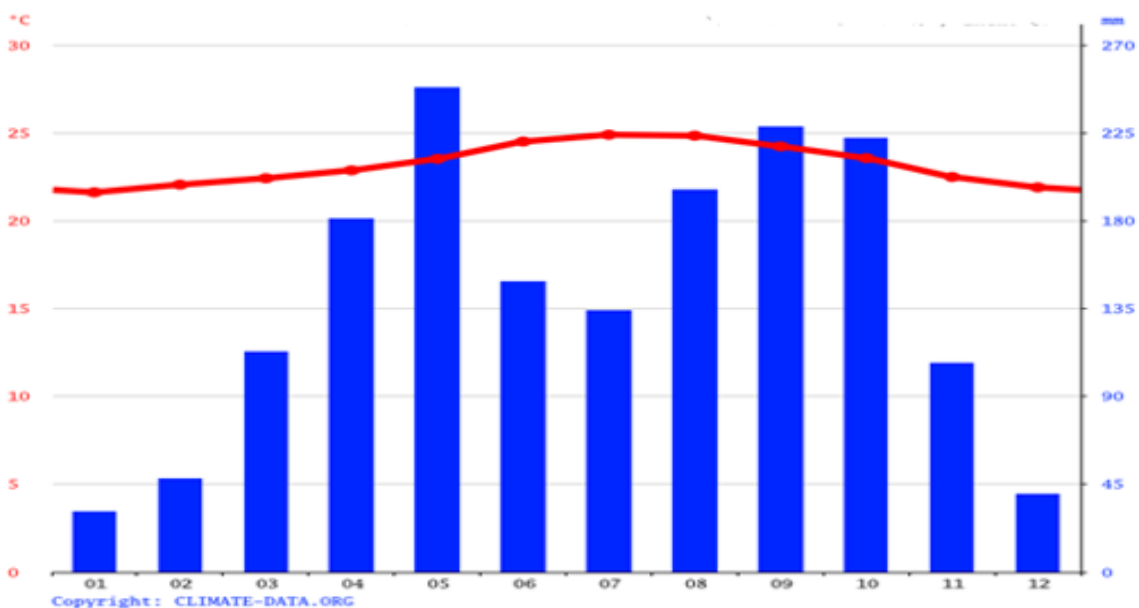


Fig. 4a Diagramme ombrothermique de Port-au-Prince.

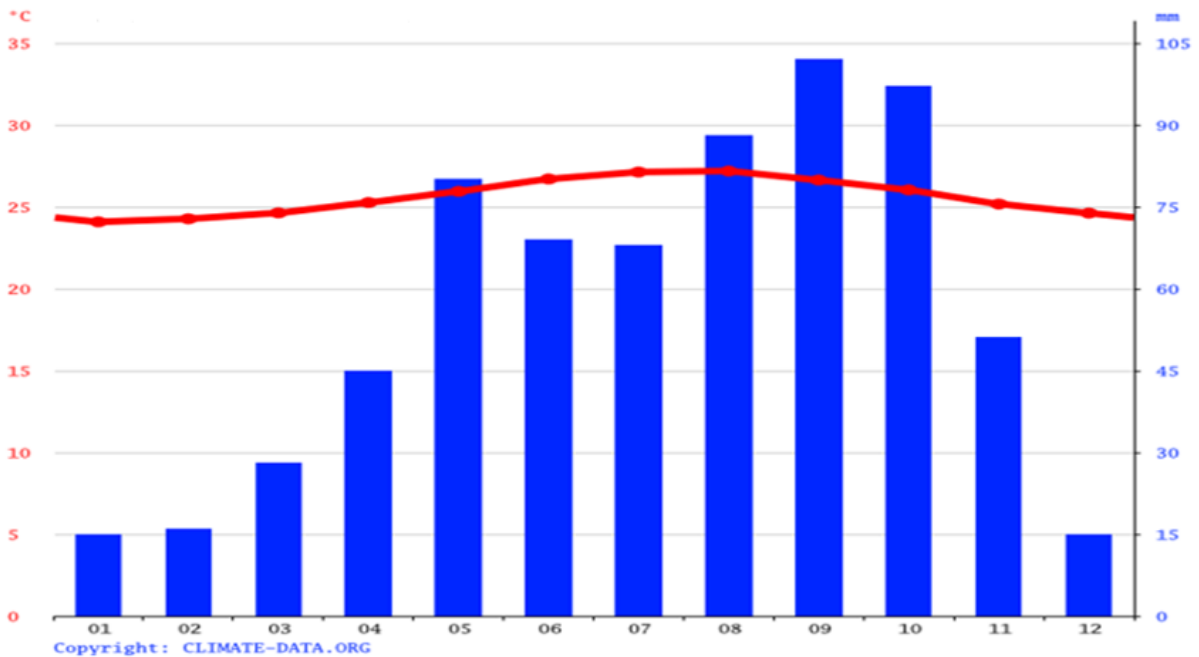


Fig.4b Diagramme ombrothermique de Saint-Marc (Département de l'Artibonite)

B.3 Description des sites, et périodes d'échantillonnage

Dans la vallée de l'Artibonite, nous avons identifié sept sites qui illustrent la diversité des activités humaines sur le sol, notamment la culture d'oignons et les rizières caractéristiques des zones rurales. Le choix des sites a été basé sur des indicateurs d'impact humain tels que la présence ou l'absence d'habitations, ainsi que sur la composition du paysage, incluant la présence ou l'absence de rizières, de zones humides et le type de cultures, qu'elles soient adaptées aux milieux secs ou inondables (Tableau 2). Tous les 7 sites sont à Bocozelle, la plus grande section communale de Saint Marc. À l'exception de Colminy et du Village Noé, classés comme zones sèches, tous les autres sites sont des zones inondables avec une matrice paysagère composée de zones humides, de rizières.

Le site de Damien présente un degré élevé d'anthropisation avec des habitations proches. Il s'agit d'une ferme expérimentale pour les étudiants en Agronomie de la faculté d'Agronomie de l'Université D'État d'Haïti (UEH). En raison de l'arrosage constant des pépinières, le site de Damien reste humide toute l'année, même pendant la saison sèche.

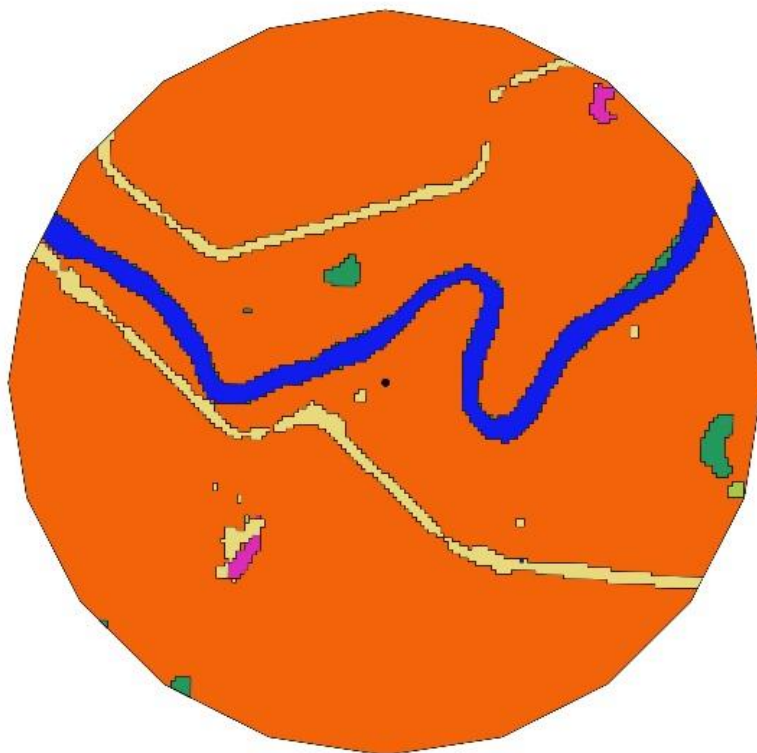
Pour décrire le paysage de chaque site, nous avons utilisé une base de données d'occupation du sol (1:450 000) dérivée de 117 images Sentinel-2 (10m) acquises en 2019 après le passage de l'ouragan Matthieu dans la région Sud du pays (CNES 2020). Cette base de données a été produite dans le cadre du Recovery Observatory

(CNES/CEOS) et réalisée par le SERTIT (<https://sertit.unistra.fr/>). Elle classe l'occupation du sol en Haïti en sept catégories : Surfaces bâties, Cultures, Végétation arborée, Végétation herbacée, Sol nu, zones humides, Surfaces en eau. En utilisant l'aire de répartition des rats comme point de référence, représentant la zone fréquentée par un individu (Davis, Emlen, et Stokes 1948) et incluant généralement les zones utilisées pour se nourrir, se reproduire et élever les jeunes (Burt 1943) nous avons défini une fenêtre d'analyse avec un rayon de 1 km pour chaque site échantillonné. Bien que notre fenêtre d'analyse de 1 km soit assez large par rapport aux distances parcourues par un rat, les individus exploitent différemment les zones de leur aire de répartition en fonction de facteurs tels que l'âge, le sexe, la densité de population, la saison et la variabilité environnementale (Kjellander et al. 2004; Safi, König, et Kerth 2007) voire peuvent migrer vers de nouvelles aires de répartition (Burt 1943). Ainsi, notre fenêtre d'analyse nous assure une estimation de la véritable étendue parcourue par les rats.

Le pourcentage de chaque classe d'occupation du sol a été calculé pour chaque zone tampon. La figure 5 présente les sites avec le pourcentage occupé pour chaque classe. Nous avons utilisé le système d'information géographique gratuit QGIS Version 3.16.8-Hannover pour réaliser ces représentations cartographiques.

Pour chaque site, dans chaque localité, nous avons consulté les associations de citoyens locales, plus spécifiquement et la population locale en général, afin d'expliquer le projet de recherche que nous menons. Une rencontre spéciale a été organisée avec la personne considérée comme le "sage" ou l'autorité de la zone, voire le ou la propriétaire du site. À chaque déplacement, nous étions accompagnés d'une personne-contact, membre de la communauté. Ces démarches servent à deux fins. La première est pédagogique : informer la population sur notre recherche et son importance, facilitant ainsi leur collaboration. La seconde est politique : la participation de la population garantit la légitimité et l'acceptation de notre travail par les habitants.

Belanger



Légendes

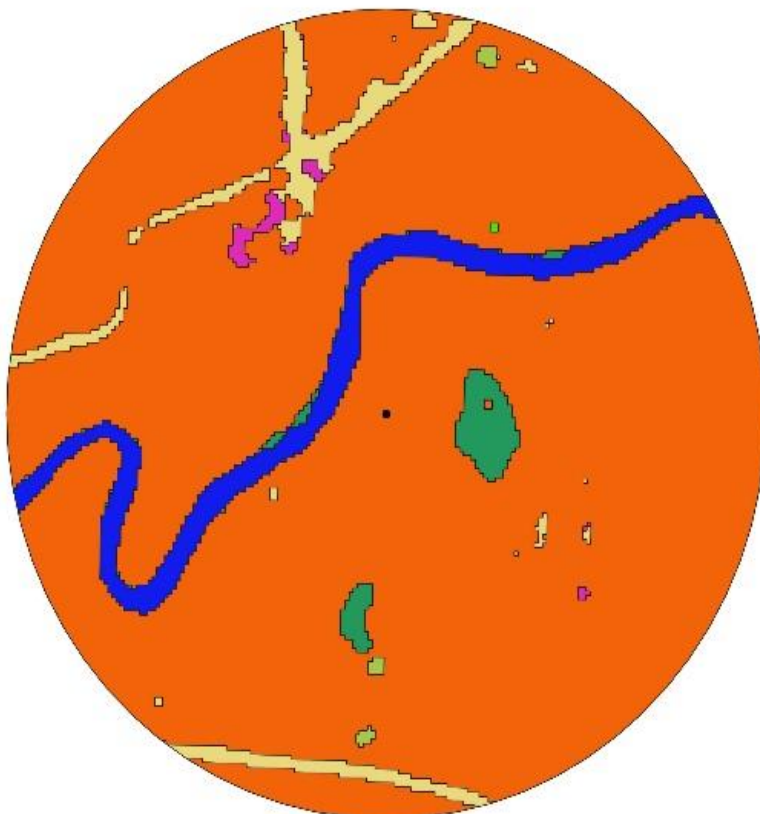
Classes d'occupation du sol

- Surfaces bâties (0.35%)
- Cultures (88%)
- Végétation arborée (0%)
- Végétation herbacée (3%)
- Sol nu (4%)
- Zones humides (0.65%)
- Surfaces en eau (4%)

0 0,25 0,5 km

Source: Carte réalisée par le SERTIT
sertit@sertit.u-strasbg.fr
<https://sertit.unistra.fr/>
Modifiée par Jimmy Fedna
e mail: jimmy.fedna@univ-fcomte.fr
Datum WGS 84
Contexte: Thèse doctorat/ UBFC

Chatelain



Legendes

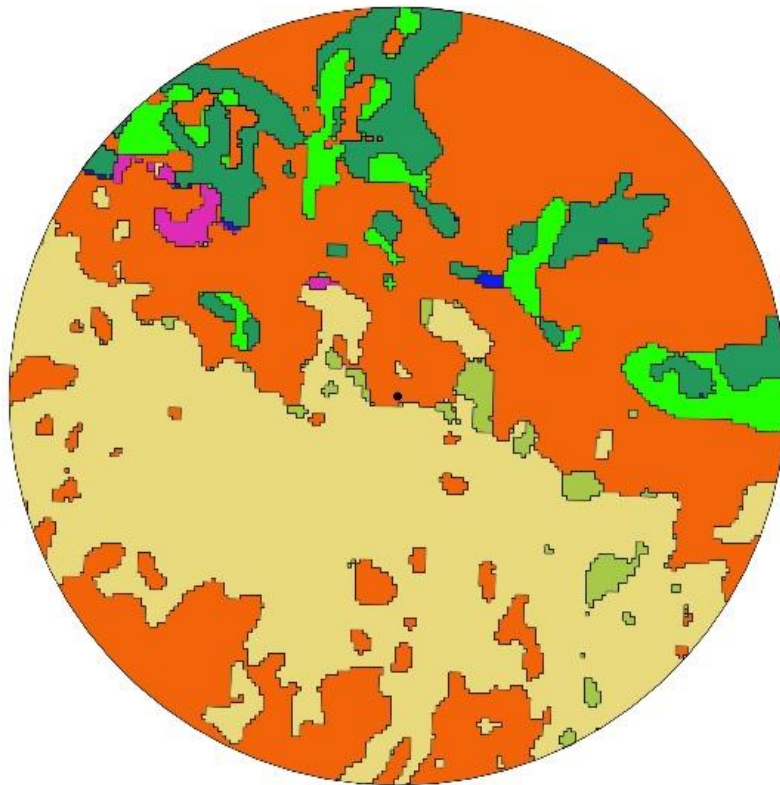
Classes d'occupation du sol

- Surfaces bâties (0.5%)
- Cultures (89%)
- Végétation arborée (0.01%)
- Végétation herbacée (0.24%)
- Sol nu (3%)
- Zones humides (1.25%)
- Surfaces en eau (6%)

0 0,25 0,5 km

Source: Carte réalisée par le SERTIT
sertit@sertit.u-strasbg.fr
<https://sertit.unistra.fr/>
Modifiée par Jimmy Fedna
e mail: jimmy.fedna@univ-fcomte.fr
Datum WGS 84
Contexte: Thèse doctorat/ UBFC

Fig.5 Classes d'occupation du sol (en%) des différents sites échantillonnés.



Colminy

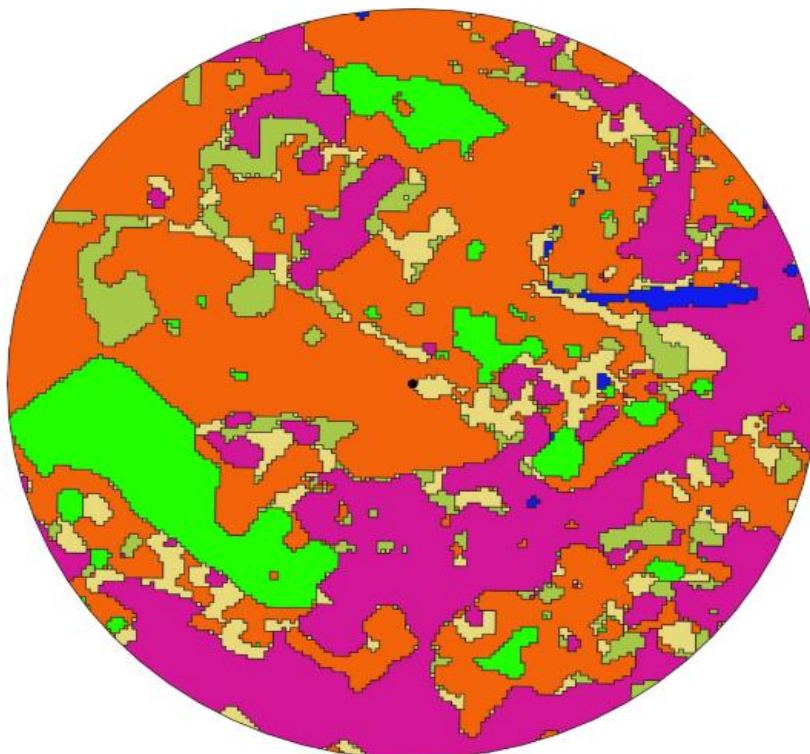
Legendes

Classes d'occupation du sol

- surfaces bâties (2%)
- Cultures (45%)
- Végétation arborée (6%)
- Végétation herbacée (2%)
- Sol nu (38%)
- Zones humides (6%)
- Surfaces en eau (1%)

0 0,25 0,5 km

Source: Carte réalisée par le SERTIT
 sertit@sertit.u-strasbg.fr
<https://sertit.unistra.fr/>
 Modifiée par Jimmy Fedna
 e mail: jimmy.fedna@univ-fcomte.fr
 Datum WGS 84
 Contexte: Thèse doctorat/ UBFC



Damien

Légendes

Classes d'occupation du sol

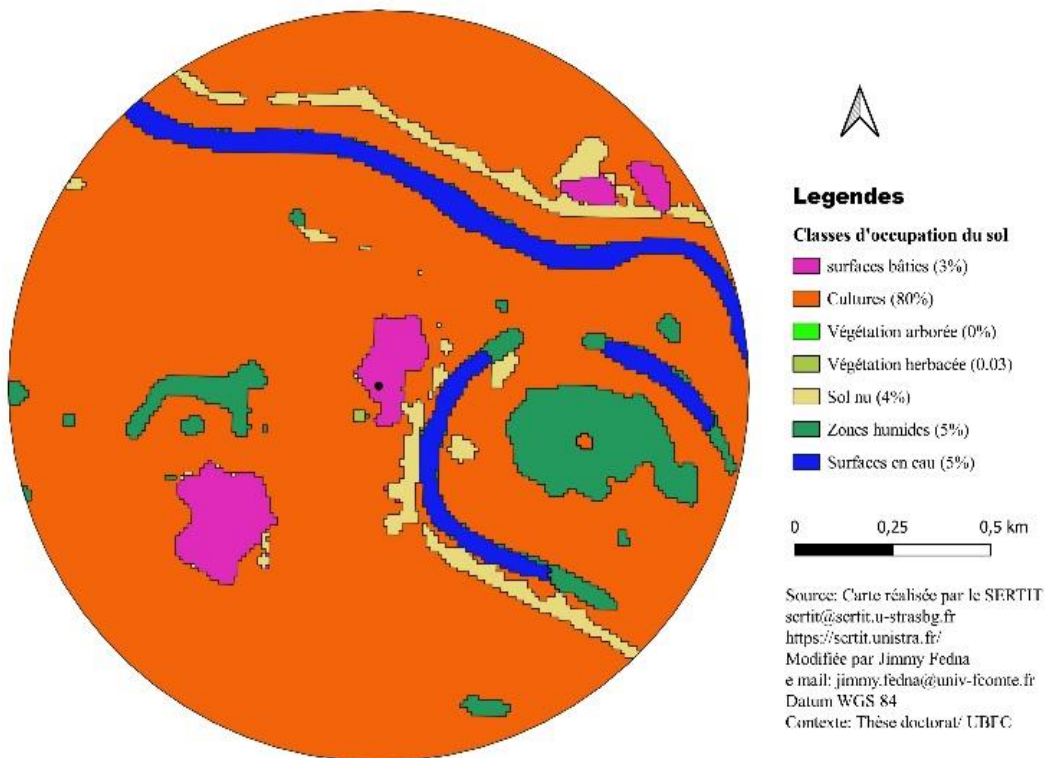
- Surfaces bâties (25%)
- Cultures (29%)
- Végétation arborée (19%)
- Végétation herbacée (19%)
- Sol nu (5%)
- Zones humides (0%)
- Surfaces en eau (3%)

0 0,25 0,5 km

Source: Carte réalisée par le SERTIT
 sertit@sertit.u-strasbg.fr
<https://sertit.unistra.fr/>
 Modifiée par Jimmy Fedna
 e mail: jimmy.fedna@univ-fcomte.fr
 Datum WGS 84
 Contexte: Thèse doctorat/ UBFC

Fig. 5 suite.

Poirier



Pothenot

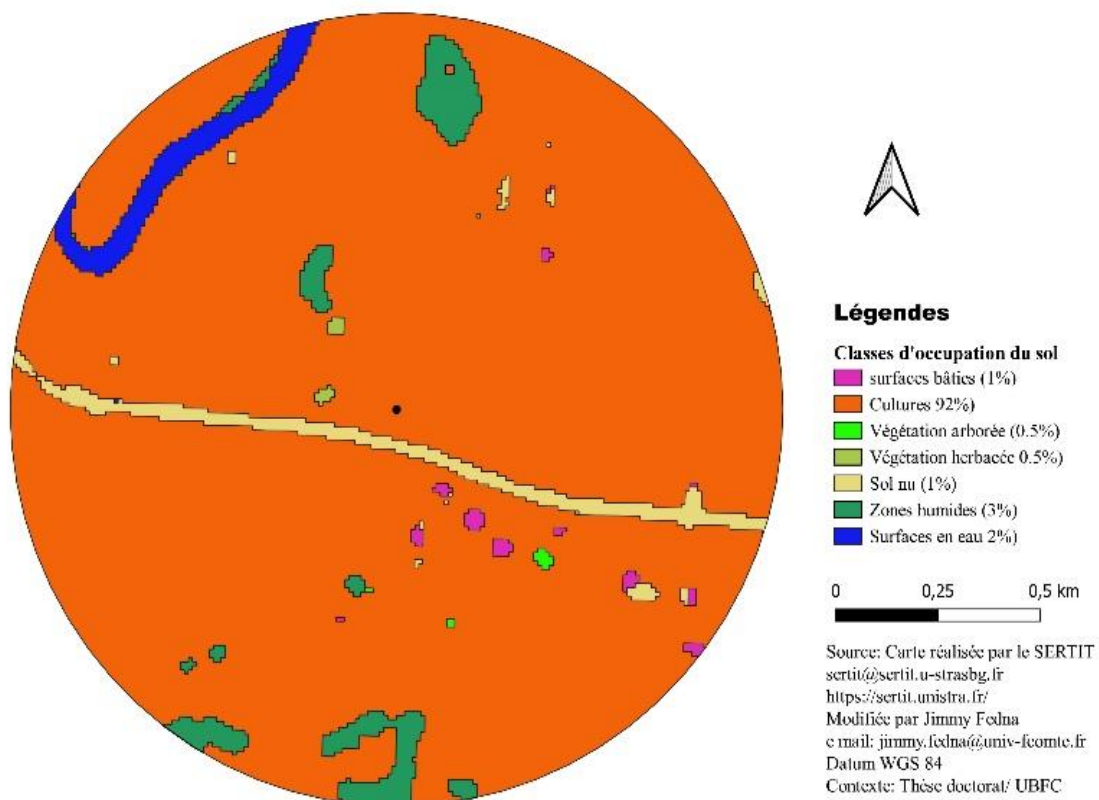
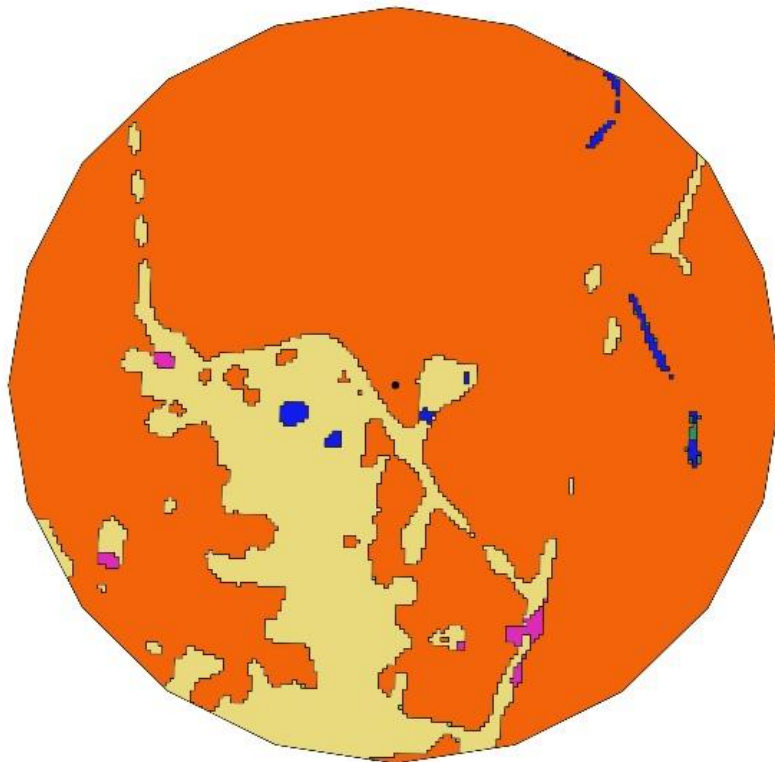


Fig.5 suite.

Timonette



Légendes

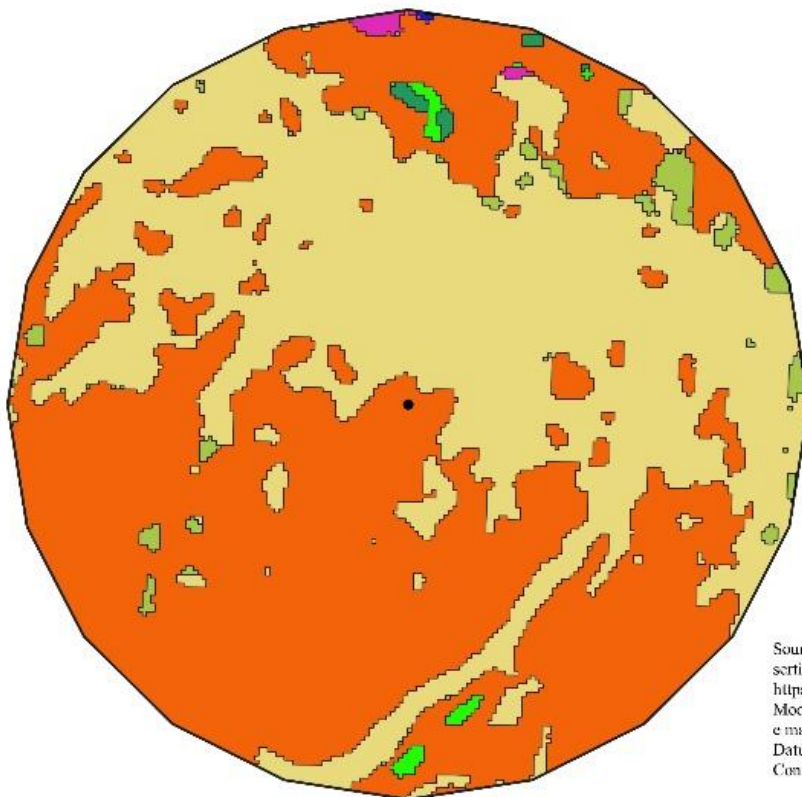
Classes d'occupation du sol

- Surfaces bâties (2%)
- Cultures (80%)
- Végétation arborée (0%)
- Végétation herbacée (1%)
- Sol nu (15%)
- Zones humides (1%)
- Surfaces en eau (1%)



Source: Carte réalisée par le SERTIT
sertit@sertit.u-strasbg.fr
<https://sertit.unistra.fr/>
Modifiée par Jimmy Fedna
e-mail: jimmy.fedna@univ-fcomte.fr
Datum WGS 84
Contexte: Thèse doctorat/ UBFC

Village Noé



Légendes

Classes d'occupation du sol

- Surfaces bâties (0.4%)
- Cultures (52%)
- Végétation arborée (0.5%)
- Végétation herbacée (2.08%)
- Sol nu (44%)
- Zones humides (0.3%)
- Surfaces en eau (0.02%)



Source: Carte réalisée par le SERTIT
sertit@sertit.u-strasbg.fr
<https://sertit.unistra.fr/>
Modifiée par Jimmy Fedna
e-mail: jimmy.fedna@univ-fcomte.fr
Datum WGS 84
Contexte: Thèse doctorat/ UBFC

Fig.5 suite.

Tableau 2. Les différents sites échantillonnés en fonction de leur niveau d'anthropisation, du contexte paysager et de l'effort d'échantillonnage. L'unité d'effort d'échantillonnage ici est une nuit-piège (chaque piège posé pour une nuit). L'effort d'échantillonnage total = Nombre de nuits X nombre de pièges. Par ex. pour Belanger l'effort est : 8900 nuits-pièges.

Sites (Localités)	Facteurs d'anthropisation	Composition du paysage	Coordonnées GPS	Altitude (en mètres)	Nombre de nuits et nombre de pièges
Belanger	Pas de présence humaine Pas d'habitations	Pas de cultures (hélrophytes/ zone humide	19.22178° N -72.66240° W	12 m	20 nuits et 445 pièges
Chatelain	Pas de présence humaine Pas d'habitations	Rizières / zones humides	19.22461° N -72.65381° W	12 m	28 nuits et 510 pièges
Colminy	Pas de présence humaine Pas d'habitations	Aubergine, piment, oignons, poivrons/ Terre sèche	19.18516° N -72.71958° W	11 m	20 nuits et 300 pièges
Damien	Forte densité humaine Milieu urbain	Champs de canne à sucre et de cultures Vivrières, vergers de manguiers et autres arbres fruitiers).	18.15955° N -72.29310° W	22 m	7 nuits et 105 pièges
Pothenot	Présence humaine Habitations	Rizières/ zone humide	19.21755° N -72.65264° W	10 m	20 nuits et 554 pièges
Poirier	Présence humaine Habitations	Pas de cultures (hélrophytes/ zone humide	19.19243° N -72.67849° W	8 m	20 nuits et 315 pièges
Timonette	Pas de présence humaine Pas d'habitations	Cocotier, Bananier/ zone inondable	19.17680° N -72.65740° W	13 m	33 nuits et 880 pièges
Village Noé	Présence humaine Habitations	Pas de cultures/ terre sèche non inondable	19.18050° N -72.72378° W	48 m	24 nuits et 754 pièges

Les échantillons de rats et de gastéropodes ont été collectés au cours de deux périodes distinctes : en novembre 2020 (à la fin de la saison des pluies et au début de la saison sèche) et en septembre 2021 (pendant la saison pluvieuse). Les problèmes socio-politiques et d'insécurité du pays nous ont malheureusement empêchés de mener une campagne d'échantillonnage pendant la période sèche, c'est-à-dire en décembre, janvier et février.

Un laboratoire de terrain a été installé dans la localité de Timonette avec un auvent pour se protéger de la pluie (Photo 1) et ruban de sécurité, pour les dissections et prélèvements d'organes des rats.



Photo 1 Laboratoire de terrain installé dans la localité de Timonette

B.4 Captures et dissection des rats

Nous avons suivi les protocoles du manuel "Protocols for field and laboratory rodent studies" (Herbreteau et al. 2011) ainsi que les lignes directrices de la American Society of Mammalogists pour l'utilisation des mammifères sauvages dans la recherche (Sikes, Care, et Mammalogists 2016) et la DIRECTIVE 2010/63/UE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 22 septembre 2010 <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010L0063&from=DE> concernant la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques. Ces protocoles régissent les étapes de capture, d'anesthésie et d'euthanasie des rats.

Nous avons confectionné des pièges-cages de dimensions 36x30x20 cm (Photo 2) afin de capturer les rats en vie. Ces pièges ont été fabriqués localement par un artisan de la région. Le piégeage vivant présente l'avantage de maintenir les rats intacts, permettant ainsi des prélèvements de sang et d'organes frais.

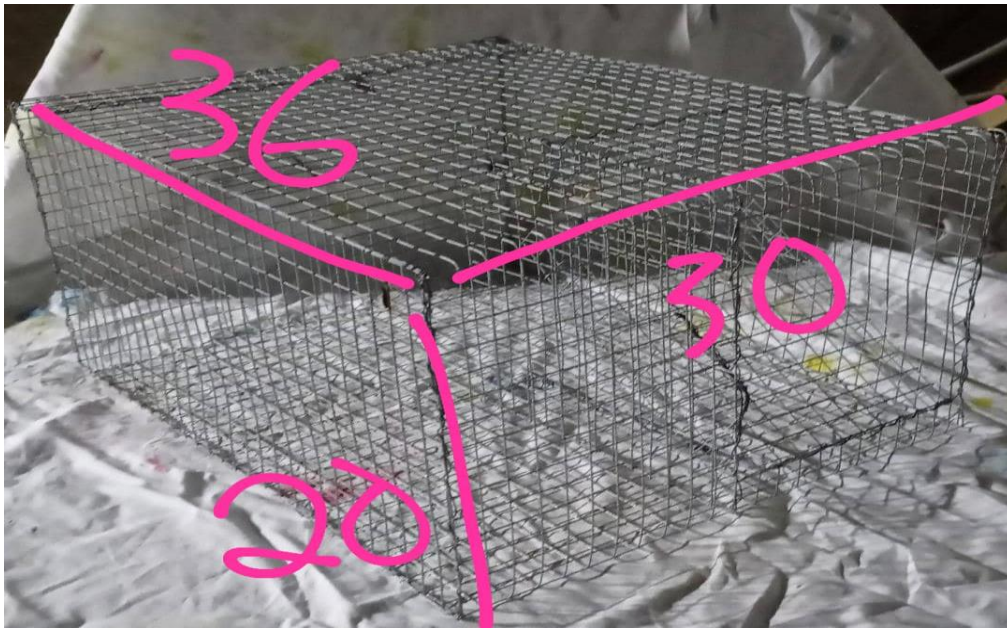


Photo 2 Pièges faits par un artisan de la zone, les chiffres indiquent les dimensions en cm.

Utilisation des pièges

Les rats étant des animaux nocturnes, les pièges ont été installés vers 18 h au coucher du soleil et récupérés le lendemain matin vers 6 h. Le nombre de pièges par site a été ajusté en fonction des contraintes logistiques et autres imprévus. Afin de surmonter la néophobie des rats, les pièges ont été appâtés mais non activés pendant les trois premiers jours sur les sites. Cette période a permis d'établir une sorte de contrat de confiance entre les rats, les pièges et l'appât.

Différents types d'appâts, tels que le riz, le hareng, le salami et les « chico » (une sorte de collation au fromage très appréciée des rats, d'après les résidents), ont été utilisés pour capturer les rats en se basant sur les recommandations de la littérature et les conseils des habitants. Les résidents adultes et les enfants ont été impliqués dans le déploiement des pièges sur chaque site. Cependant, une ou deux personnes ont été désignées pour surveiller les pièges en échange d'une petite gratification en monnaie locale.

Manipulation et dissection des rats

Les rats, maintenus dans leurs pièges, ont été transférés dans une boîte hermétique transparente. De l'isoflurane liquide a été versé dans un flacon, puis vaporisé directement sur les rats. Après cette étape, les rats ont été retirés de la boîte et euthanasiés par dislocation cervicale. Une fois disséqués, nous avons prélevé le cœur,

les poumons de chaque individu, ainsi que le foie et l'estomac pour certains spécimens. Les yeux de tous les individus ont été prélevés afin de récupérer les cristallins, permettant ainsi de calculer l'âge des individus (Hardy, Quy, et Huson 1983; Tanikawa 1993) .

Toutes les mesures d'hygiène et de sécurité ont été rigoureusement observées, notamment à travers l'utilisation d'un ruban de sécurité délimitant le laboratoire de terrain, ainsi que l'utilisation de gants et de masques de type FFP2 lors de la manipulation des rongeurs (Photo 3). Nous avons bénéficié de l'assistance et des conseils à distance, via WhatsApp, d'un anesthésiste et d'un parasitologue haïtiens.



Photo 3. Opération de dissection et de prélèvement des organes sur les rats piégés dans un laboratoire de campagne.

Mesures morphométriques sur les rats et autres remarques

Sur chaque individu plusieurs mesures externes morphométriques ont été prises : Poids - taille – longueur crâne – longueur oreille – longueur patte arrière - Mesure testicules - détermination du sexe – Nombre de tétines. Des remarques : si « gestation » (présence de fœtus) ou encore si « entailles » (présence de coupures, blessures).

B.5 Conservation et stockage des rats

Les organes des rats prélevés ont été conservés dans des récipients stériles à vis contenant de l'alcool à 70%, tandis que les yeux ont été préservés dans des Eppendorf avec du formol à 10%.

B.6 Détermination des espèces de rats

Selon les informations du parasitologue Jacques Blaise (communication personnelle), il existe seulement deux espèces de rats en Haïti : le rat brun *Rattus norvegicus* et le rat noir, *R. Rattus*. Ce dernier se distingue par une queue plus longue que son corps (longueur du corps mesurée du museau à la base de la queue) et une morphologie plus trapue, tandis que chez le rat brun, c'est l'inverse. Ces mesures ont été utilisées pour différencier les deux espèces. Cependant, pour une identification plus précise, le gène *cytB* du génome mitochondrial du rongeur a été amplifié à l'aide des amorces For-*cytB*-RFLP/Rev-*cytB*-RFLP (voir article n°2).

B.7 Diagnostic et détection d'*A. cantonensis* chez les rats.

Les organes tels que les artères pulmonaires, les cœurs et les poumons ont été examinés à la loupe binoculaire afin de rechercher la présence du parasite. Tout organisme ressemblant à un ver a été soigneusement mis de côté dans un tube étiqueté : R#C, R#P (pour Rongeur # Cœur, Poumons). Les spécimens ont été clarifiés dans le lactophénol, puis identifiés d'abord sous un microscope optique en se basant sur la morphologie de la bourse caudale et la taille des spicules (Maldonado Junior et al. 2010 ; Moreira et al. 2013) . Une confirmation a été réalisée par PCR/séquençage directement sur les tissus pulmonaires à l'aide des amorces NC1/NC2 ciblant le gène ITS2 (ADN nucléaire ITS2 gene (strongylid nematodes PCR) (Fang et al. 2012), en suivant le protocole de da Mota et collègues (Goncalves da Mota et al. 2020).

Simultanément, une analyse phylogénétique a été entreprise à partir des résultats de PCR/séquençage directement sur les vers adultes, en ciblant le gène COX1 (Cytochrome c oxydase I) selon un protocole pré-établi par plusieurs auteurs (Monte et al. 2014 ; M. Wang et Lv 2014 ; Goncalves da Mota et al. 2020). Les séquences de nucléotides d'ADN obtenues par PCR/séquençage du gène *Cox1* des vers adultes ont été comparées à une vingtaine d'autres séquences isolées de l'espèce *A. cantonensis* provenant de divers pays, téléchargées depuis la base de données Genbank. L'alignement de ces séquences a permis une analyse phylogénétique par probabilité

maximale, révélant ainsi le degré de proximité entre les souches haïtiennes et d'autres souches en provenance du Brésil, du Japon, de la Guadeloupe et de la Polynésie française, par exemple.

La prévalence du parasite a été calculée en utilisant la formule : Nombre d'individus infectés par le parasite / Nombre total d'individus capturés x 100.

B.8 Gestion et analyse des données

Toutes les données ont été consignées sur des fiches standard de prélèvement/dissection avant d'être enregistrées dans un tableur Excel en vue d'analyses statistiques à l'aide du logiciel R version 4.2.2 (2022-10-31 ucrt). La nature des analyses statistiques sera mentionnée dans les différents chapitres.

C. Résultats - Articles

C.1 J. Fedna, J.H. Henrys, G. Bornette, F. Grenouillet, F. Raoul. 2024. **Transmission ecology of *Angiostrongylus cantonensis*. A systematic review.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (En révision).

En appliquant la méthode PRISMA, nous avons réalisé une revue systématique à partir de diverses bases de données. Cette revue synthétise les connaissances sur la niche écologique du parasite, en mettant particulièrement l'accent sur le rôle des facteurs abiotiques tels que le climat et des facteurs biotiques comme la prédation, dans la dynamique du parasite au sein de son environnement.

Notre revue a approfondi le concept du 'filtre de rencontre' et a identifié les lacunes présentes dans les recherches actuelles sur l'écologie de la transmission de ce parasite, en se penchant notamment sur le régime alimentaire de l'hôte définitif, la densité des populations et l'influence des facteurs climatiques sur le cycle parasitaire.

**Transmission ecology of *Angiostrongylus cantonensis*.
A systematic review.**

J. Fedna^{1,3,*}, J.H. Henrys³, G. Bornette¹, F. Grenouillet^{1,2}, F. Raoul^{1,8}

1 : Chrono-environnement UMR 6249, CNRS Université de Franche-Comté, F-25000, Besançon, France.

2 : Sérologies Parasitaires et Fongiques, CHU, Besançon, France.

3 : Equipe de Recherche sur l'Écologie des Maladies Infectieuses et Tropicales (EREMIT), Port-au-Prince Haïti.

Abstract

Angiostrongylus cantonensis, commonly known as rat lungworm, is a parasitic nematode that is the leading cause of eosinophilic meningitis in humans. The life cycle of the parasite involves rats as definitive hosts, snails or slugs as intermediate hosts and a lot of paratenic or permissive hosts acting as reservoirs. A parasite must pass two filters, the encounter filter and the compatibility filter to achieve a lasting interaction with its host. This review focuses on the encounter filter. We present a conceptual

⁸ Corresponding authors: jimmy.fedna@univ-fcomte.fr
francis.raoul@univ-fcomte.fr

model of the transmission of *A. cantonensis* among its hosts and describe the "encounter filter" factors that are potentially involved. The role of environmental factors, such as climate, in influencing host population dynamics and L1-stage larval survival is discussed.

Keywords: *Angiostrongylus cantonensis*, eosinophilic meningitis, encounter filter, transmission ecology, zoonoses.

Résumé

Angiostrongylus cantonensis, communément appelé ver pulmonaire du rat, est un nématode parasite qui est la principale cause de méningite éosinophile chez l'homme. Le cycle de vie du parasite implique des rats comme hôtes définitifs, des escargots ou des limaces comme hôtes intermédiaires et de nombreux hôtes paraténiques ou permissifs agissant comme réservoirs. Un parasite doit passer deux filtres, le filtre de rencontre et le filtre de compatibilité pour parvenir à une interaction durable avec son hôte. Cette étude se concentre sur le filtre de rencontre. Nous présentons un modèle conceptuel de la transmission d'*A. cantonensis* parmi ses hôtes et décrivons les facteurs du "filtre de rencontre" qui sont potentiellement impliqués. Le rôle des facteurs environnementaux, tels que le climat, dans l'influence de la dynamique des populations d'hôtes et de la survie des larves au stade L1 est discuté.

Introduction

Zoonoses are human infectious diseases transmitted from various species of domestic or wild animals to humans by means of a vector or by direct contact. They are caused by bacteria, viruses, fungi, parasites (including helminths), as well as by arthropods (Jones et al. 2008; Woolhouse et Gowtage-Sequeria 2005). These diseases represent a major public health issue, particularly in tropical and equatorial zones, but also increasingly on a global scale, because of climate change, increased human pressure on natural environments, agricultural intensification, and the increased mobility of living organisms. Consequently, they also constitute a serious emerging risk for populations in temperate zones. For example, several studies suggest that warmer temperatures will enhance the transmission rate of infectious diseases and will widen their geographical distributions (Banu et al. 2014; Evengård et

Sauerborn 2009a; Kelly-Hope et al. 2008; Y. Zhang, Bi, et Hiller 2008). The causes are multifactorial and differ from country to country: they include, for example, land use changes, deforestation, and subsequent losses of biodiversity, overpopulation, poverty, slums, lack of sanitation, hygiene, drinking unsafe water, limited access to health care. These factors ultimately facilitate or increase the interactions between the intermediate hosts or the paratenic and permissive hosts that may act as reservoirs, their parasites and human beings.

Among zoonotic agents, the rat lungworm, *Angiostrongylus cantonensis* (Chen 1935), a parasitic nematode (roundworm) is the most common cause of eosinophilic meningitis in humans, zoonosis also named human nervous angiostrongyliasis, neuroangiostrongyliasis or angiostrongyliasis (Barratt et al. 2016). *Angiostrongylus cantonensis* is belonging to the superfamily Metastrongyloidea and family Angiostrongylidae (Anderson 1978) and was described from rat lungs in the Canton region (now Guangzhou) in China by Chen in 1935 (H.-T. Chen 1935).

Stage larvae (L1) are ejected in the feces of rats. These contaminated droppings are then consumed by snails or slugs. The larvae can infiltrate the snail by traversing the body wall or respiratory pores. Within the snail, the larvae progress to the third larval stage (L3), where they remain until the snail is ingested or dies. Upon ingestion by a rat, the larvae traverse the animal's intestinal tract to reach the small intestine. Subsequently, they breach the intestinal walls and enter the bloodstream. Passively carried through the bloodstream, some larvae eventually make their way to the central nervous system and invade the brain. Inside the brain, the larvae mature into the subadult stage. Mild infections typically result in minimal harm and do not trigger significant behavioral reactions, whereas severe infections may cause more substantial damage and observable behavioral symptoms. Upon reaching the subadult stage within the brain, the worms vacate this organ, infiltrate the venous circulatory system, and migrate towards the right ventricle of the heart and the pulmonary arteries. Within these regions, the worms mature, attain sexual maturity, mate, and females deposit eggs. The eggs travel through the bloodstream to the lungs, hence the term "rat lungworm disease." Within the lungs, the eggs hatch, giving rise to first-stage larvae in lung tissue. Depending on the severity of infection, rats may endure considerable damage to arteries from adult worms and lung injury from inflammatory responses to larvae. First-stage larvae breach the walls of bronchioles and alveoli,

ascend the trachea within respiratory secretions, and are eventually swallowed to be excreted in the stool. The cycle repeats when snails ingest the contaminated feces, assuming the rat consumes the infected snail promptly after the snail larvae reach the third stage, completing the cycle in approximately 45 days (Cowie 2013)

Humans can become infected with *A. cantonensis* in the same way as rats, by intentionally or accidentally ingesting snails or slugs infected with third-stage larvae. The larval development process follows a similar course to that in rats until the larvae reach the subadult stage in the human brain. Most of these worms are unable to re-enter the circulatory system and, after moving through brain tissues, eventually die. Neurological damage is thought to result from both the physical damage caused by the worms' movement in the brain and the inflammation triggered by the immune response to the worms. This immune response appears to be more intense in response to dead worms than to live worms. Some worms may reach the pulmonary artery and lungs without reproducing. Additionally, worms have been observed in the eyes, a phenomenon seen in infections by other neurotropic parasites. Other animals can also serve as accidental hosts for *A. cantonensis*.

Humans can also become infected by ingesting paratenic hosts, which are hosts on which *A. cantonensis* larvae cannot fully develop but remain alive for some time. Paratenic hosts, including various other animals such as freshwater shrimp, frogs, and flatworms, become infected by consuming already infected intermediate hosts. Paratenic hosts are not essential for the life cycle. Larvae do not develop and reproduce in these hosts. They can infect definitive, accidental, or paratenic hosts when consumed. L1 stage larvae will not survive or develop in these hosts. Only L3 larvae will survive in paratenic hosts, but they will not develop there and will remain dormant until the paratenic host is consumed by a definitive or accidental host (Cowie 2013).

The medical importance of this parasite was overlooked until 1944 when it was found infecting humans in Taiwan (Nomura et Lin 1945). However, these authors did not figure out a definitive link between the worm and the disease (J. E. Alicata 1988). The first suspicion of an eosinophilic meningitis due to *A. cantonensis* in Tahiti occurred during the outbreak in the 1950's (J. Alicata 1962a). Then the confirmation of human

disease due to this nematod occurred in Hawaii in 1961 (Rosen et al. 1962; Rosen, Laigret, et Bories 1961; Horio et Alicata 1961) .

Eosinophilic meningitis caused by *A. cantonensis* has now been reported from about 30 countries, and is gaining recognition as an emerging zoonosis. The disease is endemic in southeast Asia, Australia, Pacific Islands, and the Caribbean. By 2008, over 2,800 cases of human angiostrongyliasis had been documented throughout these regions, or identified in travelers returning from these regions (Federspiel, Skovmand, et Skarphedinsson 2020; Ansdell et Wattanagoon 2018) .

The incubation period in humans is highly variable, ranging from one day to several months. The symptoms include headache, vomiting, nausea, fever, paresthesia, stiff neck, fatigue, body ache, photophobia, transient hypertension and/or lethargy (Epelboin et al. 2016; Lv, Zhou, et Andrews 2017). Most cases are described as mild and self-limited, although some fatalities have occurred following a massive ingestion of infective L3 larvae (Bowden 1981; Epelboin et al. 2016; Malhotra et al. 2006; Sinawat et al. 2019). As the symptoms of the disease are not specific a presumptive diagnosis can usually be made on the basis of hypereosinophilia of the cerebrospinal fluid, specific eating habits of the patient, a clinical picture of the patient, a history of exposure to the intermediate or paratenic hosts, the place of residence, or recent travel to an endemic area (Graeff-Teixeira, Aramburu da Silva, et Yoshimura 2009; Kramer et al. 2020; Kuberski 1981; Lo Re III et Gluckman 2003). Serological tests (mainly Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA and immunoblot) can support clinical diagnosis but positivity of these tests is often delayed (Eamsobhana, Yoolek, et Kreethapon 2003; Maleewong et al. 2001). Moreover, their specificity is not optimal, with several cross reactions (Graeff-Teixeira, Morassutti, et Jones 2018; Morassutti et al. 2017). They are not commercially available, and *A. cantonensis* serology can be performed only in specialized laboratories. Proven diagnosis can be achieved by detection of *Angiostrongylus* DNA in cerebrospinal fluid of infected patients, as seeing larvae in humans is very rare (Eamsobhana et Yong 2009; Epelboin et al. 2016; Murphy et Johnson 2013; Apichat Vitta 2012). Usually, the disease heals spontaneously without complications but symptoms may persist for weeks or months. Use of corticosteroids (prednisolone, dexamethasone) and/or anthelmintics (albendazole, mebendazole) is highly debated (Epelboin et al. 2016; Marsh 1998; Sawanyawisuth et Sawanyawisuth 2010; Tsai et al. 2001; Tu et Lai 2006). But a

consensus is being reached that both corticosteroids and anthelmintics can be used (Ansdell et al. 2021).

A. cantonensis is recognized as the leading cause of eosinophilic meningitis worldwide, occurring on all continents, except Antarctica through the finding of adult and larval stages in definitive and intermediate hosts, respectively (Kim et al. 2014; Sen Yong et Eamsobhana 2013). The parasite was so far unknown in Europe but *A. cantonensis* was only recorded in continental Europe very recently (Galan-Puchades et al. 2022) . And, an inhabitant of Paris (France), with no recent history of travel to endemic areas or consumption of imported food, was diagnosed in 2016 with eosinophilic meningitis caused by *A. cantonensis* (Nguyen et al. 2017). The parasite has also been detected in *Rattus rattus* in Tenerife, Canary Islands (Spain) (Foronda et al. 2010) and on the Balearic Islands, Mallorca, (Spain) in *Atelerix algirus*, north african hedgehogs (Paredes-Esquivel et al. 2019). It is now in continental Spain (Galan-Puchades et al. 2022; 2023; Paredes-Esquivel et al. 2023). These different records all together suggest an expansion of the parasite's geographic range to higher latitudes which may constitute a major zoonotic risk for Europe.

This review proposes to synthesize the knowledge on the ecological niche of *A. cantonensis*, *i.e.* all the components of its biotic and abiotic habitat in their spatial and temporal dimensions. More particularly, we aimed to explore variation in its abiotic and biotic environment, and how this affects its population dynamics. This may allow better definition of the health risks depending on the ecological context. This review finally aimed to identify research gaps by noting limitations in previous published works.

Methodology

Strategy of bibliographic survey

We screened 4 databases (Google Scholar, PubMed, Scopus, Web of Science) following the PRISMA framework (Page et al. 2021; Liberati 2009). The searches were performed by two research strings using the Boolean operators OR, AND, “*” (angiostrongyl*OR rat lungworm, angiostrongyl*OR rat lungworm AND larvae) from April to May 2020 with the last update in February 2022. The inclusion criterion were that the studies dealt with the ecological niche of *A. cantonensis*.

There was no limitation of the publication date for the search. The oldest papers referenced date back to the 1960s, and articles in English, French, Spanish and Portuguese were incorporated into the synthesis.

The articles were initially identified according to the titles, abstracts, and keywords, and the duplicates were removed by using a reference management software, Zotero 5.0. Abstracts and full texts were analysed and articles were considered or not according to several criteria of exclusion:

- Bibliometrics (articles that assess scientific productivity as the number of publications by a country's researchers on the subject)
- Biochemical (immune response, genetic, detection method, gene expression)
- Book Chapter unrelated to climatic parameters or ecological factors
- Experimental infections
- Fact sheet
- Foodborne disease
- Full text not available
- Geographic distribution of hosts unrelated to prevalence
- Human case reports (physiopathology, clinical symptoms, diagnostic, treatment, prevention, public health, seroepidemiology studies)
- Negative studies (*i.e.* species examined but none were infected in the study)
- Other *Angiostrongylus* spp., other nematodes
- Papers written only in Chinese or Japanese
- Replies / comments to an article, erratum
- Review (history, taxonomy, phylogeny, lifecycle, case reports)
- Redundant data (that Zotero did not identify as duplicates)
- Workshop, congress, meeting (unrelated to prevalence, ecological factors)

We finally considered all papers that discussed natural infections of definitive, intermediate, or paratenic hosts by *A. cantonensis* with an emphasis on niche and transmission ecology. Differences in infection rates may vary depending on the detection methods used. All the articles included in our review used morphological and/or molecular identification methods for detecting *A. cantonensis* infection in hosts. Figure 1 presents the flow diagram of the selection process.

Results

Initially, 8514 articles were found: 23 in Google Scholar, 1232 in PubMed, 1528 in Scopus, and 5731 in the Web of Science. In total, 5112 duplicates were removed, thus 3402 articles were retained after the first screening step.

After screening abstracts and titles, 1770 publications were rejected using the criteria indicated above. Finally, 1632 articles were retained based on titles and abstracts only. Of these, 1431 articles were excluded because they were not reporting any dimension of the ecological niche. Our review therefore covers 201 papers, with publication dates ranging from 1962 to January 2022.

Analysis

Prevalence of *A. cantonensis* in natural rodent populations and geographical distribution.

Geographical distribution

Based on the information from 58 articles, *A. cantonensis* was found from approximately 33°N (Red Slough Wildlife Management Area, in Oklahoma, US) to 35°S latitude (Jervis Bay in Australia), and from 94°W (Red Slough Wildlife Management Area) to 159° E (Rarotonga Cook Islands). Based on the Köppen-Geiger climate classification, the sites in which the worm was found have either a tropical climate (Af: Tropical rainforest climate; Am: Tropical monsoon climate; Aw: Tropical savanna climate with dry-winter characteristics), dry climate (BSh = Hot semi-arid climate BWh = Hot desert climate), or temperate climate (Cwa = Monsoon-influenced humid subtropical climate Cfa = Humid subtropical climate; Cwb = Subtropical highland climate). The site of Tegueste (Canary Island) has the lowest average annual temperature of 17°C and the one of Phitsanulok (Thailand) the highest of 27°C. Giza Governorate (Egypt) had the lowest average annual precipitation (18 mm), with that at Babahoyo in Ecuador having 6516 mm. The distribution of these climates in the different localities studied is represented in figure 2.

Prevalence of the parasite in rodents and a shrew

Fifty-eight papers dealt with the worm prevalence among its definitive hosts. Forty-six species belonging to the orders Rodentia or Soricomorpha were investigated (*i.e.* 33741 individuals examined) (Figure 3 shows the number of rats analyzed by country) 16 species of rodents and one species of shrew, *Suncus murinus* (Soricomorpha)

among the 46 were found infected with *A. cantonensis*. In total, 29291 rodents and shrews of these 16 species were examined in around 100 locations in 29 countries and 4450 individuals were found infected (*i.e.* an overall prevalence of 15%; range 1% - 68%) (see Supplementary File 1 for more details). Table 1 and figure 4 present the prevalence obtained from the results of the 58 articles analysed, and the geographic distribution of infected species. *Rattus tanezumi* had the highest global prevalence (68%), but only a small number of individuals was examined (n=542).

Rattus norvegicus and *R. rattus* were the more frequently sampled definitive hosts, with 8610 and 9307 specimens analysed respectively. However, of the 11 papers, only 3 studies statistically compared the prevalence among the 2 species: Waugh *et al.* (Waugh *et al.* 2016) found a significantly higher prevalence for *R. rattus*, while Lindo *et al.* (Lindo *et al.* 2002) did not find any difference between the two species, and Yang *et al.* (Yang *et al.* 2012) did not find any infected *R. rattus* individuals. Yang *et al.* (Yang *et al.* 2012) failed to show any significant difference in prevalence of the parasite between *R. norvegicus* and *R. flavipectus*.

Rattus exulans is the third most sampled species with 4875 specimens examined in 11 studies (Table 1). Among these studies, three compared *R. exulans* to *R. rattus* (Jarvi *et al.* 2017; Niebuhr *et al.* 2021) or *R. norvegicus* and *R. tanezumi* (Estano, Bordado, et Paller 2021) This highlighted a significant difference in prevalence depending on the rat species. *R. exulans* was statistically more infected than the other species. Lim (B. Lim 1967) on the other hand did not find any difference between *R. exulans*, *R. jalorensis*, and *R. rattus diardii*.

Rattus norvegicus was also compared to *R. flavipectus* (Huang *et al.* 2019; R.-L. Zhang *et al.* 2008) and *Bandicota indica* (D. Chen *et al.* 2011). In the studies of Zhang *et al.* (R.-L. Zhang *et al.* 2008) and Huang *et al.* (Huang *et al.* 2019) *R. norvegicus* had the highest prevalence, while in that of Chen *et al.* (D. Chen *et al.* 2011) *B. indica* had a significantly higher prevalence. *Rattus tanezumi* had the highest overall prevalence (68%, Table 1), but on the basis of only three studies (Cawas *et al.* 2020; Evengård *et al.* 2009b; Tung *et al.* 2009). Estano *et al.* (Estano, Bordado, et Paller 2021), demonstrated a statistically significant difference among rat species, with the highest prevalence in *R. exulans* (42.9%), followed by *R. tanezumi* (29.8%) and *R. norvegicus* (7.7%, $P = 0.047$). In the study of Tujan *et al.* (Tujan, Fontanilla, et Paller 2016), on the

contrary, *R. norvegicus* had a higher prevalence than *R. tanezumii* (respectively 46% and 29%).

Mackerras and Sanders demonstrated after feeding laboratory mice with infective slugs, that *A. cantonensis* cannot reach maturity in them (Mackerras et Sanders 1954). Lim and Heyneman (B. Lim et Heyneman 1965) found that *Suncus murinus*, house shrews that are human commensals, were poorly adapted to this parasite. House mice and shrews are accidental dead-end hosts (see Suppl. File 1).. In their study, Lim and Heyneman (B. Lim et Heyneman 1965) found that out of 282 sampled individuals of *S. murinus*, one had 200 third-stage larvae in the stomach, 164 of which were already dead. It has been widely observed that when a parasitic nematode infects an abnormal host, this inappropriate host responds to the parasite by a massive production of eosinophils. The latter are not only capable of releasing cytotoxic mediators but can also participate in the regulation of the immune response by producing numerous immune modulating cytokines, some of which are Th1 and Th2 (T helper cell) cytokines. Th2 responses have been considered predominant in non-permissive hosts of *A. cantonensis* (Sugaya et al. 1997; Yoshimura, Sugaya, et Ishida 1994).

Infection of rats in different habitats

Studies on the prevalence of *A. cantonensis* in rodents living in various habitats have shown that the prevalence of the parasite was higher in rats living in areas with water, such as rice fields, fishponds, and wetlands, where there was a high density of both intermediate and definitive hosts (D. Chen et al. 2011; Tujan, Fontanilla, et Paller 2016). Rodents living in rice fields may encounter molluscs (Estano, Bordado, et Paller 2021; Jarvi et al. 2017; B. Lim 1967; Tujan, Fontanilla, et Paller 2016) and some rats may prefer to eat snails (Niebuhr et al. 2021; R.-L. Zhang et al. 2008). In rice fields the population densities of both intermediate and definitive hosts were high. Agricultural land was also found to be a suitable habitat for the life cycle of *A. cantonensis* because of the abundance of intermediate hosts. (Castillo et Paller 2018; Estano, Bordado, et Paller 2021; Tujan, Fontanilla, et Paller 2016).

Among the rare researchers who analyzed the distribution of the worm in different habitat types, Lim and Heyneman (B. Lim et Heyneman 1965) demonstrated that infection rates were the highest (22%) where the population density of both intermediate and definitive hosts was high, and very low in less suitable areas, such as the Lalang (*Imperata cylindrica*) grasslands (11%) and in the city (5%). They

attributed the low infection rate in Lalang to frequent grass fires such that neither rodents nor gastropods would be able to remain in one place for long periods, and that therefore the transmission cycle of the parasite would be more difficult to maintain. The low prevalence of the worm in urban rats was related to their confinement to houses, which limits their contact with snail intermediate hosts. The infection rate of rats in rubber plantations was similar to that in rice fields. The palm tree plantations and the plots of secondary forests bordering the rice fields were refuges for rats and gastropods during periods of drying up of the rice fields. As for rubber plantations, the grasses and ferns that cover the soil provided litter that was an excellent breeding area for snails and rats. Overall, Lim and Heyneman (B. Lim et Heyneman 1965) found that the infection rate was significantly higher in rats of cultivated areas compared to those from undisturbed primary forest or cities, respectively (22%) and (5%). They attributed these differences to the abundance of both definitive and intermediate hosts in cultivated areas.

Estano *et al.* (Estano, Bordado, et Paller 2021) showed that the prevalence of the parasite was higher in rats captured in cultivated areas than in residential areas: agriculture (36.7%; 6 ± 3.5), followed by agro-forest (30%; 3 ± 1.1), and residential areas ($6.71\% \pm 0.9$). Some species like *R. tanezumi*, found in different habitats (agriculture, agro-forestry, residential areas), may act as bridge species, transporting parasites between different habitats (Estano, Bordado, et Paller 2021). Poor urban areas may maintain the parasite cycle because the environmental conditions (available water and accumulation of inorganic materials such as building materials) create suitable microhabitats in these neighborhoods, thus favoring the abundance rats and molluscs (Souza et al. 2021). The lack of pavement also in poor neighborhoods was identified as a risk factor contributing to the accumulation of rainwater in the ground, creating humid environments that are favorable to gastropods (Souza et al. 2021).

Season-related infection in rats.

Six studies investigated the prevalence of the parasite in rodents in different seasons. Four of them found no significant difference between seasons for *R. norvegicus* (Estano, Bordado, et Paller 2021; Simoes et al. 2014; Souza et al. 2021) while the other three demonstrated that parasite prevalence and abundance in rodents were significantly higher during the rainy season (Archer et al. 2017; Companioni et al. 2019; Foronda et al. 2010; Aghazadeh et al. 2015)

Simões *et al.* (Simoes et al. 2014) found that the prevalence of *A. cantonensis* did not vary from season to season. The range of parasite abundance was greater during the dry season. However, more rats had young *A. cantonensis* larvae in the subarachnoid space during the rainy season. The authors therefore suggested that infection rates were higher during this season. They suggested that stress hormones produced by the rats during the dry season might explain this high prevalence because they make the rats more susceptible to infection.

Estano *et al.* (Estano, Bordado, et Paller 2021) did not find any significant difference in prevalence between the dry season (19.2%) and the rainy season (31.6%) for *R. norvegicus*, *R. tanezumi* and *R. exulans* in the Philippines. They suggested that the constant high humidity of the climate in the region may allow the parasite to remain in the environment throughout the year. Souza *et al.* (Souza et al. 2021) suggested that continuous, year-round contamination of the environment by the excrement of rats in Salvador-Bahia, northeastern Brazil could result in a lack of seasonality of infection.

In Tenerife, Canary Islands (Spain), the prevalence in *R. rattus* was significantly higher in winter (44%) than in summer (5%), perhaps because the high temperature and low humidity in summer contrasted with the heavy rainfall in winter (Foronda et al. 2010). Archer *et al.* (Archer et al. 2017) reported a similar result, *i.e.* the prevalence and abundance of the parasite in *R. norvegicus* in Durban, South Africa were higher during the rainy season. In La Lisa municipality, Havana, Cuba, the infection prevalence in *R. rattus* was 46.0% with no statistical significance between different periods of the year, even if a higher infection rate was observed during the rainy season (Companiononi et al. 2019). In general, the rainy season may create conditions leading to an increase in snail populations and increased survival of the parasite L1 stage larvae in rat faeces and the abundance of snails during the rainy season may also increase the probability of encounter between the two essential hosts to maintain the parasite cycle.

Influence of the diet

A single study attempted to link the prevalence of *A. cantonensis* in *R. rattus* to its diet in Japan on Yoron Island, in a zone comprising sugarcane fields and small forests (Noda et al. 1987). Very little mollusc tissue was found in the stomachs of rats

compared to plant material despite the abundance of molluscs in the area. In addition, the mollusc species were difficult to identify. Without supporting statistical tests, the authors concluded that infection prevalence in rats containing mollusc tissue was 27% (4/15) and the occurrence of mollusc tissue in the stomachs of rats did not relate to whether they were infected or not. They suggested that in this area, plants were the primary food of *R. rattus*, explaining this low prevalence.

Geographical distribution and prevalence in gastropod populations

Geographical distribution

The geographical distribution of *A. cantonensis* in gastropods extended approximately from 29°N (in St Johns County, Florida, USA) to 35°S latitude (Jervis Bay in Australia) and from 89°W (in Alachua County, Florida, USA) to 157°W on Oahu island (Hawaii, USA). Based on the Köppen-Geiger climate classification, the countries that host the parasites are characterized overall in the same way as for the definitive hosts (see the part on definitive hosts, and figure 2)

The prevalence of *A. cantonensis* in molluscs was almost always explored in areas where the parasite was found prevalent in rats. A single study in Nigeria sampled only snails and showed that the giant african snail *Lissachatina fulica* (Bowdich, 1822) was infected, whereas the prevalence in rats was unknown (Igbinosa et al. 2016).

Difference in prevalence among gastropod species

The prevalence of *A. cantonensis* among gastropods was analysed in 78 papers. Most studies concerned Brazil (15 studies), United States of America (15 studies, 13 out of them in Hawaii), Thailand (10 studies) and China (7 studies). The researchers examined almost 140000 individuals from throughout the world belonging to 165 species, and 24 taxa identified only to the genus level. Among these 165 species, 72 were naturally infected. Nine taxa among the 24 identified only to the genus level were infected. Approximately 9500 specimens of all species considered together were infected (see Suppl. File 2 for more details).

Table 2 presents the prevalence of the parasite in the different infected species. Snails were more frequently sampled than slugs. The land snail *L. fulica* was by far the most

frequently sampled species. In 50 studies, 30069 individuals were examined of which 3470 were infected (global prevalence 11.5%). The aquatic snails *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822), *Subulina octona* (Bruguière, 1789), and the land snail *Bradybaena similaris* (Férussac, 1822) were less studied with 15, 14 and 12 studies respectively. Finally, 8 studies focused on *Melanoides tuberculata* (Müller, 1774) and quoted the occurrence of *A. cantonensis* in this species.

Among the slugs, *Laevicaulis alte* (Férussac, 1822) and the semi slug *Parmarion martensi* Simroth, 1893 were sampled 8 and 6 times respectively and were frequently found infected by *A. cantonensis*, with infection rates for *L. alte* ranging from 4% (n=51 individuals) to 80% (n=25) and even 100% in a smaller sample (n=4). For *P. martensi*, the observed prevalence was 20% (n=753) for the lowest value, and reached 86% (n=159).

Some species (Table 2) were sampled in a low number of studies, but the prevalence of the parasite was high. For example, a total of 3700 individuals of the land snail *Sarika resplendens* (Philippi, 1847) were examined and the parasite prevalence ranged from 1.4% in Selangor, Negri Sembilan and Malacca (central Malaya) (Crook, Fulton, et Supanwong 1968), to 52% in Pahang, (Malaysia) (B. Lim et Heyneman 1965) and 72% in Thailand (B. L. Lim et Omar-Ahmad 1969). In the same way, 1664 individuals of the land slug *Microparmarion malayanus* (Collinge, 1903) were sampled and 640 were infected for a prevalence of 38% (B. Lim et Heyneman 1965).

The prevalence of the parasite was found to be high in other snails and slugs species, such as the predatory land snail *Euglandina rosea* (Férussac, 1821) in several Hawaiian Islands (Higa, Brock, et Palumbo 1986; Kim et al. 2014; Rollins et al. 2021), or the slugs *Deroceras laeve* (Müller, 1774) in Thailand (J. Alicata et Mccarthy 1964) and *Sarasinula marginata* (Semper, 1885) in Brazil (Caldeira et al. 2007; Carvalho et al. 2012; Souza et al. 2021; Thiengo et al. 2010).

On the other hand, the prevalence of the parasite was found to be null despite a substantial sampling effort, (*i.e.* thousands of individuals examined for some species) in several aquatic snails species: *Pila gracilis* (Lea, 1856) (Crook, Fulton, et Supanwong 1968), *Bellamya unicolor* (Olivier, 1804) (Ibrahim 2007; Yousif et Ibrahim 1978), *Allopeas gracile* (Hutton, 1834) (Crook, Fulton, et Supanwong 1968), *Theodoxus jordani* (Sowerby I, 1836) (Ibrahim 2007), *Physella acuta* (Draparnaud, 1805) (Ibrahim 2007; Yousif et Ibrahim 1978).

Four species of snails, only reported in one study, *i.e.* *Oxychilus alliarius* (Miller, 1822), *Cyclotropis* sp., *Philonesia* sp. and *Tornatellides* sp., were found to be infected with the parasite with infection rates ranging from 1% to 14% (Kim et al. 2014). *Oxychilus alliarius*, which is a widespread European species, was recently recorded as an intermediate host for *A. cantonensis* (Kim et al. 2014). Whereas *A. cantonensis* is primarily a tropical and subtropical parasite limited by ambient temperatures, its presence in a small snail from temperate countries suggests that global warming should enable the worm to colonize areas north of its current range, in places where such hosts are already present.

The worm was not found in *Cornu aspersum* (O. F. Müller, 1774) (0 infected individuals / 25 examined in a single study). According to the authors, nematode inhibitors discovered in *C. aspersum* may prevent the maturation or reproduction of the parasite. However, *C. aspersum* seems to be one of the most important species in maintaining the parasite cycle in Tenerife, Canary Islands (Spain) (Martin-Alonso et al. 2015).

Effect of gastropod developmental stage

Gastropod age, and thus size, may be correlated with infection rates. Studies in Hawaii (Hollingsworth et al. 2007; Medeiros et al. 2020). Egypt (Ibrahim 2007) and the Philippines (Cawas et al. 2020) found that larger individuals had a higher worm load. Larger hosts may provide more resources and space for parasites, and older snails may have been exposed to more larvae over their lifetime (Ibrahim 2007).

Infection of gastropods in different habitats

The infection status of gastropod species responsible for transmitting the parasite was statistically related to their lifestyle (terrestrial/aquatic) or habitat characteristics (Kim et al. 2014).

Apart from the occurrence of water, the quality of water may be involved in the parasite occurrence in habitats. Ibrahim observed that the L1 stage larvae of *A. cantonensis* suffered no effect until a salinity threshold was reached, above which sublethal reductions in growth and reproduction were observed (Ibrahim 2007). However, one may suppose that the host snail species presence may vary according to the habitat

salinity. *Discotectonica acutissima* (Sowerby III, 1914), a marine snail species, was found infected with *A. cantonensis* (8 of 59 snails sampled) (Yang et al. 2012). Kim et al. (Kim et al. 2014) considered that this species is sublittoral (50–200 m depth) and thus fully marine, so the question of the completion of the life cycle of the parasite remains open in this situation.

Ground-dwelling species were predicted to be more frequently positive for *A. cantonensis* than arboreal and freshwater species (Kim et al. 2014). According to these researchers, this contrast between species implies greater difficulty for snails in freshwater habitats to acquire the parasite because they may have only poor access to rat faeces in streams and rivers.

The abundance of *L. fulica* was strongly associated with humidity, while *S. octona* abundance was correlated with rainfall and the abundance of herbaceous vegetation. Building materials and shrub vegetation showed positive associations with the abundance of *S. marginata* and *Bulimulus tenuissimus* (Férussac, 1832) respectively (Souza et al. 2021).

In summary, the presence of water, the availability of building materials that can serve as habitat, and the salinity of the water were factors strongly involved in the occurrence of the parasite in a given habitat.

The role of climate variation in parasite prevalence in gastropods.

Several studies focused on the prevalence of the parasite in gastropod species according to seasons or climate. They demonstrated a higher prevalence in areas with high rainfall than in drier areas, with higher infection rates following the rainy season (Higa, Brock, et Palumbo 1986; Mahajan et al. 1992; Rollins et al. 2021). Temperature also plays a role in the prevalence of the parasite, with higher activity of gastropods and larval availability during spring and summer (Ibrahim 2007). A recent study (Kim et al. 2019) used data to model the habitat suitability of the parasite in Hawaii showing that areas with higher precipitation and temperature are more favorable for its distribution.

Prevalence in paratenic and accidental hosts

Paratenic hosts may transport the L3 larvae and thus play a role in its maintenance and transmission (Niebuhr et al. 2020). In these hosts, the larvae rarely reach the arteries and the lungs, and consequently do not reach sexual maturity. Recorded paratenic hosts are centipedes, crustaceans, frogs and toads, flatworms (Planarians), and lizards, while accidental hosts are non-human primates, humans, birds, and bats (Qiao-Ping Wang et al. 2008).

We retrieved 10 papers in which paratenic hosts were sampled from the wild and examined (Table 3). We counted 3172 individuals examined, known as paratenic hosts (Centipedes, Crustaceans, frogs, lizards, planarians, toads), of which 320 were infected. Regarding accidental hosts, 83 individuals were infected among the 282 examined and several taxa are represented: armadillos, birds, bats, dogs, hedgehogs, horses, marsupials, tamarin monkeys (See Suppl. File 3 for more details).

The distribution of the parasite in paratenic hosts extends to approximately 32°N (San Diego Zoo California, USA) to 35°S latitude (Jervis Bay, Australia) and 94°W (Red Slough Wildlife Management Area) and 159°W in Rarotonga, Cook Islands. Based on the Köppen-Geiger climatic classification, the localities studied are globally characterized in the same way as for the definitive and intermediate hosts (Figure 2).

Among flatworms, *Platydemus manokwari* was frequently infected (227 out of 1613 individuals sampled) (Asato et al. 2004). On the other hand, Higa *et al.* (Higa, Brock, et Palumbo 1986) failed to find the parasite in *Geoplana septemlineata*, but the sample size was much lower (32 individuals sampled). Otherwise, *A. cantonensis* was neither isolated from sea slugs *Stylocheilus longicaudus* (n=50), nor from freshwater fishes (*Tilapia* sp., n=38) and in the amphihaline *Galaxis* spp. (n=44) (J. Alicata et McCarthy 1964).

Overall, 569 crustacean specimens, belonging to 5 species were examined. Only 4 specimens were infected: *Ocypode* sp. (2 of 40 individuals infected) (J. Alicata 1964) and *Macrobrachium* sp. (2 of 60) (J. Alicata et McCarthy 1964). Higa *et al.* (Higa, Brock, et Palumbo 1986) did not find any infected individual in the other crustacean species sampled; *i.e.* *Macrobrachium lar* (n=44), *M. rosenbergii* (n=390) and *Procambarus clarkii* (n=35) sampled on the island of Oahu, Hawaii.

The centipede species *Scolopendra subspinipes* was positive for *A. cantonensis* (Niebuhr et al. 2020; H. Wang et al. 2018). Amphibians, frogs (Asato et al. 2004; Ash 1968; Chase et al. 2022) and toads (Niebuhr et al. 2020) were also found infected by *A. cantonensis* (Table 3). Ash stated that the frogs may contract the parasite by ingesting slugs, snails or planarians, which were abundant in the studied area, but it was also possible that the larvae pass from one frog to another by cannibalism (Ash 1968).

In reptiles, Radomyos *et al.* found a high prevalence of the parasite (95.5%) in the yellow monitor lizard, *Varanus bengalensis*, suggesting that this species is potentially important in the dispersal of the parasite. The food habit of this lizard (snails) seemed to be the source of the infection (Radomyos et al. 1994).

For other vertebrates, the animals examined and found to be infected with *A. cantonensis* were puppies (Mason et al. 1976), primates (tamarins) (Carlisle et al. 1998), birds (Gelis, Spratt, et Raidal 2011), brushtail possums (Ma et al. 2013) and *Oryx dammah* (Pauling, Oller, et Jackson 2016).

Due to the lack of systematic studies, it is not possible to conclude whether a given taxon is the most frequent or the most likely to host the parasite. Furthermore, these studies did not usually correlate the prevalence in the paratenic host studied and other factors such as the presence of rats, of intermediate hosts, or the environmental factors. However, some authors observed a strong seasonal pattern of infection in the individuals examined, with a peak during periods of heavy rain (Carlisle et al. 1998; Gelis, Spratt, et Raidal 2011; Mason et al. 1976).

Discussion and perspectives

Very few studies have focused on ecological variables such as habitats, season. The studies mainly examine biological variables such as the age of individuals, their sex and weight in relation to the parasitic load (Figure 5). Much remains to be done on the ecological variables linked to the prevalence of the parasite.

Combes (Claude Combes 2001) proposed the concept of filters for describing the evolution of the life cycles of a parasite and the mechanisms responsible for the "restriction of the host spectrum". Two filters must be crossed by a parasite to achieve durable interactions with a host species. The first is the encounter filter, which defines

the probability of the parasite encountering its host. This integrates all the ecological (e.g. cohabitation, being in the same habitat) and ethological dimensions (host behavior: movements, feeding, defecation) of the encounter. The second is the compatibility filter, which is related to the acceptance of the parasite by the host and its survival within the host, and relates to physiological and immunological traits. This concept has been applied to various parasites in the understanding of the interactions between these parasites and their different hosts, e.g. interactions of cercariae of trematodes with their mollusc hosts (C. Combes et al. 1994; Detwiler et Minchella 2009; Selbach, Rosenkranz, et Poulin 2019). It has also been used in considering the risks of establishment or spread of certain parasites in areas where they were rare or even unknown, e.g. the emergence of schistosomiasis in Europe (Kincaid-Smith et al. 2017). In this review, we focused on the encounter filter as it pertains to *A. cantonensis*. Figure 3 presents a conceptual model, based on our results, of the transmission of *A. cantonensis* among its hosts and depicts the 'encounter filter' factors that are potentially involved.

The intermediate hosts encounter the parasite when they ingest contaminated feces of rodents (definitive host) containing L1 larvae. This encounter is regulated by the defecatory behavior of the rodents and their distribution in the habitats. The encounter of the rodent with the parasite is regulated by its feeding behavior. Indeed, the rate of predation of intermediate hosts (snails) by rodents rules the transmission of the parasite. Paratenic hosts become infected by eating the intermediate hosts.

The climate, which governs the seasonal variations of temperature and humidity, affects the dynamics of the host populations (definitive, intermediate and paratenic) by directly influencing resource availability, host movement, and habitat quality (type of culture, salinity, vegetation structure). Thus, changes in temperature, precipitation and vegetation influence population dynamics of the different host populations, determine the conservation status of rat faeces (fresh and moist vs. dried) in the environment and thus the survival of L1 larvae. The availability of food, by increasing host populations, increases the rate of encounter of the different actors in the system, *i.e.* the rate of predation (rodents eat gastropods and paratenic hosts, paratenic hosts eat gastropods) and therefore the contamination of the environment by the faeces. To this array of 'encounter filter factors' must be added the anthropogenic factors that can also play a role in the transformation of the habitat and the climate variation.

In summary, we suggest that the parasite is expected to be more abundant in situations where the environmental conditions are more favourable for its hosts and their coexistence, optimising the size of the reservoir populations and maximising transmission. In terms of temporal variations of the environment, rainy season, or the end of the rainy seasons may determine the survival of L1 larvae by protecting them from desiccation. In certain areas, heavy rains eliminate or dilute rat faeces, which may reduce the encounter of L1s with intermediate hosts. In some other areas, rainfall varies from year to year, and some snail species adapt their breeding activities to these seasonal variations, which can promote an increase or decrease in infection rates. In addition, the rainy season does not automatically lead to an increase in snail populations because heavy rains can drown young snails and therefore reduce the size of populations. On the other hand, the dry season may increase prevalence by inducing stress in individuals, which may then be more susceptible to infection. *Angiostrongylus cantonensis* is currently spreading rapidly throughout the world but is most prevalent in southeast Asia, in tropical and subtropical climates (Q.-P. Wang et al. 2012). However, some projections seem to show an adaptation of the parasite to more temperate regions (Kim et al. 2019; Rollins et al. 2021).

Rice fields and wetlands in general are important habitats for the survival of L1 larvae. These surfaces are also the preferred habitats of gastropods and rats and therefore facilitate predation-type biotic interactions between these two hosts. However, very little is known about the diet of rats in this and other contexts. Only one study has related the prevalence of the parasite to the diet of rats by analyzing the stomach contents of captured *R. rattus* (Noda et al. 1987). In this study, the authors explain the differences in prevalence observed by differences in diet between species or in the abundance of a given species in a given area. Unfortunately, neither the diet nor the abundance of hosts were studied through a clearly elaborated experimental protocol. The researchers' conclusions were based on previous general studies of the diet or abundance of small mammals unrelated to the prevalence of *A. cantonensis* (Noda et al. 1987). This does not contribute to our understanding of the status of *A. cantonensis* infection in natural rodent populations. There are also almost no studies linking densities of hosts or diet to infection.

The population dynamics of the parasite, the ecological determinants of its parasitic cycle and transmission to humans are seldom considered in the literature.

Consequently, much remains to be done, in particular on the diet of the examined species, their population density, but also the potential for adaptation of the worm to colder climates, in connection with prevalence.

This review also highlighted the scarcity of ecological data for paratenic hosts. The few individuals collected (crustaceans, bats and, frogs, toads) make it impossible to determine their respective importance in the maintenance and distribution of the worm in the environment. In the same way, climatic factors, alone or in combination with other factors, may partly control the parasite cycle, as already observed for some other nematode species (Appleton et Gouws 1996; Hudson et al. 2006; Kutz et al. 2005; Mas-Coma, Valero, et Bargues, s. d.). Also, the relative contributions of the hosts to the dynamics of parasite transmission should be further investigated.

Conclusion

In line with the principles of the One Health concept, understanding the factors influencing the parasite in its environment and its transmission processes is essential for preventing the health risks associated with this pathogen. Predicting when and where filters will be open simultaneously is fundamental to quantifying these risks. Such an approach requires (i) exploring the ecological niche of the parasite and the influence of abiotic (landscape, temperature, season) and biotic (intraspecific and interspecific interactions, age, sex, host community densities) factors on the population dynamics (including its different stages) and spatial dispersal of the parasite, and (ii) properly identifying the ecological situations of human exposure.

Conflict of interest

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgments

This work would not have been possible without the material and financial support of the Franche-Comté University (Chrysalide project), the French Embassy in Haiti (Anténor Firmin doctoral mobility program), the Observatoire des Sciences de l'Univers Terre Homme Environnement Temps Astronomie de Franche-Comté-Bourgogne

(OSU-THETA, SRO project) and the Bourgogne-Franche-Comté Regional Council (grant *Structuration de la Recherche 2023 – TRANSBIO*, ARISAH project).

The authors gratefully acknowledge the university library of the Université Franche-Comté which helped us to find some articles. We also thank the authors who sent us their articles that could not be found on the internet and who agreed to answer some of our questions.

References

- Aghazadeh, Mahdis, Simon A. Reid, Kieran V. Aland, Angela Cadavid Restrepo, Rebecca J. Traub, James S. McCarthy, et Malcolm K. Jones. 2015. « A survey of *Angiostrongylus* species in definitive hosts in Queensland ». *International Journal for Parasitology-Parasites and Wildlife* 4 (3): 323-28. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.06.003>.
- Alicata, J. E. 1988. « Historical summary of *Angiostrongyliasis cantonensis* as a new parasitic disease of man. » *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique et de ses Filiales* 81 (4): 766-68.
- Alicata, Je. 1962a. « *Angiostrongylus cantonensis* (nematoda - Metastrongylidae) as a Causative Agent of Eosinophilic Meningoencephalitis of Man in Hawaii and Tahiti ». *Canadian Journal of Zoology* 40 (1): 5-. <https://doi.org/10.1139/z62-002>.
- . 1962b. « Observations on Occurrence of Rat-Lungworm, *Angiostrongylus cantonensis* in New Caledonia and Fiji ». *Journal of Parasitology* 48 (4): 595-. <https://doi.org/10.2307/3274918>.
- . 1964. « Land Crabs as Probable Paratenic Hosts for Infective Larvae of *Angiostrongylus cantonensis* ». *Journal of Parasitology* 50 (3S): 39.
- . 1966. « Presence of *Angiostrongylus cantonensis* in Islands of Indian Ocean and Probable Role of Giant African Snail *Achatina Fulica* in Dispersal of Parasite to Pacific Islands ». *Canadian Journal of Zoology - Back Year Project* 44 (6): 1041 <https://doi.org/10.1139/z66-111>.
- Alicata, Je, et Rw Brown. 1962. « Observations on Method of Human Infection with *Angiostrongylus cantonensis* in Tahiti ». *Canadian Journal of Zoology* 40 (5): 755- <https://doi.org/10.1139/z62-070>.

- Alicata, Je, et Dd Mccarthy. 1964. « On Incidence Distribution of rat lungworm *Angiostrongylus cantonensis* in Cook Islands with Observations Made in New Zealand Western Samoa ». *Canadian Journal of Zoology* 42 (4): 605 <https://doi.org/10.1139/z64-052>.
- Anderson, R. C. 1978. « Keys to genera of the superfamily Metastrongyloidea, CIH keys to the nematode parasites of vertebrates, No. 5 ». *Commonwealth Agricultural Bureau, Farnham Royal, Bucks, UK* 44.
- Ansdell, Vernon, Kenton J. Kramer, Jourdan K. McMillan, William L. Gosnell, Gerald S. Murphy, B. C. Meyer, Elizabeth U. Blalock, et al. 2021. « Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Neuroangiostrongyliasis : Updated Recommendations ». *Parasitology* 148 (2): 227-33. <https://doi.org/10.1017/S0031182020001262>.
- Ansdell, Vernon, et Yupaporn Wattanagoon. 2018. « *Angiostrongylus cantonensis* in Travelers: Clinical Manifestations, Diagnosis, and Treatment ». *Current Opinion in Infectious Diseases* 31 (5) : 399-408. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000481>.
- Appleton, C. C., et E. Gouws. 1996. « The Distribution of Common Intestinal Nematodes along an Altitudinal Transect in KwaZulu-Natal, South Africa ». *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 90 (2): 181-88. <https://doi.org/10.1080/00034983.1996.11813042>.
- Archer, Colleen E., Christopher C. Appleton, Samson Mukaratirwa, Jennifer Lamb, et M. Corrie Schoeman. 2017. « Endo-parasites of public-health importance recovered from rodents in the Durban metropolitan area, South Africa ». *Southern African Journal of Infectious Diseases* 32 (2): 57-66. <https://doi.org/10.1080/23120053.2016.1262579>.
- Asato, R., K. Taira, M. Nakamura, J. Kudaka, K. Itokazu, et M. Kawanaka. 2004. « Changing epidemiology of *Angiostrongyliasis cantonensis* in Okinawa Prefecture, Japan ». *Japanese Journal of Infectious Diseases* 57 (4): 184-86.
- Ash, Lr. 1968. « Occurrence of *Angiostrongylus cantonensis* in frogs of New Caledonia with observations on paratenic hosts of Metastrongyles ». *Journal of Parasitology* 54 (3): 432-+. <https://doi.org/10.2307/3277060>.
- Azzam, Karima M., N. M. El-Abd, et Eman A. Abd El-Hady. 2016. « Survey of endoparasites of different rodent species in Egypt ». *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 26 (4): 815-20.

- Banu, Shahera, Wenbiao Hu, Yuming Guo, Cameron Hurst, et Shilu Tong. 2014. « Projecting the impact of climate change on dengue transmission in Dhaka, Bangladesh ». *Environment international* 63: 137-42.
- Barratt, Joel, Douglas Chan, Indy Sandaradura, Richard Malik, Derek Spielman, Rogan Lee, Deborah Marriott, John Harkness, John Ellis, et Damien Stark. 2016. « *Angiostrongylus cantonensis* : a review of its distribution, molecular biology and clinical significance as a human pathogen ». *Parasitology* 143 (9): 1087-1118. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000652>.
- Barrett, J. L., M. S. Carlisle, et P. Prociv. 2002. « Neuro-angiostrongylosis in wild Black and Grey-headed flying foxes (*Pteropus* spp) ». *Australian Veterinary Journal* 80 (9): 554-58. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2002.tb11039.x>.
- Bowden, Dk. 1981. « Eosinophilic Meningitis in the New-Hebrides - 2 Outbreaks and 2 Deaths ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 30 (5): 1141-43. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1981.30.1141>.
- Brumpt, V., G. Audebaud, J. M. Klein, M. Jolly, R. Mazaud, et P. Goube. 1968. « [Incidence of *Angiostrongylus cantonensis* (Chen) in Cambodia]. » *Bulletin de la Societe de pathologie exotique et de ses filiales* 61 (3): 444-62.
- Burns, Rachel E., Elizabeth J. Bicknese, Yvonne Qvarnstrom, Marlene DeLeon-Carnes, Clifton P. Drew, Chris H. Gardiner, et Bruce A. Rideout. 2014. « Cerebral *Angiostrongylus cantonensis* infection in a captive African pygmy falcon (*Polihierax semitorquatus*) in southern California ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 26 (5): 695-98. <https://doi.org/10.1177/1040638714544499>.
- Caldeira, Roberta Lima, Cristiane L. G. F. Mendonca, Christiane Oliveira Goveia, Henrique L. Lenzi, Carlos Graeff-Teixeira, Walter S. Lima, Ester M. Mota, Iracy Lea Pecora, Aline Maria Zigiotta de Medeiros, et Omar dos Santos Carvalho. 2007. « First record of molluscs naturally infected with *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935) (Nematoda : Metastrongylidae) in Brazil ». *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 102 (7): 887-89. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762007000700018>.
- Carlisle, M. S., P. Prociv, J. Grennan, M. A. Pass, G. L. Campbell, et A. Mudie. 1998. « Cerebrospinal angiostrongyliasis in five captive tamarins (*Sanguinus* spp) ». *Australian Veterinary Journal* 76 (3): 167-70. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1998.tb10121.x>.

- Carvalho, Omar dos Santos, Ronaldo Guilherme Carvalho Scholte, Cristiane Lafeta Furtado de Mendonca, Liana Konovaloff Jannotti Passos, et Roberta Lima Caldeira. 2012. « *Angiostrongylus cantonensis* (Nematode: Metastrongyloidea) in molluscs from harbour areas in Brazil ». *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 107 (6): 740-46.
- Castillo, Diane Shiela C., et Vachel Gay V. Paller. 2018. « Occurrence of *Angiostrongylus cantonensis* in rodents from the rice granary of the Philippines and associated risk factors for zoonotic transmission. » *Journal of parasitic diseases : official organ of the Indian Society for Parasitology* 42 (3): 350-56. <https://doi.org/10.1007/s12639-018-1005-z>.
- Cawas, Jerico R., Christine Joy T. Quisao, Diane Shiela C. Castillo, et Kathleen O. Pornobi. 2020. « Prevalence of *Angiostrongylus cantonensis* among different species of snails in the village of Bagong Sikat Munoz, Nueva Ecija, Philippines and its associated risk factors for zoonotic transmission. » *Journal of parasitic diseases : official organ of the Indian Society for Parasitology* 44 (2): 388-94. <https://doi.org/10.1007/s12639-020-01200-0>.
- Chase, Ellis C., Robert J. Ossiboff, Terence M. Farrell, April L. Childress, Kelsey Lykins, Steve A. Johnson, Nina Thompson, et Heather DS Walden. 2022. « Rat lungworm (*Angiostrongylus cantonensis*) in the Invasive Cuban Treefrog (*Osteopilus septentrionalis*) in Central Florida, USA. » *Journal of Wildlife Diseases*.
- Chen, Daixiong, Yun Zhang, Haoxian Shen, Yongfang Wei, Di Huang, Qiming Tan, Xianqi Lan, et al. 2011. « Epidemiological survey of *Angiostrongylus cantonensis* in the west-central region of Guangdong Province, China ». *Parasitology Research* 109 (2): 305-14. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2255-1>.
- Chen, H.-T. 1935. « Un nouveau nématode pulmonaire, *Pulmonema cantonensis*, ng, n. sp. » *Annales de Parasitologie humaine et comparée* 13 (4): 312-17.
- Chenchittikul, M., S. Daengpium, M. Hasegawa, T. Itoh, et B. Phanthumachinda. 1983. « A study of commensal rodents and shrews with reference to the parasites of medical importance in Chanthaburi Province, Thailand. » *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* 14 (2): 255-59.
- Cheng, Y. Z., J. Hou, X. H. He, Z. K. Hong, L. S. Li, G. H. Lin, M. X. Chen, et S. H. Chen. 2011. « Prevalence of *Paragonimus* and *Angiostrongylus cantonensis*

- Infections in snails in Southeastern China ». *Journal of Animal and Veterinary Advances* 10 (19): 2599-2602.
- Combes, C., A. Fournier, H. Moné, et A. Théron. 1994. « Behaviours in Trematode Cercariae That Enhance Parasite Transmission : Patterns and Processes ». *Parasitology* 109 (S1): S3-13. <https://doi.org/10.1017/S0031182000085048>.
- Combes, Claude. 2001. *Parasitism : the ecology and evolution of intimate interactions*. University of Chicago Press. Parasitism: the ecology and evolution of intimate interactions hosts .
- Companioni, Ariamys, Jennys Peraza, Zulema Menéndez, Aileen González, Ledy X. López, Ana Elisa Rodríguez, Jorge D. Cantillo, et Fidel A. Núñez. 2019. « Infección por *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda : Metastrongylidae) en *Rattus rattus* (Rodentia : Muridae) en una localidad de La Habana, Cuba ». *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 298-307.
- Costa, L. R. R., J. J. McClure, T. G. Snider, et T. B. Stewart. 2000. « Verminous meningoencephalomyelitis by *Angiostrongylus* (=Parastrongylus) *cantonensis* in an American Miniature Horse ». *Equine Veterinary Education* 12 (1): 2-6.
- Cowie, Robert H. 2013. « Biology, systematics, life cycle, and distribution of *Angiostrongylus cantonensis*, the cause of rat lungworm disease. » *Hawai'i journal of medicine & public health : a journal of Asia Pacific Medicine & Public Health* 72 (6 Suppl 2): 6-9.
- Crook, Jr, Se Fulton, et K. Supanwong. 1968. « Ecological Studies on Intermediate and Definitive Hosts of *Angiostrongylus cantonensis* (chen 1935) in Thailand ». *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 62 (1): 27 <https://doi.org/10.1080/00034983.1968.11686526>.
- Dalton, Martha F., Heather Fenton, Christopher A. Cleveland, Elizabeth J. Elsmo, et Michael J. Yabsley. 2017. « Eosinophilic meningoencephalitis associated with rat lungworm (*Angiostrongylus cantonensis*) migration in two nine-banded armadillos (*Dasypus novemcinctus*) and an opossum (*Didelphis virginiana*) in the southeastern United States ». *International Journal for Parasitology-Parasites and Wildlife* 6 (2): 131-34. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2017.05.004>.
- Dard, Celine, Jean-Eudes Piloquet, Yvonne Qvarnstrom, LeAnne M. Fox, Helmi M'kada, Jean-Christophe Hebert, Didier Mattera, et Dorothee Harrois. 2017. « First evidence of Angiostrongyliasis caused by *Angiostrongylus cantonensis*

- in Guadeloupe, Lesser Antilles ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 96 (3): 692-97. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0792>.
- Detwiler, Jillian T., et Dennis J. Minchella. 2009. « Intermediate host availability masks the strength of experimentally-derived colonisation patterns in echinostome trematodes ». *International Journal for Parasitology* 39 (5): 585-90. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.10.008>.
- Duffy, M. S., C. L. Miller, J. M. Kinsella, et A. de Lahunta. 2004. « *Parastrongylus cantonensis* in a nonhuman primate, Florida ». *Emerging Infectious Diseases* 10 (12): 2207-10. <https://doi.org/10.3201/eid1012.040319>.
- Eamsobhana, Praphathip, et Hoi Sen Yong. 2009. « Immunological diagnosis of human angiostrongyliasis due to *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Angiostrongylidae) ». *International Journal of Infectious Diseases* 13 (4): 425-31. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2008.09.021>.
- Eamsobhana, Praphathip, Adisak Yoolek, et Nibhon Kreethapon. 2003. « Blinded multi-laboratory evaluation of an in-house dot-blot ELISA kit for diagnosis of human parastrongyliasis. » *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* 34 (1): 1-6.
- Edwards, Erin E., Mindy M. Borst, Barbara C. Lewis, Gabriel Gomez, et Joseph P. Flanagan. 2020. « *Angiostrongylus cantonensis* central nervous system infection in captive callitrichids in Texas ». *Veterinary Parasitology- Regional Studies and Reports* 19 (janvier): 100363. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100363>.
- Emerson, Jessica A., Heather Stockdale Walden, Rosanne K. Peters, Lisa L. Farina, Daniel V. Fredholm, Yvonne Qvarnstrom, Maniphet Xayavong, et al. 2013. « Eosinophilic meningoencephalomyelitis in an orangutan (*Pongo pygmaeus*) caused by *Angiostrongylus cantonensis* ». *Veterinary Quarterly* 33 (4): 191-94. <https://doi.org/10.1080/01652176.2013.880005>.
- Epelboin, Loic, Renaud Blonde, Abdourahim Chamouine, Alexandra Chrisment, Laure Diancourt, Nicolas Villemant, Agnes Atale, et al. 2016. « *Angiostrongylus cantonensis* Infection on Mayotte Island, Indian Ocean, 2007-2012 ». *Plos Neglected Tropical Diseases* 10 (5): e0004635. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004635>.
- Estano, Leonardo A., Anna Monica D. Bordado, et Vachel Gay V. Paller. 2021. « *Angiostrongylus cantonensis* infection of non-native rats in Mount Makiling

- Forest Reserve, the Philippines. » *Parasitology* 148 (2): 143-48.
<https://doi.org/10.1017/S0031182020001511>.
- Evengård, Birgitta, et Rainer Sauerborn. 2009a. « Climate change influences infectious diseases both in the Arctic and the tropics: joining the dots ». *Global Health Action* 2 (1): 2106.
- Federspiel, Frederik, Sofie Skovmand, et Sigurdur Skarphedinsson. 2020. « Eosinophilic meningitis due to *Angiostrongylus cantonensis* in Europe ». *International Journal of Infectious Diseases* 93 (avril): 28-39.
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.012>.
- Fedorko, J. M. 1999. « *Schistosoma japonicum* in the black rat, *Rattus rattus mindanensis*, from Leyte, Philippines in relation to *Oncomelania* snail colonies with reference to other endoparasites. » *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* 30 (2): 343-49.
- Fontanilla, I. K. C., et C. M. Wade. 2012. « First report of *Angiostrongylus cantonensis* in the Giant African Land Snail *Achatina fulica* in French Polynesia detected using the SSU rRNA gene ». *Tropical Biomedicine* 29 (4): 642-45.
- Foronda, Pilar, Mercedes Lopez-Gonzalez, Jordi Miquel, Jordi Torres, Matias Segovia, Nestor Abreu-Acosta, Juan Carlos Casanova, et al. 2010. « Finding of *Parastrongylus cantonensis* (Chen, 1935) in *Rattus rattus* in Tenerife, Canary Islands (Spain) ». *Acta Tropica* 114 (2): 123-27.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.02.004>.
- Galan-Puchades, Maria Teresa, Mercedes Gomez-Samblas, Antonio Osuna, Sandra Saez-Duran, Ruben Bueno-Mari, et Marius V. Fuentes. 2022. « Autochthonous *Angiostrongylus cantonensis* lungworms in urban rats, Valencia, Spain, 2021. » *Emerging Infectious Diseases* 28 (12): 2564-67.
<https://doi.org/10.3201/eid2812.220418>.
- . 2023. « Update on the first finding of the rat lungworm, *Angiostrongylus cantonensis*, in *Rattus* Spp. in continental Europe, Valencia, Spain, 2022. » *Pathogens* 12 (4): 567. <https://doi.org/10.3390/pathogens12040567>.
- Gelis, S., D. M. Spratt, et S. R. Raidal. 2011. « Neuroangiostrongyliasis and other parasites in tawny frogmouths (*Podargus strigoides*) in south-eastern Queensland ». *Australian Veterinary Journal* 89 (1-2): 47-50.
<https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2010.00660.x>.

- Goncalves da Mota, Dan Jesse, Leyva Cecilia Vieira de Melo, Vera Lucia Pereira-Chioccola, Ricardo Gava, et Pedro Luiz Silva Pinto. 2020. « First record of natural infection by *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongyloidea) in *Belocaulus willibaldoi* and *Rattus norvegicus* in an urban area of Sao Paulo city, SP, Brazil ». *Heliyon* 6 (10): e05150. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05150>.
- Graeff-Teixeira, Carlos, Ana Cristina Aramburu da Silva, et Kentaro Yoshimura. 2009. « Update on eosinophilic meningoencephalitis and its clinical relevance ». *Clinical Microbiology Reviews* 22 (2): 322-+. <https://doi.org/10.1128/CMR.00044-08>.
- Graeff-Teixeira, Carlos, Alessandra Loureiro Morassutti, et Malcolm K. Jones. 2018. « Diagnosing and understanding angiostrongyliasis, a zoonotic cause of meningitis ». *Acs Chemical Neuroscience* 9 (3): 393-94. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.8b00018>.
- Higa, Hh, Ja Brock, et Ne Palumbo. 1986. « Occurrence of *Angiostrongylus cantonensis* in rodents, intermediate and paratenic hosts on the Island of Oahu ». *Journal of Environmental Health* 48 (6): 319-23.
- Higgins, D. P., M. S. CarlisleNowak, et J. Mackie. 1997. « Neural angiostrongylosis in three captive rufous bettongs (*Aepyprymnus rufescens*) ». *Australian Veterinary Journal* 75 (8): 564-66. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1997.tb14194.x>.
- Hollingsworth, Robert G., Rachel Kaneta, Fames F. Sullivan, Henry S. Bishop, Yvonne Qvarnstrom, Alexandre J. da Silva, et David G. Robinson. 2007. « Distribution of *Parmarion cf. martensi* (Pulmonata : Helicarionidae), a new semi-slug pest on Hawai'i Island, and its potential as a vector for human angiostrongyliasis ». *Pacific Science* 61 (4): 457-67. [https://doi.org/10.2984/1534-6188\(2007\)61\[457:DOPCMP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2984/1534-6188(2007)61[457:DOPCMP]2.0.CO;2).
- Horio, S. R., et J. E. Alicata. 1961. « Parasitic meningo-encephalitis in Hawaii. A new parasitic disease of man. » *Hawaii medical journal* 21 (décembre): 139-40.
- Huang, Dana, Yalan Huang, Yijun Tang, Qian Zhang, Xiaoheng Li, Shitong Gao, Wuwei Hua, et Renli Zhang. 2019. « Survey of *Angiostrongylus cantonensis* Infection Status in Host Animals and Populations in Shenzhen, 2016-2017 ». *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 19 (10): 717-23. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2394>.

- Hudson, P.J., I.M. Cattadori, B. Boag, et A.P. Dobson. 2006. « Climate Disruption and Parasite–Host Dynamics: Patterns and Processes Associated with Warming and the Frequency of Extreme Climatic Events ». *Journal of Helminthology* 80 (2): 175-82. <https://doi.org/10.1079/JOH2006357>.
- Ibrahim, M. M. 2007. « Prevalence and intensity of *Angiostrongylus cantonensis* in freshwater snails in relation to some ecological and biological factors ». *Parasite* 14 (1): 61-70. <https://doi.org/10.1051/parasite/2007141061>.
- Igbinosa, I. B., C. Isaac, H. O. Adamu, et G. Adeleke. 2016. « Parasites of edible land snails in Edo State, Nigeria ». *Helminthologia* 53 (4): 331-35. <https://doi.org/10.1515/helmin-2016-0031>.
- Jarvi, Susan I., Stefano Quarta, Steven Jacquier, Kathleen Howe, Deniz Bicakci, Crystal Dasalla, Noelle Lovesy, Kirsten Snook, Robert McHugh, et Chris N. Niebuhr. 2017. « High prevalence of *Angiostrongylus cantonensis* (rat lungworm) on eastern Hawai'i Island: A closer look at life cycle traits and patterns of infection in wild rats (*Rattus* spp.) ». *Plos One* 12 (12): e0189458. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189458>.
- Jones, Kate E., Nikkita G. Patel, Marc A. Levy, Adam Storeygard, Deborah Balk, John L. Gittleman, et Peter Daszak. 2008. « Global Trends in Emerging Infectious Diseases ». *Nature* 451 (7181): 990-93. <https://doi.org/10.1038/nature06536>.
- Kelly-Hope, Louise A., Wladimir J. Alonso, Vu Dinh Thiem, Do Gia Canh, Dang Duc Anh, Hyejon Lee, et Mark A. Miller. 2008. « Temporal trends and climatic factors associated with bacterial enteric diseases in Vietnam, 1991–2001 ». *Environmental health perspectives* 116 (1): 7-12.
- Kim, Jaynee R., Kenneth A. Hayes, Norine W. Yeung, et Robert H. Cowie. 2014. « Diverse Gastropod Hosts of *Angiostrongylus cantonensis*, the Rat Lungworm, Globally and with a Focus on the Hawaiian Islands ». *Plos One* 9 (5): e94969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094969>.
- Kim, Jaynee R., Tamara M. Wong, Patrick A. Curry, Norine W. Yeung, Kenneth A. Hayes, et Robert H. Cowie. 2019. « Modelling the distribution in Hawaii of *Angiostrongylus cantonensis* (rat lungworm) in its gastropod hosts ». *Parasitology* 146 (1): 42-49. <https://doi.org/10.1017/S0031182018001026>.
- Kincaid-Smith, Julien, Olivier Rey, Eve Toulza, Antoine Berry, et Jérôme Boissier. 2017. « Emerging Schistosomiasis in Europe: A Need to Quantify the Risks ».

- Trends in Parasitology* 33 (8): 600-609.
<https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.04.009>.
- Ko, Rc. 1978. « Occurrence of *Angiostrongylus-Cantonensis* in Heart of a Spider Monkey ». *Journal of Helminthology* 52 (3): 229-229.
<https://doi.org/10.1017/S0022149X00005435>.
- Kottwitz, Jack J., Kaylee K. Perry, Heidi H. Rose, et Charles M. Hendrix. 2014. « *Angiostrongylus cantonensis* infection in captive Geoffroy's tamarins (*Saguinus geoffroyi*) ». *Javma-Journal of the American Veterinary Medical Association* 245 (7): 821-27. <https://doi.org/10.2460/javma.245.7.821>.
- Kramer, Kenton, Johnnie Yates, Jourdan K. McMillan, William Gosnell, Gerald S. Murphy, Elizabeth Blalock, Louis Lteif, Olivia Smith, Melissa Kahili-Heede, et Vernon Ansdell. 2020. « Special Feature: Diagnosis and Treatment of Neuroangiostrongyliasis in Hawai'i. » *Hawai'i journal of health & social welfare* 79 (12): 353-57.
- Kuberski, T. 1981. « Eosinophils in Cerebrospinal-Fluid - Criteria for Eosinophilic Meningitis ». *Hawaii Medical Journal* 40 (4): 97-98.
- Kutz, S.J, E.P Hoberg, L Polley, et E.J Jenkins. 2005. « Global Warming Is Changing the Dynamics of Arctic Host–Parasite Systems ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272 (1581): 2571-76.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3285>.
- Kwo, Eh, et Ih Kwo. 1968. « Occurrence of *Angiostrongylus Cantonensis* in Rats in North Sumatra Indonesia ». *Journal of Parasitology* 54 (3): 537-.
<https://doi.org/10.2307/3277078>.
- Liberati, Alessandro. 2009. « The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration ». *Annals of Internal Medicine* 151 (4): W. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-151-4-200908180-00136>.
- Lim, B. L., et U. D. Omar-Ahmad. 1969. « *Angiostrongylus cantonensis* in an isolated village in Pahang (Protostrongylidae: Nematoda). » *The Medical journal of Malaya* 23 (3): 208-13.
- Lim, Bl. 1967. « Occurrence of *Angiostrongylus Cantonensis* in Rats Around Kuching Sarawak ». *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 61 (4): 429-.
<https://doi.org/10.1080/00034983.1967.11686510>.

- Lim, Bl, et D. Heyneman. 1965. « Host-Parasite Studies of *Angiostrongylus Cantonensis* (nematoda Metastrongylidae) in Malaysian Rodents - Natural Infection of Rodents and Molluscs in Urban and Rural Areas of Central Malaya ». *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 59 (4): 425-. <https://doi.org/10.1080/00034983.1965.11686328>.
- Lindo, J. F., C. Waugh, J. Hall, C. Cunningham-Myrie, D. Ashley, M. L. Eberhard, J. J. Sullivan, et al. 2002. « Enzootic *Angiostrongylus cantonensis* in rats and snails after an outbreak of human eosinophilic meningitis, Jamaica ». *Emerging Infectious Diseases* 8 (3): 324-26. <https://doi.org/10.3201/eid0803.010316>.
- Lo Re III, V., et S. J. Gluckman. 2003. « Eosinophilic meningitis ». *American Journal of Medicine* 114 (3): 217-23. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(02\)01495-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(02)01495-X).
- Lunn, J., R. Lee, P. Martin, et R. Malik. 2003. « Antemortem diagnosis of canine neural angiostrongylosis using ELISA ». *Australian Veterinary Journal* 81 (3): 128-31. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2003.tb11071.x>.
- Lv, Shan, Yi Zhang, He-Xiang Liu, Ling Hu, Kun Yang, Peter Steinmann, Zhao Chen, Li-Ying Wang, Juerg Utzinger, et Xiao-Nong Zhou. 2009. « Invasive Snails and an Emerging Infectious Disease: Results from the First National Survey on *Angiostrongylus cantonensis* in China ». *Plos Neglected Tropical Diseases* 3 (2): e368. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000368>.
- Lv, Shan, Xiao-Nong Zhou, et Jason R. Andrews. 2017. « Eosinophilic Meningitis Caused by *Angiostrongylus cantonensis* ». *Acs Chemical Neuroscience* 8 (9): 1815-16. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.7b00233>.
- Ma, Gemma, Michelle Dennis, Karrie Rose, David Spratt, et Derek Spielman. 2013. « Tawny frogmouths and brushtail possums as sentinels for *Angiostrongylus cantonensis*, the rat lungworm ». *Veterinary Parasitology* 192 (1-3): 158-65. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.11.009>.
- Mackerras, Mj, et Df Sandars. 1954. « Life-History of the Rat Lung-Worm and Its Migration Through the Brain of Its Host ». *Nature* 173 (4411): 956-57. <https://doi.org/10.1038/173956a0>.
- Mahajan, Rk, Aj Almeida, Sr Sengupta, et Dm Renapurkar. 1992. « Seasonal Intensity of *Angiostrongylus-Cantonensis* in the Intermediate Host, *Laevicaulis-Alte* ». *International Journal for Parasitology* 22 (5): 669-71. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(92\)90017-F](https://doi.org/10.1016/0020-7519(92)90017-F).

- Maleewong, W., P. Sombatsawat, P. M. Intapan, C. Wongkham, et V. Chotmongkol. 2001. « Immunoblot evaluation of the specificity of the 29-kDa antigen from young adult female worms *Angiostrongylus cantonensis* for immunodiagnosis of human angiostrongyliasis ». *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology* 19 (4): 267-73.
- Malhotra, S., D. K. Mehta, R. Arora, D. Chauhan, S. Ray, et M. Jain. 2006. « Ocular angiostrongyliasis in a child - First case report from India ». *Journal of Tropical Pediatrics* 52 (3): 223-25. <https://doi.org/10.1093/tropej/fmi092>.
- Marsh, C. M. 1998. « Eosinophilic meningitis/angiostrongyliasis from eating aquaculture-raised snails: a case report. » *Hawaii medical journal* 57 (10): 652-54.
- Martin-Alonso, Aaron, Estefania Abreu-Yanes, Carlos Feliu, Santiago Mas-Coma, Maria Dolores Bargues, Basilio Valladares, et Pilar Foronda. 2015. « Intermediate Hosts of *Angiostrongylus cantonensis* in Tenerife, Spain ». *Plos One* 10 (3): e0120686. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120686>.
- Mas-Coma, S, M A Valero, et M D Bargues. s. d. « Effects of Climate Change on Animal and Zoonotic Helminthiases ».
- Mason, Kv, Cw Prescott, Wr Kelly, et Ah Waddell. 1976. « Granulomatous Encephalomyelitis of Puppies Due to *Angiostrongylus-Cantonensis* ». *Australian Veterinary Journal* 52 (6): 295-295. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1976.tb00124.x>.
- Mckenzie, Ra, Pe Green, et Ad Wood. 1978. « *Angiostrongylus Cantonensis* Infection of Brain of a Captive Bennett Wallaby (*macropus-Rufogriseus*) ». *Australian Veterinary Journal* 54 (2): 86-88. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1978.tb00354.x>.
- Medeiros, Matthew C., Randi L. Rollins, Ma Vida Echaluse, et Robert H. Cowie. 2020. « Species Identity and Size are Associated with Rat Lungworm Infection in Gastropods ». *Ecohealth* 17 (2): 183-93. <https://doi.org/10.1007/s10393-020-01484-x>.
- Monks, D. J., M. S. Carlisle, M. Carrigan, K. Rose, D. Spratt, A. Gallagher, et P. Prociv. 2005. « *Angiostrongylus cantonensis* as a cause of cerebrospinal disease in a yellow-tailed black cockatoo (*Calyptorhynchus funereus*) and two tawny frogmouths (*Podargus strigoides*) ». *Journal of Avian Medicine and Surgery* 19 (4): 289-93. <https://doi.org/10.1647/2004-024.1>.

- Morassutti, Alessandra L., Lisa N. Rascoe, Sukwan Handali, Alexandre J. Da Silva, Patricia P. Wilkins, et Carlos Graeff-Teixeira. 2017. « Cross-reactivity of the 31 kDa antigen of *Angiostrongylus cantonensis* - Dealing with the immunodiagnosis of meningoencephalitis ». *Parasitology* 144 (4): 459-63. <https://doi.org/10.1017/S0031182016001918>.
- Murphy, Gerald S., et Stuart Johnson. 2013. « Clinical aspects of eosinophilic meningitis and meningoencephalitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*, the rat lungworm. » *Hawai'i journal of medicine & public health : a journal of Asia Pacific Medicine & Public Health* 72 (6 Suppl 2): 35-40.
- Nguyen, Yann, Benjamin Rossi, Nicolas Argy, Catherine Baker, Beatrice Nickel, Hanspeter Marti, Virginie Zarrouk, Sandrine Houze, Bruno Fantin, et Agnes Lefort. 2017. « Autochthonous Case of Eosinophilic Meningitis Caused by *Angiostrongylus cantonensis*, France, 2016 ». *Emerging Infectious Diseases* 23 (6): 1045-46. <https://doi.org/10.3201/eid2306.161999>.
- Niebuhr, Chris N., Susan I. Jarvi, Lisa Kaluna, Bruce L. Torres Fischer, Ashley R. Deane, Israel L. Leinbach, et Shane R. Siers. 2020. « Occurrence of Rat Lungworm (*Angiostrongylus cantonensis*) in Invasive Coqui Frogs (*Eleutherodactylus coqui*) and Other Hosts in Hawaii, USA ». *Journal of Wildlife Diseases* 56 (1): 203-7. <https://doi.org/10.7589/2018-12-294>.
- Niebuhr, Chris N., Shane R. Siers, Israel L. Leinbach, Lisa M. Kaluna, et Susan I. Jarvi. 2021. « Variation in *Angiostrongylus cantonensis* infection in definitive and intermediate hosts in Hawaii, a global hotspot of rat lungworm disease ». *Parasitology* 148 (2): 133-42. <https://doi.org/10.1017/S003118202000164X>.
- Noda, S., R. Uchikawa, S. Matayoshi, Y. Watanabe, et A. Sato. 1987. « Observations on the transmission of *Angiostrongylus cantonensis* from snail to rodent ». *Journal of Helminthology* 61 (3): 241-46. <https://doi.org/10.1017/S0022149X00010099>.
- Nomura, S., et H. Lin. 1945. « First clinical case of *Haemostrongylus ratti* ». *Taiwan no ikai* 3: 589-92.
- Odani, Jenee, Erika Sox, Will Coleman, Rajesh Jha, et Richard Malik. 2021. « First Documented Cases of Canine Neuroangiostrongyliasis Due to *Angiostrongylus cantonensis* in Hawaii. » *Journal of the American Animal Hospital Association* 57 (1): 42-46. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-6989>.

- Okano, Tsukasa, Atsushi Haga, Eriko Mizuno, Manabu Onuma, Yumiko Nakaya, et Takashi Nagamine. 2014. « *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) in the Ryukyu Islands Tree Rat (*Diplothrix legata*) ». *Journal of Wildlife Diseases* 50 (2): 322-25. <https://doi.org/10.7589/2013-03-050>.
- Oliveira, Ana Pm, Rosana Gentile, Arnaldo Maldonado, Eduardo J. Lopes Torres, et Silvana C. Thiengo. 2015. « *Angiostrongylus cantonensis* infection in molluscs in the municipality of Sao Goncalo, a metropolitan area of Rio de Janeiro, Brazil: role of the invasive species *Achatina fulica* in parasite transmission dynamics ». *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 110 (6): 739-44. <https://doi.org/10.1590/0074-02760150106>.
- Page, Matthew J., Joanne E. McKenzie, Patrick M. Bossuyt, Isabelle Boutron, Tammy C. Hoffmann, Cynthia D. Mulrow, Larissa Shamseer, Jennifer M. Tetzlaff, Elie A. Akl, et Sue E. Brennan. 2021. « The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews ». *International journal of surgery* 88: 105906.
- Panha, S. 1988. « Natural Infection of the Rat Lungworm *Angiostrongylus-Cantonensis* in a Thai Edible Land Snail, *Hemiplecta-Distincta* ». *Journal of the Science Society of Thailand* 14 (3): 233-39.
- Paredes-Esquivel, Claudia, Pilar Foronda, Claire Panosian Dunavan, et Robert H. Cowie. 2023. « Neuroangiostrongyliasis: Rat Lungworm Invades Europe. » *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 108 (4): 857-58. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.22-0782>.
- Paredes-Esquivel, Claudia, Jessica Sola, Sofia Delgado-Serra, Miguel Puig Riera, Nieves Negre, Miguel Angel Miranda, et Jose A. Jurado-Rivera. 2019. « *Angiostrongylus cantonensis* in North African hedgehogs as vertebrate hosts, Mallorca, Spain, October 2018 ». *Eurosurveillance* 24 (33): 2-6. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.33.1900489>.
- Patial, Sonika, Brooke A. Delcambre, Peter M. DiGeronimo, Gary Conboy, Adriano F. Vatta, et Rudy Bauer. 2022. « Verminous Meningoencephalomyelitis in a Red Kangaroo Associated with *Angiostrongylus Cantonensis* Infection ». *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 34 (1): 107-11. <https://doi.org/10.1177/10406387211037664>.
- Pauling, Cassandra Dawn, Anna R. Oller, et Victoria Jackson. 2016. « Fecal parasite identification by microscopy and PCR in scimitar-horned oryx, *Oryx dammah*,

- managed at two sites ». *International Journal for Parasitology-Parasites and Wildlife* 5 (3): 312-20. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2016.11.001>.
- Pipitgool, V., P. Sithithaworn, P. Pongmuttasaya, et E. Hinz. 1997. « Angiostrongylus infections in rats and snails in northeast Thailand. » *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* 28 Suppl 1: 190-93.
- Radomyos, P., A. Tungtrongchitr, R. Praewanich, P. Khewwatchan, T. Kantangkul, P. Junlananto, et S. I. Ayudhya. 1994. « Occurrence of the infective stage of *Angiostrongylus cantonensis* in the yellow tree monitor (*Varanus bengalensis*) in five Provinces of Thailand. » *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* 25 (3): 498-500.
- Rael, Rosalyn C., Anna C. Peterson, Bruno Gherzi-Chavez, Claudia Riegel, Amy E. Lesen, et Michael J. Blum. 2018. « Rat Lungworm Infection in Rodents across Post-Katrina New Orleans, Louisiana, USA ». *Emerging Infectious Diseases* 24 (12): 2176-83. <https://doi.org/10.3201/eid2412.180056>.
- Ramos-de-Souza, Jucicleide, Silvana Carvalho Thiengo, Monica Ammon Fernandez, Suzete Rodrigues Gomes, Jessica Correa Antonio, Marianna de Carvalho Climaco, Juberlan Silva Garcia, Arnaldo Maldonado-Junior, Luciene Barbosa, et Silvio Santana Dolabella. 2018. « First records of molluscs naturally infected with *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongyloidea) in Northeastern Brazil, including new global records of natural intermediate hosts ». *Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo* 60: e51. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201860051>.
- Reddacliff, L. A., T. A. Bellamy, et W. J. Hartley. 1999. « *Angiostrongylus cantonensis* infection in grey-headed fruit bats (*Pteropus poliocephalus*) ». *Australian Veterinary Journal* 77 (7): 466-68. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1999.tb12095.x>.
- Reece, R. L., R. A. Perry, et D. M. Spratt. 2013. « Neuroangiostrongyliasis due to *Angiostrongylus cantonensis* in gang-gang cockatoos (*Callocephalon fimbriatum*) ». *Australian Veterinary Journal* 91 (11): 477-81. <https://doi.org/10.1111/avj.12116>.
- Renapurkar, Dm, Mk Bhopale, Ls Limaye, et Kd Sharma. 1982. « Prevalence of *Angiostrongylus-Cantonensis* Infection in Commensal Rats in Bombay ». *Journal of Helminthology* 56 (4): 345-49. <https://doi.org/10.1017/S0022149X00034751>.

- Risco Barrios, Ubaldo del, et Lorenzo Diéguez Fernández. 2004. « Presencia y distribución de hospederos intermediarios de *angiostrongylus cantonensis* en camaguey. Prevalencia e importancia epidemiológica para su control ». *Revista Archivo Médico de Camagüey* 8 (1): 1-13.
- Rollins, Randi L., Robert H. Cowie, Ma Vida Echaluse, et Matthew C. I. Medeiros. 2021. « Host snail species exhibit differential *Angiostrongylus cantonensis* prevalence and infection intensity across an environmental gradient. » *Acta tropica* 216 (janvier): 105824-105824. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105824>.
- Rosen, L., J. Laigret, et S. Bories. 1961. « Observations on an Outbreak of Eosinophilic Meningitis on Tahiti, French Polynesia ». *American Journal of Hygiene* 74 (1): 26-. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a120198>.
- Rosen, L., Pp Weinstein, Gl Laqueur, R. Chappell, et Gd Wallace. 1962. « Eosinophilic Meningoencephalitis Caused by a Metastrongylid Lung-Worm of Rats ». *Jama-Journal of the American Medical Association* 179 (8): 620-. <https://doi.org/10.1001/jama.1962.03050080032007>.
- Rowe, Fp. 1967. « Notes on Rats in Solomon and Gilbert Islands ». *Journal of Mammalogy* 48 (4): 649-. <https://doi.org/10.2307/1377593>.
- Sawanyawisuth, Kittisak, et Kanlayanee Sawanyawisuth. 2010. « Drug target in eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*. » *Infectious disorders drug targets* 10 (5): 322-28.
- Segeritz, Lisa, Alejandro Cardona, Anja Taubert, Carlos Hermosilla, et Antonio Ruiz. 2021. « Autochthonous *Angiostrongylus Cantonensis*, *Angiostrongylus Vasorum* and *Aelurostrongylus Abstrusus* Infections in Native Terrestrial Gastropods from the Macaronesian Archipelago of Spain ». *Parasitology Research* 120 (7): 2671-80. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07203-x>.
- Selbach, Christian, Micha Rosenkranz, et Robert Poulin. 2019. « Cercarial Behavior Determines Risk of Predation ». *Journal of Parasitology* 105 (2): 330. <https://doi.org/10.1645/18-165>.
- Sen Yong, Hoi, et Praphathip Eamsobhana. 2013. « DEFINITIVE RODENT HOSTS OF THE RAT LUNGWORM *ANGIOSTRONGYLUS CANTONENSIS* ». *Raffles Bulletin of Zoology*, novembre, 111-15.
- Simoës, Raquel O., Arnaldo Maldonado Junior, Natalie Olifiers, Juberlan S. Garcia, Ana Valeria F. A. Bertolino, et Jose L. Luque. 2014. « A longitudinal study of

- Angiostrongylus cantonensis in an urban population of Rattus norvegicus in Brazil: the influences of seasonality and host features on the pattern of infection ». *Parasites & Vectors* 7 (mars). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-100>.
- Sinawat, Suthasinee, Thawinee Trisakul, Stephanie Choi, Michael Morley, Supat Sinawat, et Yosanan Yospaiboon. 2019. « Ocular angiostrongyliasis in Thailand: a retrospective analysis over two decades ». *Clinical Ophthalmology* 13: 1027-31. <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S204380>.
- Sithay, Phaviny, Thaksaporn Thongseesuksai, Somphonephet Chanthavong, Onekham Savongsy, Naly Khaminsou, Thidarut Boonmars, et Porntip Laummaunwai. 2020. « Zoonotic Helminthiases in Rodents (*Bandicota indica*, *Bandicota savilei*, and *Leopoldamys edwardsi*) from Vientiane Capital, Lao PDR. » *The American journal of tropical medicine and hygiene* 103 (6): 2323-27. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-0778>.
- Solorzano-Alava, Luis, Francisco Sanchez-Amador, et Talia Valverde. 2019. « Angiostrongylus (*Parastrongylus*) cantonensis on intermediate and definitive host in Ecuador 2014-2017 ». *Biomedica* 39 (2).
- Souza, Fabio N., Maisa Aguiar Santos, Daniele Almeida Alves, Leyva Cecilia Vieira de Melo, Dan Jesse Goncalves da Mota, Arsinoe Cristina Pertile, Ricardo Gava, et al. 2021. « Angiostrongylus Cantonensis in Urban Populations of Terrestrial Gastropods and Rats in an Impoverished Region of Brazil ». *Parasitology* 148 (8): 994-1002. <https://doi.org/10.1017/S0031182021000597>.
- Stockdale-Walden, Heather D., John Slapcinsky, Yvonne Qvarnstrom, Antoinette McIntosh, Henry S. Bishop, et Brent Rosseland. 2015. « Angiostrongylus Cantonensis in Introduced Gastropods in Southern Florida ». *Journal of Parasitology* 101 (2): 156-59. <https://doi.org/10.1645/14-553.1>.
- Stokes, Vicki L., David M. Spratt, Peter B. Banks, Roger P. Pechc, et Richard L. Williams. 2007. « Occurrence of Angiostrongylus species (Nematoda) in populations of Rattus rattus and Rattus fuscipes in coastal forests of south-eastern Australia ». *Australian Journal of Zoology* 55 (3): 177-84. <https://doi.org/10.1071/ZO06061>.
- Sugaya, H., M. Aoki, T. Abe, K. Ishida, et K. Yoshimura. 1997. « Cytokine responses in mice infected with Angiostrongylus cantonensis ». *Parasitology Research* 83 (1): 10-15.

- Teem, John L., Yvonne Qvarnstrom, Henry S. Bishop, Alexandre J. da Silva, Jacoby Carter, Jodi White-McLean, et Trevor Smith. 2013. « The occurrence of the rat lungworm, *Angiostrongylus cantonensis*, in nonindigenous snails in the Gulf of Mexico region of the United States. » *Hawai'i journal of medicine & public health : a journal of Asia Pacific Medicine & Public Health* 72 (6 Suppl 2): 11-14.
- Tesana, Smarn, Tuanchai Srisawangwong, Paiboon Sithithaworn, Thewarach Laha, et Ross Andrews. 2009. « Prevalence and Intensity of Infection with Third Stage Larvae of *Angiostrongylus cantonensis* in Mollusks from Northeast Thailand ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 80 (6): 983-87. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2009.80.983>.
- Thiengo, S. C., A. Maldonado, E. M. Mota, E. J. L. Torres, R. Caldeira, O. S. Carvalho, A. P. M. Oliveira, R. O. Simoes, M. A. Fernandez, et R. M. Lanfredi. 2010. « The giant African snail *Achatina fulica* as natural intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis* in Pernambuco, northeast Brazil ». *Acta Tropica* 115 (3): 194-99. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.01.005>.
- Tokiwa, Toshihiro, Takuma Hashimoto, Tatsuo Yabe, Noriyuki Komatsu, Nobuaki Akao, et Nobuo Ohta. 2013. « First Report of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Angiostrongylidae) Infections in Invasive Rodents from Five Islands of the Ogasawara Archipelago, Japan ». *Plos One* 8 (8): e70729. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070729>.
- Tokiwa, Toshihiro, Hisashi Yoshimura, Keiko Ito, Shyun Chou, et Masami Yamamoto. 2020. « Alien parasitic infections in the endangered Ryukyu long-furred rat (*Diplothrix legata*) on Amami-Oshima Island, Japan ». *Parasitology International* 76 (juin): 102058. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102058>.
- Tsai, T. H., Y. C. Liu, S. R. Wann, W. R. Lin, S. J. Lee, H. H. Lin, Y. S. Chen, M. Y. Yen, et C. M. Yen. 2001. « An outbreak of meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis* in Kaohsiung. » *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi* 34 (1): 50-56.
- Tu, W. C., et S. C. Lai. 2006. « Induction of tumour necrosis factor, interleukin-1 beta and matrix metalloproteinases in pulmonary fibrosis of rats infected with *Angiostrongylus cantonensis* ». *Journal of Helminthology* 80 (3): 305-11. <https://doi.org/10.1079/JOH2006342>.
- Tujan, Ma Angelica A., Ian Kendrick C. Fontanilla, et Vachel Gay V. Paller. 2016. « Vectors and Spatial Patterns of *Angiostrongylus cantonensis* in Selected

- Rice-Farming Villages of Munoz, Nueva Ecija, Philippines. » *Journal of parasitology research* 2016: 3085639-3085639. <https://doi.org/10.1155/2016/3085639>.
- Tung, Kwong-Chung, Fun-Chun Hsiao, Kai-Sung Wang, Cheng-Hsiung Yang, et Cheng-Hung Lai. 2013. « Study of the endoparasitic fauna of commensal rats and shrews caught in traditional wet markets in Taichung City, Taiwan ». *Journal of Microbiology Immunology and Infection* 46 (2): 85-88. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2012.01.012>.
- Tung, Kwong-Chung, Fun-Chun Hsiao, Cheng-Hsiung Yang, Chi-Chung Chou, Wei-Ming Lee, Kai-Sung Wang, et Cheng-Hung Lai. 2009. « Surveillance of Endoparasitic Infections and the First Report of Physaloptera sp and Sarcocystis spp. in Farm Rodents and Shrews in Central Taiwan ». *Journal of Veterinary Medical Science* 71 (1): 43-47. <https://doi.org/10.1292/jvms.71.43>.
- Uchikawa, R., M. Takagi, S. Matayoshi, et A. Sato. 1984. « The Presence of Angiostrongylus-Cantonensis in Viti Levu, Fiji ». *Journal of Helminthology* 58 (3): 231-34. <https://doi.org/10.1017/S0022149X00027024>.
- Vitta, A., W. Polsut, C. Fukruksa, T. Yimthin, A. Thanwisai, et P. Dekumyoy. 2016. « Levels of infection with the lungworm Angiostrongylus cantonensis in terrestrial snails from Thailand, with Cryptozona siamensis as a new intermediate host ». *Journal of Helminthology* 90 (6): 737-41. <https://doi.org/10.1017/S0022149X15001042>.
- Vitta, Apichat. 2012. « Diagnosis of human angiostrongyliasis ». *Asian Biomedicine* 6 (2): 141-50. <https://doi.org/10.5372/1905-7415.0602.040>.
- Walden, Heather D. Stockdale, John D. Slapcinsky, Shannon Roff, Jorge Mendieta Calle, Zakia Diaz Goodwin, Jere Stern, Rachel Corlett, Julia Conway, et Antoinette McIntosh. 2017. « Geographic distribution of Angiostrongylus cantonensis in wild rats (Rattus rattus) and terrestrial snails in Florida, USA ». *Plos One* 12 (5): e0177910. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177910>.
- Wang, Huijie, Lingli Lu, Dan She, Zhibo Wen, Zexun Mo, Jun Li, et Hua Li. 2018. « Eating Centipedes Can Result in Angiostrongylus cantonensis Infection: Two Case Reports and Pathogen Investigation ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 99 (3): 743-48. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0151>.

- Wang, Qiao-Ping, De-Hua Lai, Xing-Quan Zhu, Xiao-Guang Chen, et Zhao-Rong Lun. 2008. « Human angiostrongyliasis ». *Lancet Infectious Diseases* 8 (10): 621-30. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70229-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70229-9).
- Wang, Q.-P., Z.-D. Wu, J. Wei, R. L. Owen, et Z.-R. Lun. 2012. « Human Angiostrongylus cantonensis: an update ». *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 31 (4): 389-95. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1328-5>.
- Watthanakulpanich, Dorn, Wallop Jakkul, Chaichana Chanapromma, Thawatchai Ketboonlue, Paron Dekumyoy, Zhiyue Lv, Abigail Hui En Chan, Urusa Thaenkham, et Kittipong Chaisiri. 2021. « Co-Occurrence of Angiostrongylus Malaysiensis and Angiostrongylus Cantonensis DNA in Cerebrospinal Fluid: Evidence from Human Eosinophilic Meningitis after Ingestion of Raw Snail Dish in Thailand ». *Food and Waterborne Parasitology* 24 (septembre): e00128. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2021.e00128>.
- Waugh, C. A., J. F. Lindo, J. Lorenzo-Morales, et R. D. Robinson. 2016. « An epidemiological study of A. cantonensis in Jamaica subsequent to an outbreak of human cases of eosinophilic meningitis in 2000 ». *Parasitology* 143 (9): 1211-17. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000640>.
- Woolhouse, Mark E.J., et Sonya Gowtage-Sequeria. 2005. « Host Range and Emerging and Reemerging Pathogens ». *Emerging Infectious Diseases* 11 (12): 1842-47. <https://doi.org/10.3201/eid1112.050997>.
- Wright, Jd, Wr Kelly, Ah Wadell, et J. Hamilton. 1991. « Equine Neural Angiostrongylosis ». *Australian Veterinary Journal* 68 (2): 58-60. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1991.tb03131.x>.
- Yang, Xiao, Zhenyu Qu, Hualiang He, Xiaoying Zheng, Ai He, Yu Wu, Qian Liu, et al. 2012. « Enzootic Angiostrongyliasis in Guangzhou, China, 2008-2010 ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 86 (5): 846-49. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0532>.
- York, Emily M., James P. Creecy, Wayne D. Lord, et William Caire. 2015. « Geographic Range Expansion for the Rat Lungworm in North America ». *Emerging Infectious Diseases* 21 (7): 1234-36. <https://doi.org/10.3201/eid2107.141980>.

- Yoshimura, K., H. Sugaya, et K. Ishida. 1994. « The Role of Eosinophils in Angiostrongylus-Cantonensis Infection ». *Parasitology Today* 10 (6): 231-33. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(94\)90124-4](https://doi.org/10.1016/0169-4758(94)90124-4).
- Yousif, F., et A. Ibrahim. 1978. « 1st Record of Angiostrongylus-Cantonensis from Egypt ». *Zeitschrift Fur Parasitenkunde-Parasitology Research* 56 (1): 73-80. <https://doi.org/10.1007/BF00925940>.
- Zhang, Ren-Li, Mu-Xin Chen, Shi-Tong Gao, Yi-Jie Geng, Da-Na Huang, Jian-Ping Liu, Yuan-Liang Wu, et Xing-Quan Zhu. 2008. « Enzoitic Angiostrongyliasis in Shenzhen, China ». *Emerging Infectious Diseases* 14 (12): 1955-56. <https://doi.org/10.3201/eid1412.080695>.
- Zhang, Ying, Peng Bi, et Janet E. Hiller. 2008. « Climate change and the transmission of vector-borne diseases: a review ». *Asia Pacific Journal of Public Health* 20 (1): 64-76.

List of tables and figures

Table 1. Geographical distribution of the definitive hosts of *A. cantonensis*.

Table 2. Geographical distribution of the intermediate hosts of *A. cantonensis*.

Table 3. Geographical distribution of the paratenic/accidental hosts of *A. cantonensis*.

Figure 1. Flow diagram of selection process.

Figure 2. Distribution of *A. cantonensis* throughout the world in its different hosts

Fig 3 Number of rats analyzed by country.

Fig. 4 Overall prevalence and number of individuals examined in studies according to each species.

Figure 5. A conceptual model of the transmission ecology of *A. cantonensis*.

Supplementary File

Suppl. File 1: Complete list of all sampled definitive hosts (positive and negative for *A. cantonensis*)

Suppl. File 2: Complete list of all sampled intermediate hosts (positive and negative for *A. cantonensis*)

Suppl. File 3: Complete of all sampled paratenic, accidental hosts (positive and negative for *A. cantonensis*)

Suppl. File 4: Additionnal data not included in the main review: complementary list of potential definitive, intermediate, paratenic and accidental hosts sampled and found negative for *A. cantonensis*, or found positive but not cited in the main text (with related references)

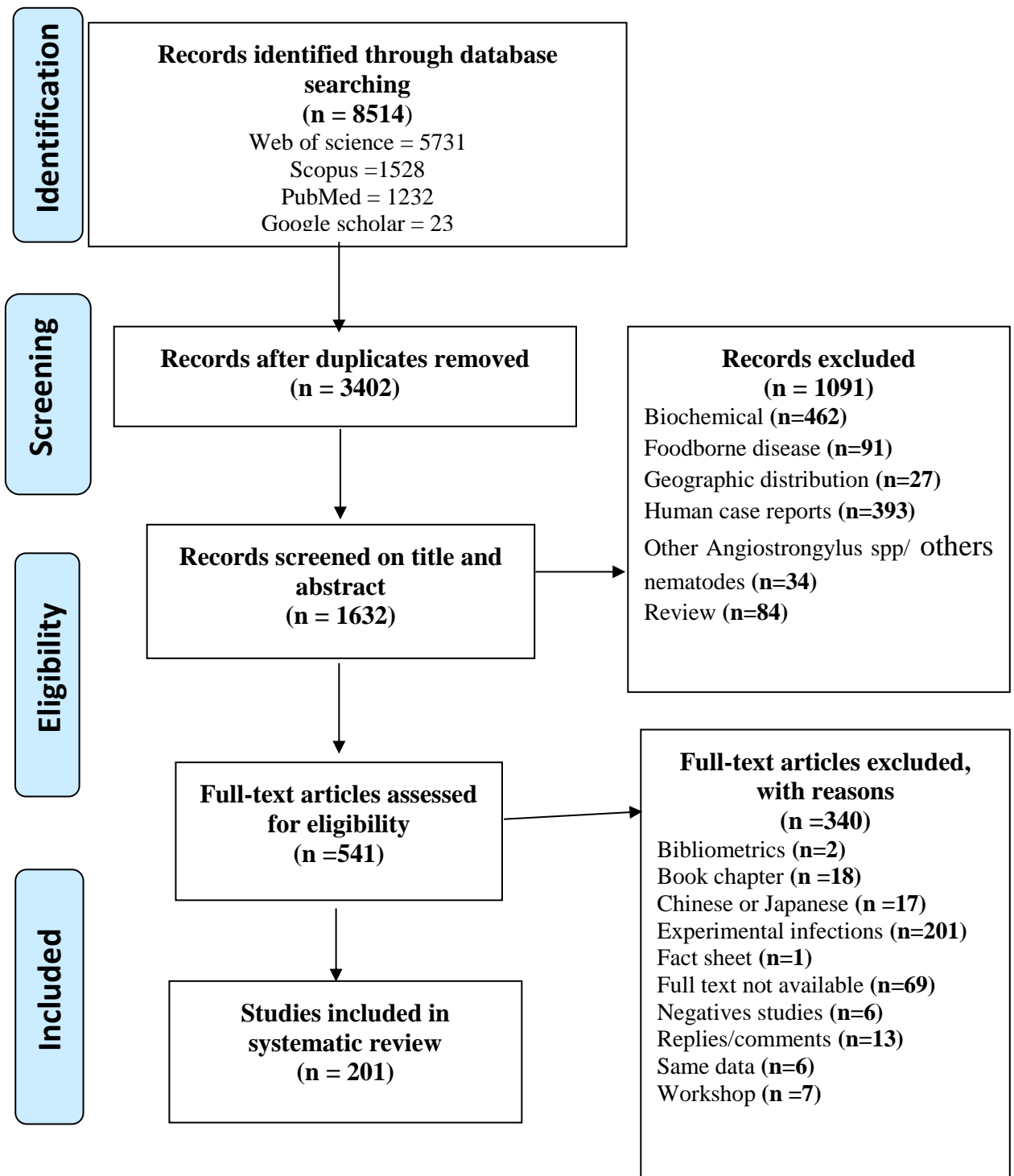


Figure 1. Flow diagram of selection process.

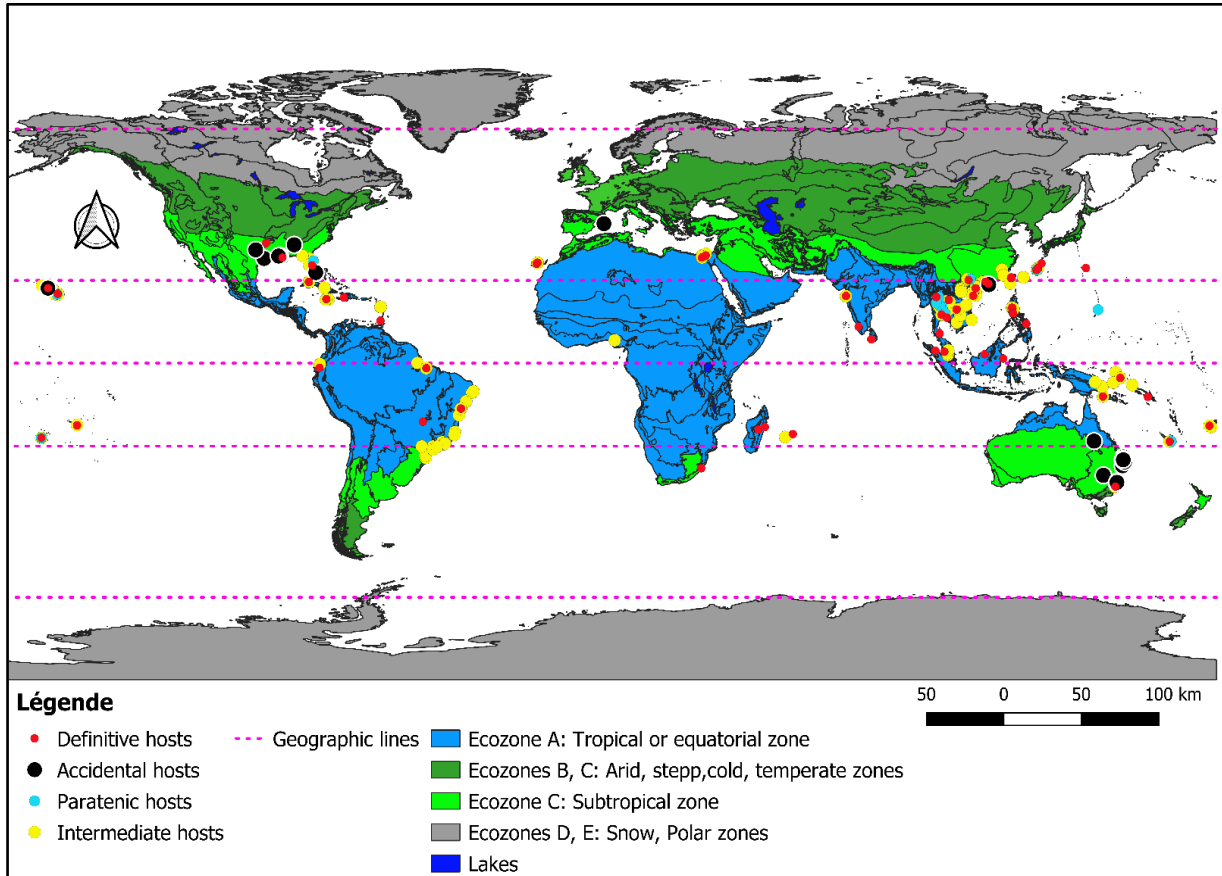


Figure 2. Distribution of *A. cantonensis* throughout the world in its different hosts

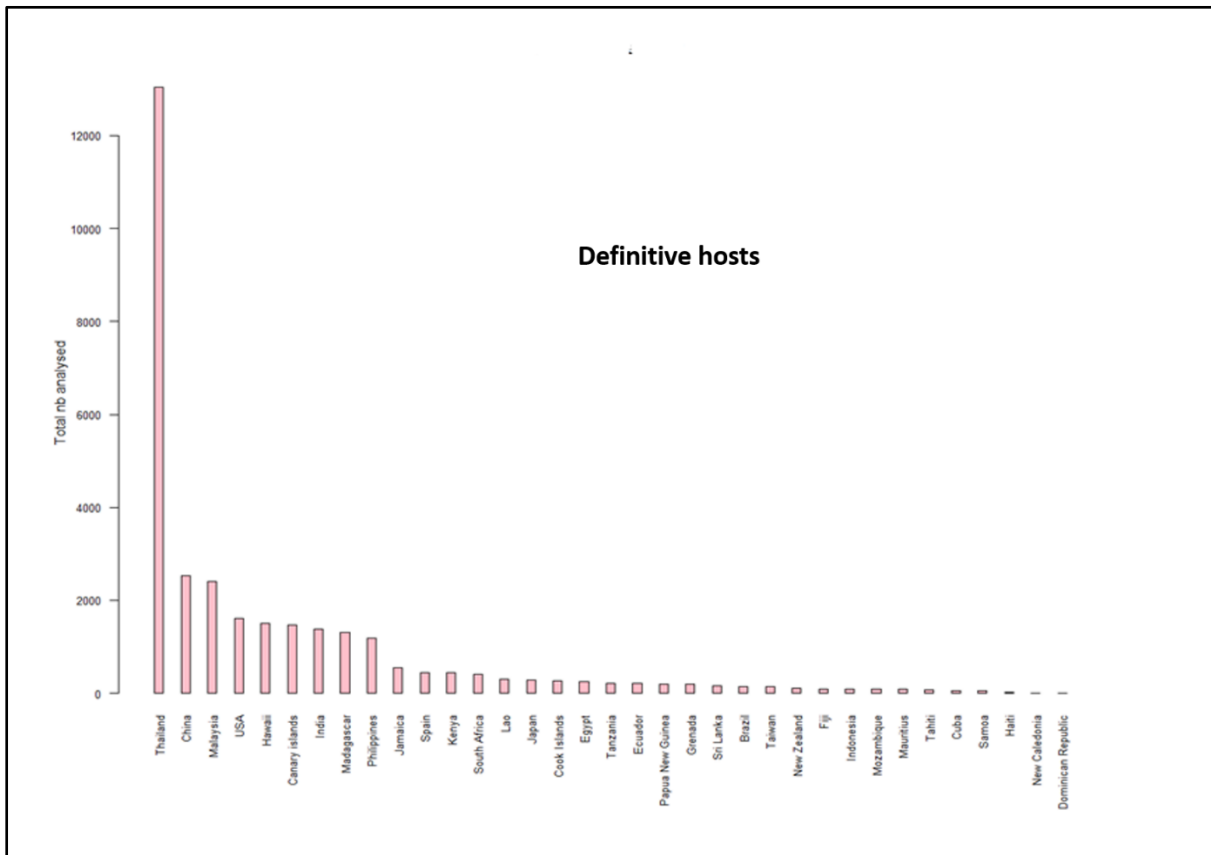


Figure 3 Number of rats analyzed by country.

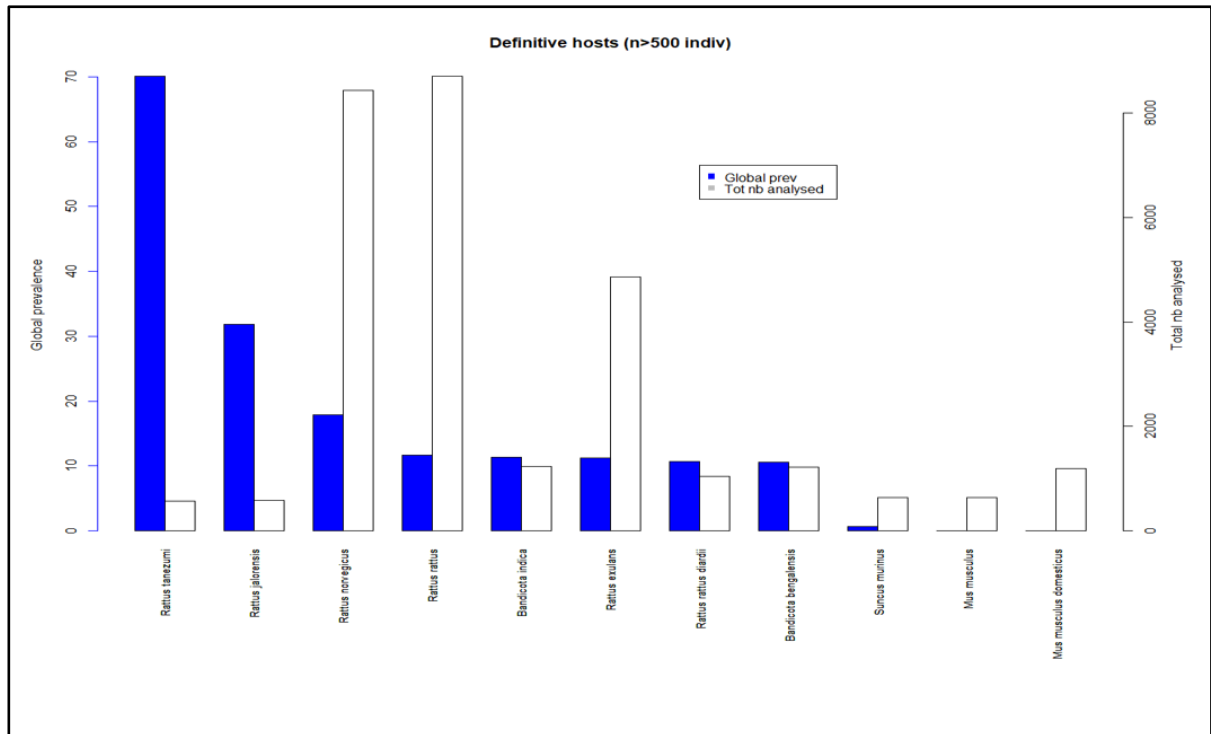


Figure. 4 Overall prevalence and number of individuals examined in studies according to each species.

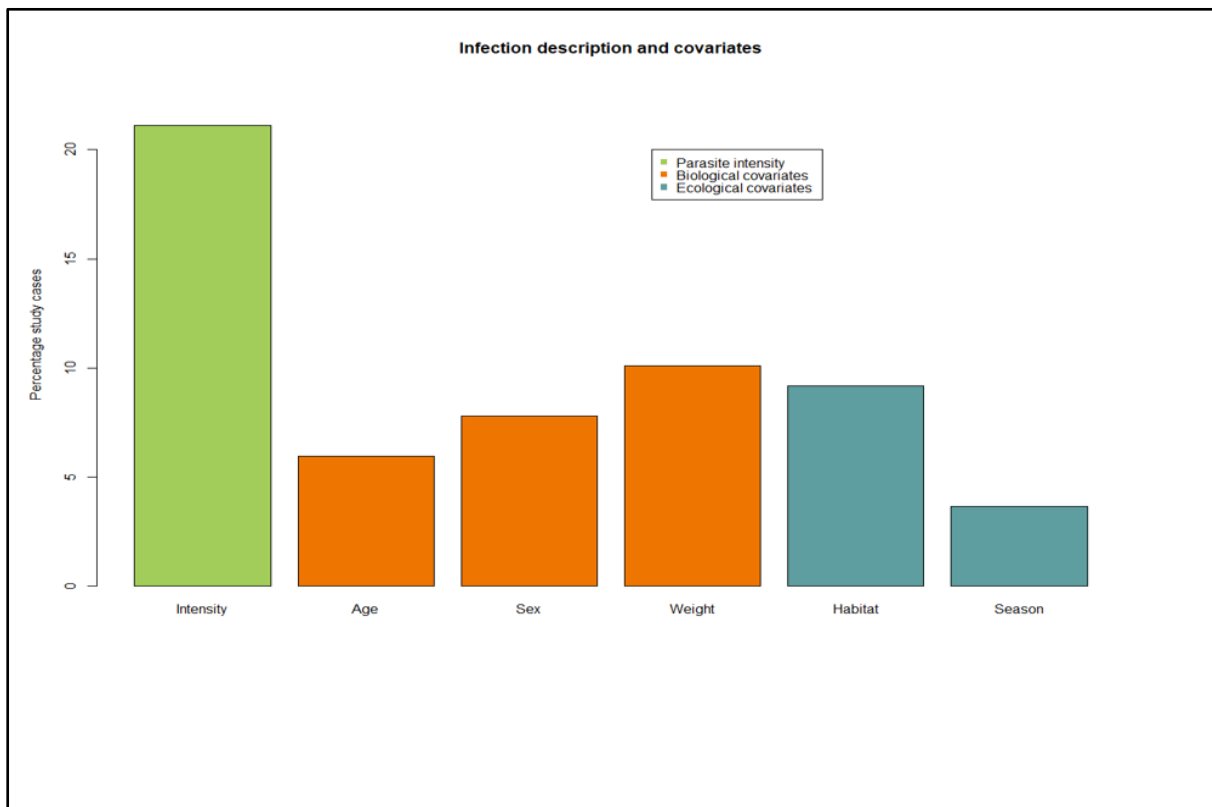


Figure 5 Most studied factors in the literature.

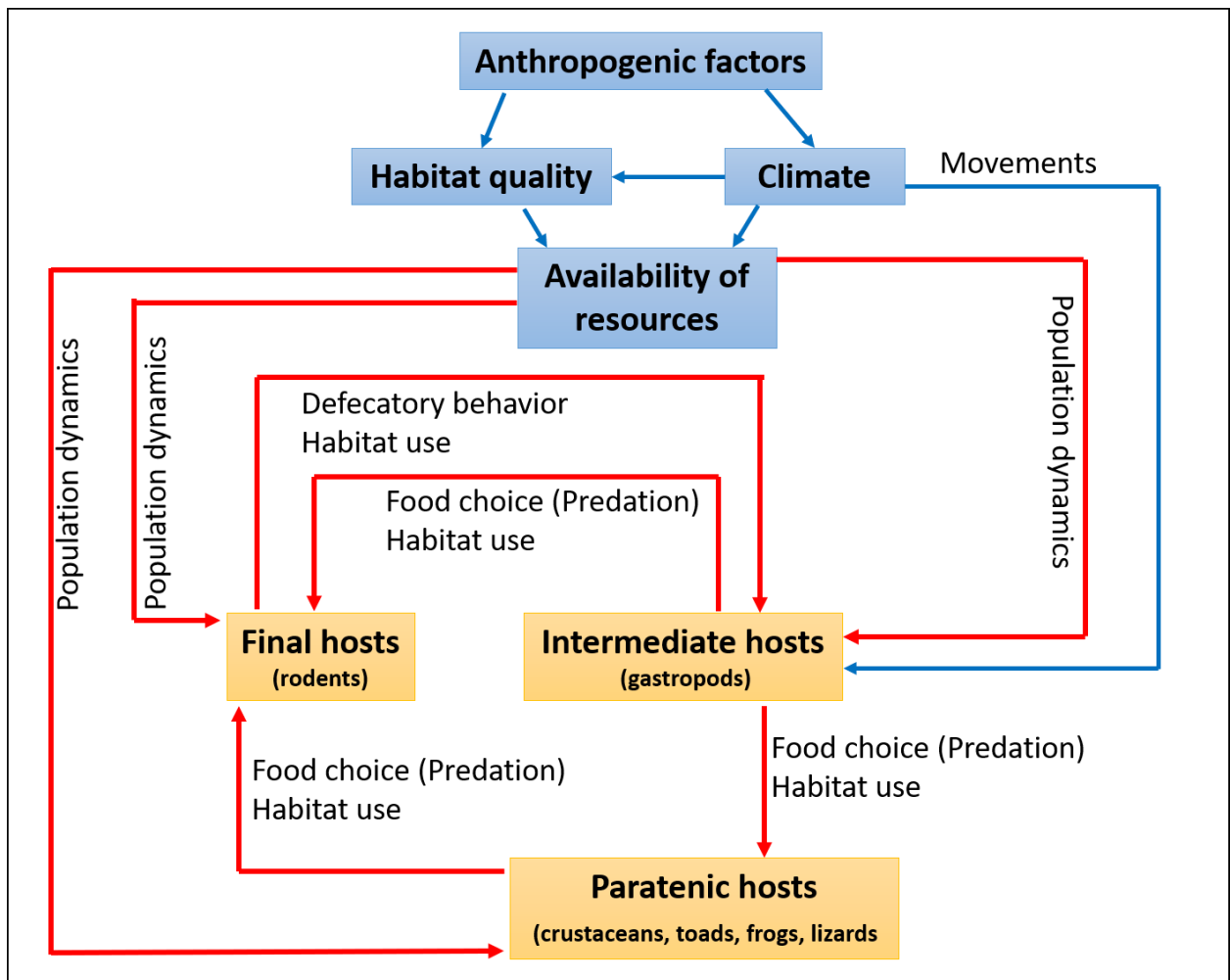


Figure 6 A conceptual model of the transmission ecology of *A. cantonensis*. The blue rectangles and arrows represent abiotic elements. Yellow rectangles and red arrows relate to biotic interactions.

Table 1. Geographical distribution of the definitive hosts of *A. cantonensis*.

The names of the species are those in the original articles. We did not consider the current taxonomy of rodents. For further discussion on rodent phylogeny, see Yong and Eamsobhana (Sen Yong et Eamsobhana 2013). The word “as” means according to the authors of the article. This table lists only the species found to be infected. In order to make the table more manageable, only key references are included (see Suppl. File 1 for additional references). A bibliography of species found negative and positive is in Suppl. File 4. (*): means see SI for other studies in which this species was found positive. The number examined (No. examined) encompasses all studies in general including those that found negative specimens.

Host species (S=Soricomorpha or R= Rodentia)	Distribution of host records	No.infected/No.examined Prevalence (%) [prev. min-max]	References
<i>Arvicanthis niloticus</i> (R)	Giza, Ismalia Governorates (Egypt)	2/56 (4%) [2/18 (11%)]	(Azzam, El-Abd, et Abd El-Hady 2016)
<i>Bandicota bengalensis</i> (R)	Bangkok-Thonburi, (Thailand)	129/1217 (11%) [129/931 (14%)]	(Crook, Fulton, et Supanwong 1968) (*)
<i>Bandicota indica</i> (R) as <i>Bandicota malabarica</i> (R)	Colombo (Ceylon now Sri Lanka); (Northeast Thailand); Guangdong, Zhanjiang (China); Vientiane (Lao PDR)	149/1247 (12%) [1/69 (1%) – 9/14 (64%)]	(J. Alicata 1966; D. Chen et al. 2011; Pipitgool et al. 1997; Sithay et al. 2020) (*)
<i>Diplotrix legata</i> (R)	Yambaru, Ryukyu Islands, Amami-Oshima Island (Japan)	4/33 (12%) [3/32 (9%) - 1/1 (100%)]	(Okano et al. 2014; Tokiwa et al. 2020)
<i>Rattus argentiventer</i> (R)	Central Malaya Pahang Village of Bukkit, Tinggi (Malaysia)	76/275 (28%) [40/208 (19%) - 36/48 (75%)]	(B. L. Lim et Omar-Ahmad 1969; B. Lim et Heyneman 1965)
<i>Rattus exulans</i> (R)	Rarotonga (Cook Islands); Bangkok-Thonburi area (Thailand); Oahu Island, Honolulu and South Hilo (Hawaii, USA); Viti Levu, (Fidji)	578/4875 (12%) [46/3684 (1%) – 186/200 (93%)]	(J. Alicata et Mccarthy 1964; Crook, Fulton, et Supanwong 1968; Higa, Brock, et Palumbo 1986; Jarvi et al. 2017; Uchikawa et al. 1984). (*)
<i>Rattus flavipectus</i> (R)	Guangdong, Shenzhen (China); west-central region of Guangdong Province, Guangdong, Guangzhou (China)	43/474 (9%) [6/121 (5%) - 3/20 (15%)]	(D. Chen et al. 2011; Huang et al. 2019; Lv et al. 2009; Yang et al. 2012; R.-L. Zhang et al. 2008)
<i>Rattus norvegicus</i> (R)	Rarotonga (Cook Islands); Anejima, Imoutojima, Meijima, Mukohjima, and Hirajima Islands (Japan); Trindade, São Gonçalo municipality, Rio de Janeiro, (Brazil); New Orleans, Louisiana, Wildlife Management Area, Oklahoma (USA);	1587/8610 (18%) [2/100 (2%) – 300/300 (100%)]	(J. Alicata et Mccarthy 1964; Castillo et Paller 2018; Simoes et al. 2014; Tokiwa et al. 2013; York et al. 2015). (*)

	Nueva Ecija (Philippines)		
<i>Rattus rattoides</i> (R)	Guangdong, Shenzhen (China)	3/61 (5%)	(D. Chen et al. 2011)
<i>Rattus rattus</i> (R)	Rarotonga (Cook Islands); Guadalcanal, Honiara (Solomon Islands); Bangkok- Thonburi, (Thailand); (Jamaica); La Lisa Municipality (Cuba)	1022/9307 (11%) [42/3110 (1%) – 34/57 (60%)]	(J. Alicata et Mccarthy 1964; Companiononi et al. 2019; Crook, Fulton, et Supanwong 1968; Lindo et al. 2002; Rowe 1967). (*)
<i>Rattus rattus diardii</i> (R)	Central Malaya Sarawak, Kuching (Malaysia); North Sumatra, Medan City (Indonesia)	112/1047 (11%) [6/75 (8%) – 10/80 (13%)]	(Kwo et Kwo 1968; B. Lim 1967; B. Lim et Heyneman 1965)
<i>Rattus rattus mindannensis</i> (R)	Leyte Palo (Philippines)	33/62 (53%)	(Fedorko 1999)
<i>Rattus sladeni</i> (R)	Guangdong, Guangzhou (China)	4/108 (4%) [0/4 (0%) – 4/104 (4%)]	(D. Chen et al. 2011; Yang et al. 2012)
<i>Rattus tanezumi</i> (R)	Nueva Ecija and (Philippines); Philippine Mount Makiling Forest Reserve, Luzon Island, MMFR, (Philippines)	370/542 (68%) [17/57 (30%) – 300/300 (100%)]	(Castillo et Paller 2018; Estano, Bordado, et Paller 2021; Tujan, Fontanilla, et Paller 2016)
<i>Rattus tiomanicus</i> <i>jalorensis</i> (R)	Central Malaya; Sarawak, Kuching; Pahang Village of Bukkit Tinggi (Malaysia) North Sumatra, Medan City (Indonesia)	218/666 (33%) [4/31(13%) – 25/43 (58%)]	(Kwo et Kwo 1968; B. L. Lim et Omar-Ahmad 1969; B. Lim 1967; B. Lim et Heyneman 1965)
<i>Sigmodon hispidus</i> (R)	Wildlife Management Area, Oklahoma; and (New Orleans (USA)	5/49 (10%) [1/30 (3%) – 4/19 (21%)]	(Rael et al. 2018; York et al. 2015)
<i>Suncus murinus</i> (S)	Central Malaya (Malaysia); Chanthaburi Province (Thailand), Taichung City (Taiwan)	4/632 (1%) [1/90 (1%) – 1/8 (13%)]	(Chenchittikul et al. 1983; B. Lim et Heyneman 1965; Tung et al. 2013; 2009)

Table 2. Geographical distribution of the intermediate hosts of *A. cantonensis*.

The names of the species are those that we had found in the original article. In bold are those currently in use (see molluscabase.org). NA = found to be infected but no numbers available. The table lists only the species found to be positive. In order to lighten the table all the references are not added (see Suppl. File 2 for more). A bibliography of species found negative and positive is in Suppl. File 4. (*): means see Suppl. File 2 for other studies in which this species was found positive or negative. The number examined (No. examined) encompasses all studies in general including those that found negative specimens.

Host species (LDS= Land Snails; FWS=Freshwater snails; SI= slugs, Sml= semislugs)	Distribution of host records	No.infected/No.examined Prev. (%) [prev min-max]	Reference s
<i>Achatina (Lissachatina) fulica (LDS)</i>	Central Malaya (Malaysia); São Gonçalo (Brazil); Yorond Island (Japan); Tahiti (French Polynesia), Guadeloupe (French Caribbean Islands); many provinces of Ecuador, <i>e.g.</i> Guayas, Santa Elena, Esmeraldas, El Oro, Los Ríos (Ecuador)	3487/30223 (11.54%) [12/860 (1%) – 121/153 (79%)]	(Dard et al. 2017; Fontanilla et Wade 2012; B. Lim et Heyneman 1965; Noda et al. 1987; Oliveira et al. 2015; Solorzano-Alava, Sanchez-Amador, et Valverde 2019). (*)
<i>Alcudia striata (LDS)</i>	Southern Florida (USA)	1/19 (5%)	(Stockdale-Walden et al. 2015)
<i>Bellamya aeruginosa (FWS)</i>	Fujian, Province (China); Guangdong and Guangxi provinces (China),	5/211 (2%)	(D. Chen et al. 2011; Lv et al. 2009) (Ref. (Lv et al. 2009): positives but no details on the number)
<i>Bellamya ingallsiana (FWS)</i>	Central Malaya (Malaysia)	76/500 (15%)	(B. Lim et Heyneman 1965)
<i>Bellamya lithophaga (FWS)</i>	Fujian Province (China)	42/292 (14%)	(Cheng et al. 2011)
<i>Belocaulus willibaldoi (SI)</i>	Parque Fernanda neighborhood, Sao Paulo (Brazil)	NA/24	(Goncalves da Mota et al. 2020) (positives but no details on

			the number)
<i>Biomphalaria alexandrina</i> (FWS)	Al-Abtal village, north Sinai (Egypt)	3/294 (1%)	(Ibrahim 2007)
<i>Bithynia siamensis goniophalos</i> (FWS)	Northeast Thailand (Thailand)	1/1061 (1%)	(Tesana et al. 2009). (*)
<i>Bradybaena circulus</i> (LDS)	Yorond Island (Japan)	1/133	(Noda et al. 1987). (*)
<i>Bradybaena similaris</i> (LDS)	Honolulu, Oahu Island (Hawaii, USA); Espirito Santo and municipalities of Ilhéus, Navegantes and Santos (Brazil); Alachua, Hillsborough, Florida, (USA)	62/3531 (2%) [22/939 (2%) – 23/23 (100%)]	(Caldeira et al. 2007; Carvalho et al. 2012; Higa, Brock, et Palumbo 1986; Walden et al. 2017) . (*)
<i>Bulimulus tenuissimus</i> (LDS)	Barra dos Coqueiros and (Sergipe State, Brazil); Municipality of Salvador-Bahia (Northeastern Brazil)	1/41 (2%) [1/23 (2%) – 15/130 (11%)]	(Ramos-de-Souza et al. 2018; Souza et al. 2021). (*)
<i>Cipangopaludina chinensis</i> (FWS)	Guangdong and Guangxi provinces (China)	NA	(Lv et al. 2009) (positives but no details on the number)
<i>Clea (Anentome) helena</i> (FWS)	Northeast Thailand	1/205 (not significant)	(Tesana et al. 2009)
<i>Cleopatra bulimoides</i> (FWS)	Al-Salam irrigation Canal and Al-Abtal village, north Sinai, (Egypt)	41/3688 (1%) [41/3588 (1%)]	(Ibrahim 2007). (*)
<i>Cleopatra cyclostomoides</i> (FWS)	Al-Salam and Al-Abtal, north Sinai (Egypt) Al-Salam irrigation Canal and Al-Abtal village, north Sinai, (Egypt)	45/3401 (1%)	(Ibrahim 2007)
<i>Cornu aspersum</i> (LDS)	La Laguna and La Orotava, Tenerife, Canary Island (Spain)	10/115 (9%) [1/63 (2%) – 9/27 (33%)]	(Martin-Alonso et al. 2015; Segeritz et al. 2021) (*)
<i>Cryptozonia siamensis</i> (LDS)	Kamphaeng Phet Province (Thailand)	45/425 (11%)	(A. Vitta et al. 2016)
<i>Cyclodontina fasciata</i> (LDS)	Region of Aracaju, (Sergipe State (Brazil)	2/155 (1%)	(Ramos-de-Souza et al. 2018)
<i>Cyclotropis</i> sp. (LDS)	Hawaii (USA)	1/13 (8%)	(Kim et al. 2019)
<i>Deroceras laeve</i> (SI)	Rarotonga (Cook Islands)	25/108 (23%) [25/25(100%)]	(J. Alicata et

			Mccarthy 1964) (*)
<i>Deroceras reticulatum</i> (SI)	Hawaii (USA)	2/61 (3%)	(Kim et al. 2019)
<i>Discotectonica acutissima</i> (Marine snail)	Guangzhou, Guangdong province (China)	8/59 (13%)	(Yang et al. 2012)
<i>Euglandina rosea</i> (LDS)	Hawaii (USA); Island of Oahu, Hawaii (USA)	40/158 (25%) [9/55 (16%) – 23/59 (38%)]	(Higa, Brock, et Palumbo 1986; Kim et al. 2019; Rollins et al. 2021) (*)
<i>Filopaludina martensi martensi</i> (FWS)	Northeast Thailand	1/243 (not significant)	(Tesana et al. 2009)
<i>Filopaludina sumartrensis polygramma</i> (FWS)	Northeast Thailand (Thailand)	1/345 (not significant) [1/112(1%)]	(Tesana et al. 2009) (*)
<i>Girasia peguensis</i> (LDS)	Central Malaya (Malaysia)	33/150 (22%)	(B. Lim et Heyneman 1965)
<i>Gonaxis kibweziensis</i> (LDS)	Island of Oahu, Hawaii (USA)	5/43 (12%) [5/32 (16%)]	(Rollins et al. 2021) (*)
Helicarionidae (SI)	Booderee National Park, Jervis Bay Territory (Australia)	NA /2	(Stokes et al. 2007)
<i>Hemicycla bidentalis</i> (LDS)	Tenerife, Canary Islands (Spain)	34 (4) (11.8%)	
<i>Hemiplecta (Koratia) distincta</i> (LDS)	Cambodia; Bangkok-Thonburi South-east, Northeast and Centralarea (Thailand)	217/1455 (15%) [10/978 (1%) – 205/467 (44%)]	(Brumpt et al. 1968; Crook, Fulton, et Supanwong 1968; Panha 1988; Tesana et al. 2009) (*)
<i>Hemiplecta siamensis</i> (LDS)	North, West and south-east areas (Thailand)	19/2552 (not significant)	(Crook, Fulton, et Supanwong 1968)
<i>Indoplanorbis exustus</i> (FWS)	Central Malaya (Malaysia)	94/928 (10%) 94/500 (19%)	(B. Lim et Heyneman 1965) (*)
<i>Laevicaulis alte</i> (SI)	Central Malaya (Malaysia); Pahang Village of Bukkit Tinggi (Malaysia); Municipal Corporation of Greater Bombay, Ward A area (India); Viti Levu (Fiji)	879/8000 (11%) [2/51 (4%) – 4/4 (100%)]	(B. L. Lim et Omar-Ahmad 1969; B. Lim et Heyneman 1965; Renapurkar et al. 1982; Uchikawa et al. 1984). (*)
<i>Lanistes carinatus</i> (FWS)	Giza, Qalyoubia and Menoufia Governorates (Egypt)	56/2590 (2%)	(Ibrahim 2007;

	Al-Salam and Al-Abtal, north Sinai (Egypt)Al-Salam irrigation Canal and Al-Abtal village, north Sinai (Egypt)		Yousif et Ibrahim 1978) (Ref. : (Yousif et Ibrahim 1978) positives but no details on the number)
<i>Lehmannia valentiana</i> (SI)	Hawaii (USA)	1/11 (9%)	(Kim et al. 2019)
<i>Liardetia doliolum</i> (LDS)	Island of Oahu, Hawaii (USA)	2/53 (4%) 2/45 (4%)	(Rollins et al. 2021) (*)
<i>Limax maximus</i> (SI)	Guangzhou, and Guangdong provinces (China); Hawaii (USA)	6/53 (11%) [3/42 (7%) – 3/11 (27%)]	(Kim et al. 2019; Yang et al. 2012)
<i>Limax valentianus</i> (SI)	Okinawa (Japan)	3/78 (4%)	(Asato et al. 2004)
<i>Melanoides maculata</i> (FWS)	Muñoz, Nueva Ecija, (Philippines)	1/89 (1%)	(Tujan, Fontanilla, et Paller 2016)
<i>Melanoides tuberculata</i> (FWS)	Bangkok-Thonburi (Thailand); Al-Salam and Al-Abtal, north Sinai (Egypt)Al-Salam irrigation Canal and Al-Abtal village, north Sinai, (Egypt); Bagong Sikat Muñoz, Nueva Ecija (Philippines)	55/5245 (1%) [1/520 (%) – 28/130 (22%)]	(Cawas et al. 2020; Crook, Fulton, et Supanwong 1968; Ibrahim 2007) (*)
<i>Meridolum jervisense</i> (LDS)	Booderee National Park, Jervis Bay Territory (Australia)	NA/3	(Stokes et al. 2007)
<i>Microparmarion malayanus</i> (Sml)	Central Malaya (Malaysia); and Pahang Village of Bukkit Tinggi, Pahang (Malaysia)	689/1664 (41%) [7/56 (%) – 633/1608 (39%)]	(B. L. Lim et Omar-Ahmad 1969; B. Lim et Heyneman 1965)
<i>Ovachlamys fulgens</i> (LDS)	Hawaii (USA); Island of Oahu, Hawaii (USA)	2/34 (6%) [1/20 (5%) – 1/10 (10%)]	(Kim et al. 2019; Rollins et al. 2021) (*)
<i>Oxychilus alliarius</i> (LDS)	Hawaii (USA)	10/69 (14%)	(Kim et al. 2019)
<i>Pallifera</i> sp. (SI)	Island of Oahu, Hawaii (USA)	1/17 (6%)	(Rollins et al. 2021)
<i>Parmarion cf. martensi</i> (Sml)	Okinawa (Japan); Hawaii (USA); Eastern side of Hawaii Island (USA)	334/1013 (33%) [153/753 (20%) – 137/159 (86%)]	(Asato et al. 2004; Hollingsworth et al. 2007; Niebuhr et

			al. 2021) (*)
<i>Paropeas achatinaceum</i> (LDS)	Florida (USA); Hawaii (USA); Island of Oahu, Hawaii (USA)	9/195 (5%) [5/120 (4%) – 1/2 (50%)]	(Kim et al. 2019; Rollins et al. 2021; Walden et al. 2017) (*)
<i>Philonesia</i> sp. (LDS)	Hawaii (USA)	1/31 (3%)	(Kim et al. 2019)
<i>Pila begini</i> = <i>Pila pesmei</i> (FWS)	Northeast Thailand	11/454 (2%)	(Tesana et al. 2009)
<i>Pila scutata</i> (FWS)	Central Malaya (Malaysia)	64/824 (8%) [64/500 (13%)	(B. Lim et Heyneman 1965) (*)
<i>Pila turbinis</i> (FWS)	Bangkok-Thonburi (Thailand)	1/973 (insignificant)	(Crook, Fulton, et Supanwon g 1968)
<i>Pila polita</i> = <i>Pila virescens</i> (FWS)	Ubon Ratchathani, Kalasin Province (Thailand); Fujian Province (China)	115/1907 (6%) [4/423 (1%) – 18/48 (38%)]	(Cheng et al. 2011; Pipitgool et al. 1997; Watthanak ulpanich et al. 2021) (*)
<i>Pleurodonte</i> spp. (LDS)	North and southeastern Regional Health Authorities (Jamaica)	25/89 (28%)	(Waugh et al. 2016)
<i>Plutonia lamarckii</i> (LDS)	Pico del Inglés, La Esperanza, Pedro Álvarez, Tenerife, Canary Island (Spain)	45/137 (33%) [45/117 (38%)	(Martin- Alonso et al. 2015) (*)
<i>Pomacea canaliculata</i> = <i>Ampullarium canaliculatus</i> (FWS)	Shenzhen, Guangzhou, Guangdong (China); Barangay Bagong Sikat, Muñoz, Nueva Ecija (Philippines)	1380/21076 (7%) [11/734 (1%) – 65/314 (21%)]	(Cawas et al. 2020; Yang et al. 2012; R.- L. Zhang et al. 2008). (*)
<i>Pomacea lineata</i> (FWS)	Municipality of Escada (Brazil)	5/95 (5%)	(Thiengo et al. 2010)
<i>Pomacea maculata</i> (FWS)	Gretna and Mandeville, Louisiana (USA)	9/536 (2%)	(Teem et al. 2013)
<i>Pomacea paludosa</i> (FWS)	El municipio Camagüey (Cuba)	55/83 (66%)	(del Risco Barrios et Diéguez Fernández 2004)
<i>Poteria</i> spp. (LDS)	North and southeastern Regional Health Authorities (Jamaica)	1/5 (20%)	(Waugh et al. 2016)
<i>Quantula striata</i> (LDS)	Central Malaya (Malaysia); (Cambodia)	14/506 (3%)	(Brumpton et al. 1968; B. Lim et Heyneman 1965) (Ref. :

			(Brumpton et al. 1968) positives but no details on the number)
<i>Radix natalensis</i> = <i>Lymnaea caillaudi</i> = <i>Lymnaea natalensis</i> (FWS)	Al-Abtal village, north Sinai (Egypt)	2/318 (1%) [2/218 (1%)]	(Ibrahim 2007) (*)
<i>Sagda</i> spp. (LDS)	North and southeastern Regional Health Authorities (Jamaica)	2/18 (11%)	(Waugh et al. 2016)
<i>Sarasinula marginata</i> (SI)	Espirito Santo (Brazil)	27/284 (10%) 27/45 (60%)	(Caldeira et al. 2007) (*)
<i>Sarika resplendens</i> = <i>Macrochlamys resplendens</i>	Central Malaya and Bukkit Tinggi, Pahang Pahang Village of Bukkit Tinggi (Malaysia); North-east area (Thailand);	1540/5793 (27%) [22/1610 (1%) – 461/640 (72%)]	(Crook, Fulton, et Supanwong 1968; B. L. Lim et Omar-Ahmad 1969; B. Lim et Heyneman 1965) (*)
<i>Subulina octona</i> (LDS)	Kalihi, Honolulu, Oahu, Hawaii (USA); El municipio Camagüey (Cuba)	200/4339 (5%) [1/70 (1%) – 58/71 (82%)]	(Higa, Brock, et Palumbo 1986; del Risco Barrios et Diéguez Fernández 2004). (*)
<i>Succinea floridana</i> (LDS)	Hillsborough County, Florida (USA)	1/48 (2%)	(Walden et al. 2017)
<i>Succinea</i> sp. (LDS)	El municipio Camagüey (Cuba)	9/271(3%) [9/53(17%)]	(del Risco Barrios et Diéguez Fernández 2004) (*)
<i>Tauphaedusa tau</i> (LDS)	Oahu island, Hawaii (USA)	1/6(16%)	(Medeiros et al. 2020)
<i>Theba pisana</i> (LDS)	Canary Islands (Spain)	187 (50) (26.7%)	(Martin-Alonso et al. 2015)
<i>Thelidomus asper</i> (LDS)	Mandeville (Jamaica)	4/10 (40%)	(Lindo et al. 2002)
<i>Tornatellides</i> spp. (LDS)	Hawaiian Islands (USA)	1/90 (1%)	(Kim et al. 2014)
<i>Vaginulus plebeius</i> (SI)	Noumea (New Caledonia); Papeete, Tahiti (French Polynesia); Rarotonga (Cook Islands)	25/33 (75%) [25/25 (100%)]	(J. Alicata 1962b; J. Alicata et Brown 1962; J. Alicata et Mccarthy 1964) (*)

<i>Ventridens demissus</i> (LDS)	Leon county, Florida (USA)	1/23 (4%)	(Walden et al. 2017)
<i>Veronicella cubensis</i> (SI)	Hawaiian Islands (USA)	17/340 (5%) [4/159 (3%) – 9/37 (24%)]	(Hollingsworth et al. 2007; Kim et al. 2014; Medeiros et al. 2020) (*)
<i>Veronicella alte</i> (SI)	Okinawa (Japan)	108/783 (14%)	(Asato et al. 2004)
<i>Veronicella siamensis</i> (SI)	Bangkok-Thonburi area, West area, North area lowlands (Thailand)	82/2167 (4%)	(Crook, Fulton, et Supanwong 1968)
<i>Vivipara angularis</i> (FWS)	Village Bagong Sikat, at the rice granary; Science City of Muñoz, Nueva Ecija (Philippines)	417 (74) (18%)	(Cawas et al. 2020)
<i>Zachrysia auricoma</i> (LDS)	El municipio Camagüey (Cuba)	3/11 (27%)	(del Risco Barrios et Diéguez Fernández 2004)
<i>Zachrysia provisorio</i> (LDS)	Orange County, Florida (USA)	8/117 (7%) [1/83 (1%) – 7/34 (21%)]	(Emerson et al. 2013; Stockdale-Walden et al. 2015; Walden et al. 2017)
<i>Zonitoides arboreus</i> (LDS)	Hillsborough County, Florida (USA)	1/19 (5%) [1/1 (100%)]	(Walden et al. 2017) (*)

Table 3. Geographical distribution of the paratenic/accidental hosts of *A. cantonensis*.
The names of the species or common name are those that we had found in the original article.
PH= paratenic host; **AH**= accidental host This table lists only the species found to be positive.
A complete bibliography of species found negative is given in Suppl. File 4.

Species name or Common name (Order or Class)	Distribution of host records	No.infected/No.examined (%)	References
<i>Aepyprymnus rufescens</i> , AH rufous rat-kangaroo, Order: Diprotodontia	East Queensland, (Australia)	3/3 (100%)	(Higgins, CarlisleNowak, et Mackie 1997)
<i>Atelerix algirus</i> , AH , North African hedgehog Order: Eulipotyphla	Majorca, Balearic Islands, (Spain)	2/2 (100%)	(Paredes-Esquivel et al. 2019)
<i>Ateles geoffroyi</i> , AH Geoffroy's spider monkey, Order: Primates	Zoological Garden, Hong Kong (China)	1/1 (100%)	(Ko 1978)
<i>Bufo asiaticus</i> PH Order: Anura	Okinawa (Japan)	1/18 (6%)	(Asato et al. 2004)
<i>Callimico goeldii</i> AH , Goeldi's monkey Order: Primates	Houston, Texas (USA)	1/1 (100%)	(Edwards et al. 2020)
<i>Callocephalon fimbriatum</i> AH , or gang-gang cockatoo Order: Psittaciformes	Sydney Port Hacking waterfront (Australia)	3/4 (100%)	(Reece, Perry, et Spratt 2013)
<i>Calyptorhynchus funereus</i> but current scientific name is <i>Zanda funerea</i> AH , Yellow-tailed black cockatoo, Order: Psittaciformes	Brisbane, Queensland (Australia)	1/1(100%)	(Monks et al. 2005)
Centipedes, PH (Class Chilopoda),	Guangxi Province (China)	7/20 (35%)	(H. Wang et al. 2018)
<i>Dasyopus novemcinctus</i> AH , nine- banded armadillo. Order: Cingulata	Livingston Parish, Louisiana and Tampa, Florida (USA)	2/2 (100%)	(Dalton et al. 2017)
<i>Didelphis virginiana</i> AH , or North American opossum. Order: Didelphimorphia	Ascension Parish, Louisiana (USA)	1/1 (100%)	(Dalton et al. 2017)
Dogs AH (corgies, cocker spaniel pup, Kelpie)	Brisbane (Australia); Honolulu, Hawaii (USA)	15/16 (94%)	(Lunn et al. 2003; Mason et al. 1976; Odani et al. 2021)
<i>Eleutherodactylus coqui</i> PH . Order: Anura	Hilo, Hawaii (USA)	21/24 (88%)	(Niebuhr et al. 2020)
<i>Eleutherodactylus planirostris</i> PH , Greenhouse frog. Order: Anura	Hilo, Hawaii (USA)	4/4 (100%)	(Niebuhr et al. 2020)
Horses, AH : Foals (Thoroughbred colt and Appaloosa gelding), filly	Southeastern Queensland (Australia) Picayune, Mississippi, and Franklinton, Louisiana (USA)	3/3(100%)	(Costa et al. 2000; Wright et al. 1991)
<i>Hyla aurea</i> PH . Order: Anura	Noumea (New Caledonia)	23/43 (53%)	(Ash 1968)
<i>Hylobates lar</i> AH or white- handed gibbon. Order: Primates	Miami Metrozoo, Florida (USA)	1/1(100%)	(Duffy et al. 2004)
Land planarians	Rarotonga (Cook Islands)	3/25 (12%)	(J. Alicata et Mccarthy 1964)

<i>Macrobrachium</i> sp. PH , freshwater prawns. Order: Decapoda	Rarotonga (Cook Islands)	2/60 (3%)	(J. Alicata et Mccarthy 1964)
<i>Macropus rufogriseus</i> AH or red-necked wallaby. Order: Diprotodontia	Brisbane (Australia)	1/1 (100%)	(Mckenzie, Green, et Wood 1978)
<i>Macropus rufus</i> AH or red kangaroo. Order: Diprotodontia	Mississippi or Texas (USA)	1/1 (100%)	(Patial et al. 2022)
<i>Ocypode</i> sp. PH or Burrowing crabs. Order: Decapoda	Saipan, Mariana Islands (USA)	2/40 (5%)	(J. Alicata 1964)
<i>Oryx dammah</i> or scimitar-horned oryx AH . Order: Artiodactyla	Fossil Rim Wildlife Center, Texas (USA)	No numbers but there are infected individuals	(Pauling, Oller, et Jackson 2016)
<i>Osteopilus septentrionalis</i> PH , or Cuban tree frog. Order: Anura	Volusia County, Florida (USA)	1/16 (6%)	(Chase et al. 2022)
<i>Platydemus manokwari</i> PH , or New Guinea flatworm. Order: Tricladida	Okinawa (Japan)	227/1613 (14%)	(Asato et al. 2004)
<i>Podargus strigoides</i> AH , or tawny frogmouth. Order: Podargiformes	Brisbane, Queensland, and Sydney (Australia)	21/112 (19%)	(Gelis, Spratt, et Raidal 2011; Ma et al. 2013; Monks et al. 2005)
<i>Polihierax semitorquatus</i> AH , or African pygmy falcon. Order: Falconiformes	San Diego Zoo California (USA)	1/1 (100%)	(Burns et al. 2014)
<i>Pongo pygmaeus</i> AH , or Bornean orangutan. Order: Primates	Southern Florida and South Carolina (USA)	1/1 (100%)	(Emerson et al. 2013)
<i>Pteropus alecto</i> AH , or black fruit bat. Order: Chiroptera	Queensland (Australia)	7/51 (14%)	(Barrett, Carlisle, et Prociv 2002)
<i>Pteropus poliocephalus</i> AH , or grey-headed flying fox. Order: Chiroptera	Sydney and Queensland (Australia)	7/29(24%)	(Barrett, Carlisle, et Prociv 2002; Reddacliff, Bellamy, et Hartley 1999)
<i>Rhinella marina</i> PH , or giant neotropical toad. Order: Anura	Hilo, Hawaii (USA)	2/2(100%)	(Niebuhr et al. 2020)
<i>Saguinus bicolor</i> AH , or Brazilian bare-faced tamarin. Order: Primates	Houston, Texas,	1/1(100%)	(Edwards et al. 2020)
<i>Saguinus geoffroyi</i> AH , or rufous-naped tamarin. Order: Primates	East central Alabama (USA)	3/3(100%)	(Kottwitz et al. 2014)
<i>Saguinus oedipus</i> AH , or cotton-top tamarin. Order: Primates	Northern outskirts of Brisbane (Australia) Houston, Texas (USA)	5/5(100%)	(Carlisle et al. 1998; Edwards et al. 2020)
<i>Sanguinus imperator subgriscens</i> AH , or bearded emperor tamarin. Order: Primates	Northern outskirts of Brisbane (Australia)	1/1(100%)	(Carlisle et al. 1998)
<i>Scolopendra subspinipes</i> PH , large centipede. Order: Scolopendromorpha	Hilo, Hawaii (USA)	3/3(100%)	(Niebuhr et al. 2020)
<i>Trichosurus vulpecula</i> AH , common brushtail possum. Order: Diprotodontia	Sydney (Australia)	4/31(13%)	(Ma et al. 2013)
<i>Varanus bengalensis</i> PH , or common Indian monitor. Order: Squamata	Lampang, Phitsanulok, Kamphaeng Phet,	21/22(95%)	(Radomyos et al. 1994)

Tak, Prachin Burl
(Thailand)

C.2 J. Fedna, R. Borne, D. Rieffel, G. Bornette, J.H. Henrys, F. Grenouillet, F. Raoul. 2024. **Molecular study of the endemic status of *Angiostrongylus cantonensis* in rats in Haiti.** Parasite (Bientôt soumis).

Au total, 70 rats ont été capturés sur 7 sites parmi les 8 échantillonnés dans le département de l'Artibonite et à Port-au-Prince, puis disséqués et diagnostiqués par biologie moléculaire afin de déterminer la prévalence et la distribution de l'*A. cantonensis* en Haïti. Vingt-deux rats sur 70 étaient infectés sur 4 sites, dont 3 dans l'Artibonite (rural) et 1 à Damien (urbain) (Tableau 3). Le succès des captures variait considérablement selon les sites. Le site de Timonette (Artibonite) présente le plus grand nombre de rats capturés (n=43), dont 16 infectés. Douze rats ont été capturés à Damien, dont 4 rats infectés. Moins de 5 rats ont été capturés dans chacun des autres sites, avec des preuves d'*A. cantonensis* dans deux autres sites de l'Artibonite (Village Noé, Chatelain).

L'approche moléculaire dans la détection du parasite a donné une prévalence quatre fois plus élevée que la seule identification des vers adultes. La similarité génétique entre les souches haïtiennes d'*A. cantonensis* et celles du Japon, de la Guadeloupe, de la Martinique et de la Polynésie française a été établie grâce à une analyse phylogénétique. Notre étude souligne l'endémicité d'*A. cantonensis* en Haïti, dans deux régions du pays, et la nécessité de recherches plus approfondies sur l'impact de ce parasite sur les populations humaines et sur l'identification d'hôtes intermédiaires. Les résultats et la discussion de cette étude sont détaillés dans l'article ci-dessous.

Tableau 3. Nombre de rats capturés/ infectés par site et par espèces de rat. Trois sites sont situés dans l'Artibonite (Chatelain, Timonette et Village Noé) et un site dans le département de l'Ouest à Port-au-Prince (Damien). Aucun rat n'a été capturé sur le site de Pothenot.

Sites (Nombre de rats capturés)	<i>R. norvegicus</i> No. infectés/No. capturés	<i>R. rattus</i> No. infectés/No. capturés
Belanger (5)	0/3	0/2
Chatelain (3)	0/0	1/3
Colminy (1)	0/1	0/0
Damien (12)	4/12	0/0
Pothenot (0)	-	-
Poirier (4)	0/4	0/0
Timonette (43)	1/3	16/40
Village Noé	0/0	1/2

Nous avons exploité le matériel rat à notre disposition pour récupérer d'autres parasites lors de cette étude. Les résultats sont consignés dans le tableau 4 ci-dessous. Au total, vingt-neuf vers ont été récupérés dans les cœurs, les poumons et les estomacs des rats disséqués, et les analyses moléculaires ont donné les résultats suivants : quatre vers ne présentaient aucun signal, cinq avaient des pics superposés suggérant la possible présence de plusieurs parasites simultanément, 2 correspondaient à *Gongylonema neoplasticum* (nématode), 1 correspondait à *Mastophorus muris* (nématode), 8 correspondaient à *Nippostrongylus brasiliensis* (nématode), 1 à *Strongyloides venezuelensis* (nématode) et neuf confirmaient *A. cantonensis* en utilisant l'outil nBLAST (/NCBI). Cinq rats étaient co-infectés par *A. cantonensis*/*N. brasiliensis* et *A. cantonensis*/*G. néoplasticum*. Un spécimen de rat présentait une triple infection : *A. cantonensis*/*N. brasiliensis*/*M. muris*.

Tableau 4 Les différents vers soient détectés par PCR (D) ou récupérés dans les organes comme cœur (C), poumons (P), estomac (E). Tous les vers récupérés dans les organes ont été identifiés par PCR.

Species rat_id	<i>A. cantonensis</i>	<i>G. neoplasticum</i>	<i>M. muris</i>	<i>N. brasiliensis</i>	<i>S. venezuelensis</i>
<i>R.rattus_01</i>	+(C)				
<i>R.rattus_02</i>	+(D)				
<i>R.rattus_03</i>	+(P)				
<i>R.rattus_04</i>				+(D)	
<i>R.rattus_06</i>	+(D)		+(D)		
<i>R.rattus_08</i>	+(D)				
<i>R.rattus_09</i>	+(D)				
<i>R.rattus_12</i>					+(P)
<i>R.rattus_13</i>	+(P)	+(P)			
<i>R.rattus_14</i>	+(D)				
<i>R.rattus_15</i>	+(D)				
<i>R.rattus_18</i>	+(D)				
<i>R.rattus_20</i>	+(D)				
<i>R.rattus_29</i>	+(D)				
<i>R.rattus_30</i>	+(D)				
<i>R.rattus_35</i>				+(D)	
<i>R.rattus_40</i>	+(D)				
<i>R.rattus_60</i>				+(D)	
<i>R.rattus_63</i>				+(D)	
<i>R.rattus_64</i>				+(D)	
<i>R.rattus_65</i>	+(D)		+(D)		
<i>R.rattus_66</i>	+(D)	+(E)			
<i>R.rattus_67</i>	+(D)	+(E)	+(E)		
<i>R.rattus_68</i>	+(P)				
<i>R.norvegicus_7</i>	+(D)				
<i>R.norvegicus_48</i>	+(D)				
<i>R.norvegicus_54</i>	+(D)				
<i>R.norvegicus_57</i>	+(P)				
<i>R.norvegicus_58</i>	+(D)				

Analyses complémentaires par qPCR AcanR3990 sur des échantillons de rats positifs et négatifs.

Une technique plus sensible de détection d'*A. cantonensis* par qPCR AcanR3990 a été utilisée pour l'investigation des mollusques (technique détaillée dans le paragraphe suivant C.3.). La technique a été testée sur des échantillons rats positifs : id_02, id_13, id_14, id_15 et négatifs : id_17 de Timonette obtenus précédemment. Ils se sont révélés tous positifs avec des Ct de 4, 22, 26, 27, 29 respectivement (figure 6).

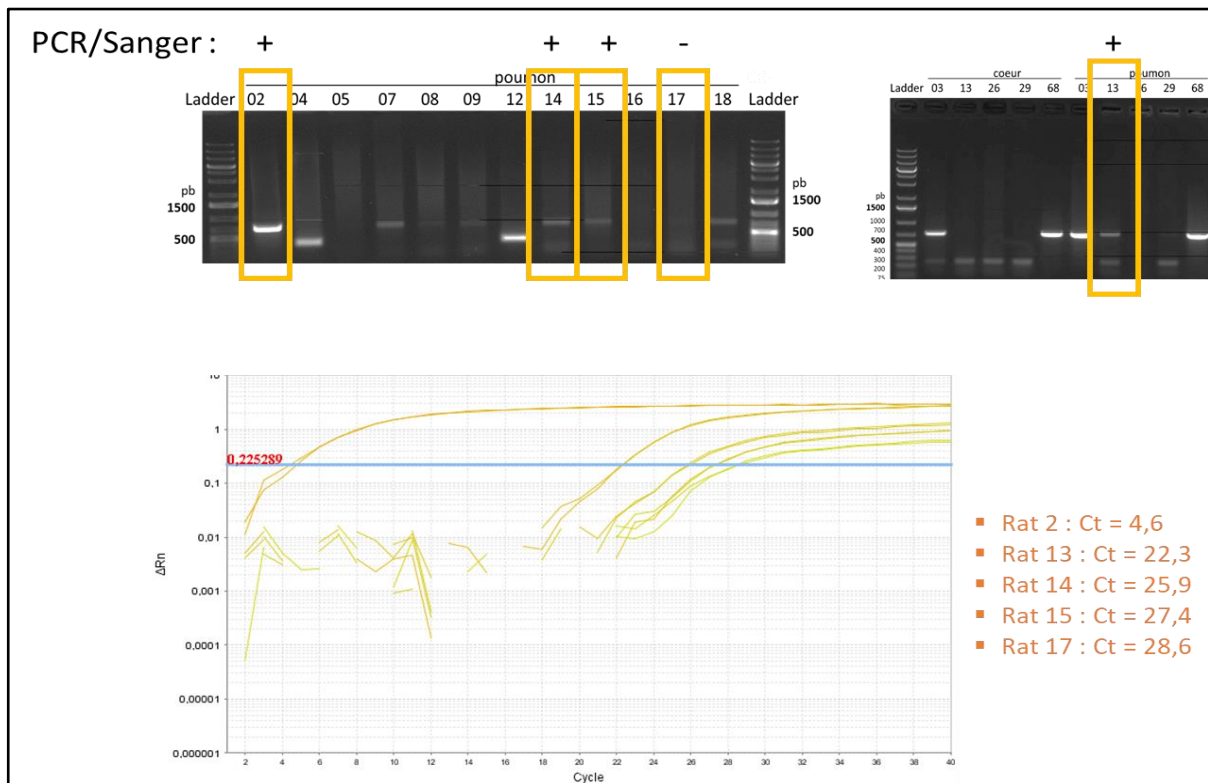


Fig.6 Analyses complémentaires par qPCR AcanR3990 sur des échantillons rats positifs et négatifs (id_02, id_13, id_14, id_15 et id_17). En haut révélation sur gel et en bas courbes qPCR.

Aussi, dix autres échantillons de poumon des rats provenant des sites de Colminy, Poirier et Belanger négatifs pour la PCR conventionnelle ont été analysés par cette méthode. Seul celui de Colminy (id_70) s'est révélé positif avec un Ct de 27, confirmant la présence du parasite sur ce site.

Les échantillons #17 et #70 ont été considérés comme négatifs par la méthode utilisée pour l'analyse systématique, à savoir PCR NC puis séquençage des échantillons présentant une bande visible sur gel d'électrophorèse par la méthode de Sanger. Pour ces 2 échantillons, une très légère bande était devinable sur gel, mais le séquençage a échoué, aussi nous les avons considérés alors comme négatifs.

MOLECULAR STUDY OF THE ENDEMIC STATUS OF *ANGIOSTRONGYLUS CANTONENSIS* IN RATS IN HAITI.

J. Fedna^{1,3*}, R. Borne¹, D. Rieffel¹, G. Bornette¹, J.H. Henrys³, F. Grenouillet², F. Raoul^{1*}

1 : Université de Franche-Comté, CNRS, Chrono-environnement, F-25000 Besançon, France
2 : Université de Franche-Comté, CHU Besançon, CNRS, Chrono-environnement, F-25000 Besançon, France

3 : Equipe de Recherche sur l'Ecologie des Maladies Infectieuses et Tropicales (EREMIT), Port-au-Prince Haïti.

Abstract

Angiostrongylus cantonensis, commonly known as rat lungworm, causes eosinophilic meningitis in humans. Our study aimed to investigate the prevalence and distribution of this parasite in rats in Haiti.

Rats were trapped on eight different sites, seven in Artibonite (rural region) and one in urban area of Port-au-Prince. After euthanasia, hearts and lungs were sampled and preserved in 70% ethanol. Subsequently, the organs were dissected to detect adult worms. After extraction, parasite DNA was amplified using PCR targeting the nuclear ITS2 gene for rodent lung tissue or COX1 for isolated worms. Further sequencing allowed parasite identification.

Seventy rats were captured, *i.e.* 23 *Rattus norvegicus* and 47 *Rattus rattus*. Adult nematodes morphologically compatible with *A. cantonensis* were isolated from 5/70 rats (7%) and identification was confirmed by PCR-sequencing. One worm was recovered from the heart of a rat for which PCR on lung was notably negative. Molecular analysis of lung tissue revealed a parasite prevalence of 31.4% (22/70), and its presence at 4 of the 8 sites investigated, including Port au Prince. The sole molecular approach on lungs enabled us to measure a prevalence 4 times higher than the search for adult worms alone. Predictor variables such as age, season, sex, and species of rats did not significantly influence parasite prevalence. Only one COX1 haplotype was identified in Haiti, belonging to genotype II-G, widely distributed in Brazil, French Antilles (Guadeloupe), French Polynesia, Hawaii and Japan.

These results enforce that *A. cantonensis* is an endemic parasite in Haiti beyond Port-au-Prince, outlining the sanitary risk. Direct molecular screening of *Angiostrongylus*

DNA in rat lung showed higher sensitivity and could be useful for further prevalence studies.

Keywords: *Angiostrongylus cantonensis*, eosinophilic meningitis, rats, One Health, Haiti.

*Corresponding authors: jimmy.fedna@univ-fcomte.fr

francis.raoul@univ-fcomte.fr

Rezime (Haitian creole)

Angiostrongylus cantonensis se yon parazit nematòd souvan ke yo konn rele ann anglè « rat lungworm » sa vle di vè ou jwenn nan poumon rat, ka lakòz menenjit eozinofil kay moun. Etid nou an te vize envestige prevalans ak distribisyon parazit sa a nan rat ann Ayiti.

Nou te kenbe rat yo sou 8 sit diferan. Sèt sit nan Latibonit (rejyon rural) ak youn nan zòn iben nan Pòtoprens. Apre nou fin tiye rat yo, nou te pran kè ak poumon yo ke nou te mete nan etanòl 70% pou n konsève yo. Apre sa, ògan yo te diseke pou detekte vè parazit la. Nou te ekstrè ADN parazit la a pati de ti moso poumon rat yo epi nou te anplifye ADN lan gras ak apwòch molekilè PCR kote nou te sible jèn nikleyè ITS2 oswa COX1 pou vè nou te rive retire nan ògan rat yo. Aprè sa, nou te sekans jèn sa yo pou n te ka bon jan idantifye parazit la.

Nou te kenbe total 70 rat, ki gen ladan 23 espès rat *Rattus norvegicus* ak 47 espès rat *Rattus rattus*. Nou te retire vè adilt parazit la lakay 5 rat; 5/70 rat (7%) Fòm vè yo ak anpil lòt karaktè yo te genyen te sanble tèt koupe ak *A. cantonensis*, vè n ap chachè a epi rezilta sekansaj yo te konfime sa. Nan kè yon rat nou te retire yon vè *A. cantonensis* men PCR la pat rive konfime sa. Analiz PCR sou moso poumon yo te revele yon prevalans parazit la; 31,4% (22/70), ak prezans li nan 4 pami 8 sit nou te yo envestige yo, sit Pòtoprens lan ladann tou. Apwòch molekilè sèlman sou poumon yo te pèmèt nou mezire yon prevalans 4 fwa pi wo pase lè n ap chachè vè adilt yo sèlman ak mikwoskòp. Varyab tankou laj, sezon, sèks ak espès rat la pa t rive ka predi enfeksyon kay rat yo, yo pa t gen yon enfluyans siyifikativ sou prevalans parazit la. Nou te idantifye yon sèl aplotip COX1 ann Ayiti, ki fè pati jenotip klad II-G, ki se klad ki

pi distribye sou latè. Yo jwenn li nan peyi Brezil, Gwadeloup, Polinezi franse, Awayi ak Japon.

Rezilta sa yo konfime ke *A. cantonensis* se yon parazit andemik ann Ayiti e li blayi kò li kote ki pi lwen pase Pòtoprens,, sa ki mete aksan sou risk sante pou popilasyon an. Tès molekilè dirèk nan poumon rat te montre pi gwo sansiblite, li ka itilize pou etid prevalans a lavni.

Introduction

Angiostrongylus cantonensis (Chen 1935), called rat lungworm, is a nematode (phylum Nematoda) in the superfamily Metastrongyloidea and family Angiostrongylidae (Anderson 1978; Ubelaker 1986). This parasite is the most common cause of eosinophilic meningitis in humans (Barratt et al. 2016). Its life cycle includes gastropods (snails or slugs) as intermediate host and rats as definitive host. The parasite has a low host specificity: a wide variety of rodents (about 16 species) and gastropods (about 147 species) can be infected, and various species of vertebrates and invertebrates can act as paratenic hosts (Barratt et al. 2016; Kim et al. 2014).

Rodents, mainly of the genus *Rattus*, contract the infection by ingesting hosts containing infectious larvae (L3). These larvae traverse the rat's intestine to reach the small intestine, then penetrate the intestinal walls and enter the bloodstream. Passively moving in the bloodstream, some larvae eventually reach the central nervous system and penetrate the brain. In the brain, the larvae develop into the subadult stage. Once reaching the subadult stage in the brain, the worms leave this organ, enter the venous circulatory system, and head towards the right ventricle of the heart and the pulmonary arteries. In these areas, the worms develop, reach maturity, mate, and females lay eggs. The eggs circulate in the blood to the lungs. In the lungs, the eggs hatch, giving birth to first-stage larvae in the lung tissue. First-stage larvae traverse the walls of bronchioles and alveoli, ascend the trachea in respiratory secretions, and are eventually swallowed to be released in the faeces. The cycle repeats when snails ingest the infected faeces. If the rat consumes the infected snail quickly after the snail larvae reach the third stage, the entire cycle takes about 45 days (Cowie 2013).

Numerous species of prawns, land crabs, planarians, frogs, lizards, crustaceans or fish, may eat the snails and be infected by L3, becoming paratenic hosts (Turck, Fox, et Cowie 2022; Wallace et Rosen 1965). In paratenic hosts, L3 do not develop but will

remain dormant until the paratenic host is eaten by a definitive or accidental host (various primates including humans, birds, hedgehogs, horses, dogs) (Cowie, Malik, et Morgan 2023).

Humans become infected by consuming poorly cooked gastropods or paratenic hosts (crustaceans) containing L3 larvae, or raw vegetables contaminated by slugs, snails or their infected slime. In accidental hosts the larvae develop to a certain stage but do not reproduce. The third-stage larvae migrate to the central nervous system, but are not able to develop into their adult stage, therefore they die in the meninges, causing inflammatory reactions (Ash 1968; Graeff-Teixeira, Aramburu da Silva, et Yoshimura 2009; S. Jarvi et Prociv 2021).

The parasite is endemic in equatorial and tropical climates, where more than 30 countries have reported human cases of angiostrongylosis (Wang et al. 2012). Most cases of *A. cantonensis*-associated eosinophilic meningitis originate from Southeast Asia, including China, and the Pacific Islands, where Hawaii could be considered a hotspot for the disease.

The frequency of reports regarding *A. cantonensis* in various hosts is increasing, particularly in subtropical and even temperate regions, with instances noted in Europe, such as Spain (Galan-Puchades et al. 2022; Paredes-Esquivel et al. 2023). Its range has recently expanded, possibly as a result of global warming, the diversity of its intermediate hosts and the efficient dispersal of infected rats carried by ships (Barratt et al. 2016; Dard et al. 2017; Gamiette et al. 2023).

Among Caribbean islands, the parasite has been reported in rats and/or gastropods in Cuba, Dominican Republic, Grenada, Haiti, Guadeloupe, Puerto Rico and Jamaica (Andersen et al. 1986; Chikweto et al. 2009; Companioni et al. 2019; Gamiette et al. 2023; Raccurt, Blaise, et Durette-Desset 2003; Vargas, Perez, et Malek 1992; Waugh et al. 2016). Raccurt and this team noticed for the first time the presence of *A. cantonensis* in Haiti in 2002. They found the parasite in 30% of the rats captured (n=7 out of 23) in Port-au-Prince at 2 neighbourhoods (Damien and Carrefour) between March and July 2002. At the same period, Haitian health authorities reported that 1.3% of the human deaths recorded in 1999 were due to meningitis of unknown aetiology (Raccurt, Blaise, et Durette-Desset 2003).

Two decades later, a broader assessment of angiostrongyliasis in Haiti was needed. We therefore set up a survey to update the prevalence of *A. cantonensis* in definitive hosts in Haiti. Our investigation focused on the historical site of identification of the

worm, *i.e* Damien in Port-au-Prince area, and included a new area, the Artibonite department. The Artibonite department is a major producer of cereals and foodstuffs on the island, and is characterized by its many rice paddies and wetlands, making it a highly favourable zone for *A. cantonensis* hosts. In the context of the global spread of the worm as a possible result of global change (Cowie, Malik, et Morgan 2023) the present study therefore aimed to update information about the endemicity of *A. cantonensis* in Haiti, and to improve the knowledge of its distribution.

Materials and Methods

Ethics statement

Our samples did not include endangered nor protected species. The protocol was validated by the Ethics Committee of the State University of Haiti, and a professor of veterinary medicine and an anesthesiologist supervised our work in the field. The rodents were not abused and they were manipulated and humanly killed in accordance with European Directive. Protocols were based on guidelines from AVMA (Sikes et al. 2011).

Study area

The Republic of Haiti or Hayti (18° 32' 21" N and 72° 20' 11 W") is a country located in the Caribbean. The country occupies the western part of the island of Hayti (or Hispaniola Island) sharing this territory with the Dominican Republic. The study was conducted in the rural area of Bocozelle, 5th communal section of the commune of Saint-Marc in the department of Artibonite (19° 27' 0" N, 72° 40' 59.88" W) and in the urban area of Port-au-Prince, Damien. The department of Artibonite is the second most populated department of Haiti (estimated population was 1,727,5241 inhabitants, (IHSI 2015), after that of Port-au-Prince (Western department) (Figure 1) and is the breadbasket of the country. There are many agricultural areas with crops of onions, eggplant, sweet cassava, bananas, potatoes, but also wetlands with rice fields and breeding areas with cattle, goats, sheep, pigs, horses.

Seven sites were chosen in Bocozelle (Belanger - Chatelain - Colminy - Pothénot - Poirier - Timonette - Village Noé) taking into consideration the characteristics of the habitat (rice fields, dry crops such as onions), and one site was sampled in Port-au-Prince, Damien, previously sampled by (Raccurt, Blaise, et Durette-Desset 2003). These two departments (Artibonite and West) share the same climate as the rest of the country: tropical with two distinct seasons, a dry season from November to March

and a rainy season from April to October. In the Artibonite department, the average annual temperature is 25.6°C and the average yearly rainfall is 674 mm. January is the driest month, with only 15 mm. September is the rainiest month of the year with an average of 102 mm. In Port-au-Prince, the average annual temperature is 23.2 °C and the average yearly rainfall is 1697 mm. The lowest average rainfall is recorded in January (31 mm), and the highest in may (248 m) (Data from Climate-data.org).

Rodent capture

The entire sampling procedure was carried out following protocols described in “Protocols for field and laboratory rodent studies” (Herbreteau et al. 2011). In November 2020 (end of rainy season) and September 2021 (rainy season), we captured rats using live traps made locally by a resident of Bocozele (36x30x20 cm). These traps were baited with rice, herring, salami and also "Chico", a traditional Haitian cheese puffs snack (known as very attractive food for rats according to the residents). At each site we set up trap lines of 10 to 15 traps, with traps spaced 5 to 10 meters apart. The traps were set at dusk and checked at dawn. Traps containing rats were removed and renewed. The number of traps and the number of days spent at a site varied according to logistical constraints and the country's socio-political unrest. The capture success rate was determined by the following formula: $\text{Number of rats captured on site} / \text{Total number of trapping attempts (i.e. number of trapping days * number of traps set)} \times 100$.

Dissection and morphological identification of rats

A field laboratory was set up. Rats were anesthetized with isoflurane, euthanized by cervical dislocation and then dissected. They were weighed, and sex was determined by observation of their external reproductive organs: presence of scrotum covering the testes in adult males and vagina in females. Other body measurements were taken with a calliper: total body length (body + head + tail length), tail length, right ear length, measurement of the skull length (between the back of the skull and the end of the nose). Removed organs (hearts, lungs) were preserved in 70° alcohol and stored to be examined later for adult worm detection. The determination of each rodent age class was based on the crystalline lens weight method (Hardy, Quay, et Huson 1983; Morris 1972; Tanikawa 1993). Crystalline lens of rats were also stored. There are only 2 species of rats in Haiti (Blaise, Jacques, personal communication); the brown rat *R. norvegicus* and the black rat, *R. rattus*. Using equations of Hardy and colleagues

(Hardy, Quy, et Huson 1983) for *R. norvegicus* and those of Tanikawa for *R. rattus* (Tanikawa 1993), the rats were divided into age groups (in months) according to their crystalline lens weight.

Worms collection

The heart and lungs collected from each individual and stored in ethanol were placed in a Petri dish, dissected and carefully examined under a stereomicroscope to collect the parasites. Adult worms were manually extracted with fine-tipped forceps from the pulmonary artery, heart, and lungs and preserved in 70% ethanol. The worms were clarified in lactophenol and identified using morphological criteria: caudal bursa morphology and spicule size were used as taxonomic characteristics for species identification according to (Maldonado Junior et al. 2010; Moreira et al. 2013). Observations were made using an OLYMPUS CX31 optical microscope connected to a camera connected to Microvision software brand Saisam (version 6.1.3).

Molecular identification

Strategy

Three complementary molecular approaches were implemented. First, morphological identifications of adult worms recovered from examined rats were confirmed by the amplification and sequencing of PCR targeting COX1 gene (Galan-Puchades et al. 2022; Rodpai et al. 2016). Secondly, we performed pan-strongylid PCR targeting ITS2 gene (Goncalves da Mota et al. 2020) directly on lung DNA extracts from all rats, followed by sequencing, to determine molecular prevalence of *A. cantonensis* and to assess potential infection or coinfection with other strongylid worms. This ITS2 region is widely used to differentiate strongylid nematode species (Gasser et al. 1993; Romstad et al. 1998). The third point consisted in validating the identification of *Rattus* species (*R. norvegicus* or *R. rattus*) by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) analysis on their mitochondrial *cytB* gene.

DNA Extraction

DNA was extracted from 25 mg of tissue (lungs from examined rats, or isolated worms) using a QIAamp Fast DNA Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) according to the manufacturer's instructions, with the following optimisations. Storage ethanol desorption was performed placing each sample in 1 ml of 90%, 60%, 30% ethanol solution, and purified water for 1 hour, respectively. Then, mechanical and thermal lysis was performed by shaking for 10 min using a vortex Genie 2 apparatus (Scientific

Industries Inc., NY, US), and then incubation in a Thermomixer (Eppendorf, Hambourg, Germany) for 1h 30 min at 56°C and 1000 rpm. DNA concentration was measured on a Quantus fluorimeter (Promega, WS, US) using QuantiFluor One DNA kit (Promega).

PCR Amplification and Sequencing

Primers used in this study are given in Table 1. For PCR amplification, 5µl of extracted DNA matrix was added to 20µl of a mixture of 1X EmeraldAmp® GT PCR Master Mix (Takara Bio, Shiga, Japan), and 0,4 µM of each primer. PCR amplification was carried out using a thermocycler Nexus Gradient (Eppendorf) applying the following program: an initial denaturation at 94°C for 2 min, then 40 cycles of 94°C for 1 min, 55°C for 1 min, and 72°C for 1 min, with a final elongation at 72°C for 5 min. Two µl aliquots of each PCR product were analyzed by electrophoresis on a TAE 1X-agarose 1% gel containing SYBR® Safe stain (Invitrogen, MA, US), applying 6 V.cm⁻¹ electric field, and visualized using a Bio-Rad Gel Doc XR+ system controlled by Image Lab™ Software (Bio-Rad, CA, US).

Amplicons were sequenced by Genewiz Genomics Service (Genewiz-Azenta, Germany). Primers used for PCR amplification were used for sequencing, except the newly designed NC-internal primer highly specific to *A. cantonensis* (Table 1) when NC1 sequencing suggested the presence of several nematode species in the amplicon. Sequences were identified by BLASTn analysis, using the NCBI GenBank database.

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)-PCR

After amplification of *cytB* mitochondrial gene of rats, digestion of amplicons was performed using FastDigest *RsaI* (Thermo Fisher Scientific, MA, US). Species identification of rats was allowed by obtention of the following restriction profiles: 188/455bp for *R. rattus* and 144/188/311bp for *R. norvegicus*, respectively.

Phylogenetic analysis

A phylogenetic analysis was performed to compare the DNA nucleotide sequences of COX1 gene PCR/sequencing from adult worms recovered in our study with other isolated sequences available in Genbank database. Sequences were aligned with MAFFT method (Kato et Standley 2013), cleaned following the BMGE approach (Criscuolo et Gribaldo, s. d.), then phylogeny analysis was performed by Mr Bayes analysis (Huelsenbeck et Ronquist 2001) in the workflow from NGPhylogeny.fr online

tool (Lemoine et al. 2019). Phylogenetic tree visualisation was performed with tTOL tool (<https://itol.embl.de/tree/>).

Data analysis

R version 4.2.2 (2022-10-31 ucrt) was used to perform the analyses. Prevalence was defined in our study as: (number of infected rat individuals / number of examined rat individuals *100) applying 95% confidence level based on binomial distribution. A Chi-squared test or Fisher exact test were performed to examine the association between prevalence of *A. cantonensis* and/or other nematodes and rat species.

A binomial generalized linear model (GLM) was run to estimate the relationship between variables (predictors) such as: age – season – species – sex and probability of infection. The effect was considered to be statistically significant when the p-value was less than 0.05.

Results

Sampling of rats

A total of 70 rats were captured in 7 of the 8 investigated sites. Capture success rates were 11% at Damien (Port-au-Prince) and 4% at Timonette (Artibonite). For the other sites, capture rates were low, ranging from 0% to 1%.

Morphological identification provided a first estimation of 25 *R. norvegicus* and 45 *R. rattus* captured. PCR-RFLP confirmed the identification of these two species and corrected mis-assignment for 6 individuals (especially juveniles or individuals with a cut tail), conducting to the final numbers of 23 *R. norvegicus* and 47 *R. rattus*. Forty-three females (14 *R. norvegicus*, 29 *R. rattus*) and 27 males (9 *R. norvegicus*, 18 *R. rattus*) were collected. Thirteen *R. norvegicus* and 10 *R. rattus* were collected at the end of the rainy season (November 2020; n=23) compared to 10 *R. norvegicus* and 37 *R. rattus* during the rainy season (September 2021; n=47). Overall, only *R. norvegicus* was observed in the urban area of Damien, whereas the rats caught in the rural area of Artibonite were mainly *R. rattus* (47 versus 11 *R. norvegicus*).

Prevalence of *A. cantonensis*

Worms recovered from rat hearts and lungs were macroscopically and microscopically observed (Figure 2) and compared to previous *A. cantonensis* description in the literature (Maldonado Junior et al. 2010; Moreira et al. 2013). All worms were also identified by COX1 PCR and sequencing. *A. cantonensis* worms were found in only 5 rats (1 *R. norvegicus* and 4 *R. rattus*), i.e. with a global prevalence of 7.1% (5/70) [2%

- 16%]. The highest number of worm specimens (n=20) was found in the lung of one single rat. The lungs of the three other rats contained 3, 2 and 1 worms, respectively. One worm was recovered from the heart of a rat for which PCR on lung was notably negative.

PCR targeting the nuclear ITS2 region was also used to investigate the presence of *A. cantonensis* in lung tissue, independently of the presence of adult worms (Caldeira et al. 2003; Goncalves da Mota et al. 2020). *A. cantonensis* DNA detection was positive in 22 rats, highlighting a 4,4-fold higher prevalence of the parasite than the macroscopic approach (31.4%). Table 2 summarizes results obtained on the 70 rats. Of note, one rat was negative to the molecular test on the lung, but had shown a worm in the heart, and was therefore considered positive. The overall prevalence of *A. cantonensis* in Haitian rats was consequently 32.9% [22% - 45%].

Prevalence of the parasite was 26.1% and 36.2% for *R. norvegicus* and *R. rattus* respectively. The prevalence did not differ significantly between species (Chi-squared test, p-value = 0.3434).

Infection/coinfection with other strongylids

Molecular analyses of worms recovered from the heart and lungs and pan-strongylid DNA detection in lungs revealed infection of *R. rattus* individuals by other nematode species. Seven rats harboured *Nippostrongylus brasiliensis*, including two co-infection with *A. cantonensis*, and another *R. rattus* was infected by *Strongyloides venezuelensis*. Infection or co-infection with other nematodes was not observed in *R. norvegicus* individuals, thus being significantly higher in *R. rattus* (p=0.046, Fisher exact test).

Geographical distribution of A. cantonensis

Four sites out of 8 were positive for *A. cantonensis*: 3 rural sites in Artibonite and Damien (urban area of Port-au-Prince). The site of Timonette (Artibonite) displayed the highest number of captured rats (n=43), of which 17 were infected (16 *Rattus*, 1 *R. norvegicus*). Twelve *R. norvegicus* were trapped in Damien, including 4 infected rats. Less than 5 rats were caught in each of other sites, with evidence of *A. cantonensis* in two other Artibonite sites (Village Noé, Chatelain).

Factors potentially influencing infection in rats

Figure 3 shows the age distribution of infected rats for the two species. Of the 23 *R. norvegicus*, 2 females and 3 males were infected and these 5 infected individuals were

1, 6 and 7 months old: young and adult rats of both sexes could be infected by the parasite. Of the 47 individuals of *R. rattus*, 14 females and 4 males were infected. Infected individuals ranged in age from 1 to 15 months, peaking at 4 months (5 individuals aged 4 months out of the 7 captured were infected).

None of the predictor variables (age, season, sex and species) significantly influenced parasite prevalence. (all p-values were higher than 0.05).

Phylogenetic analysis

Seven *A. cantonensis* worms provided a sequence reliable for taxonomic comparison. These 7 worms were isolated from 4 different rats, all caught in Timonette. The 7 sequences were identical, with no mutations to distinguish them. Sequences were deposited in NCBI database (Genbank numbers: PP178292-PP178298). All belonged to clade II-G, previously identified by Tian and colleagues (Tian et al. 2023).

Phylogenetic tree is shown in figure 4. Of note, sequences of Haitian *A. cantonensis* did not show any difference compared to sequences obtained from Guadeloupe (Gamiette et al. 2023).

Discussion

Our study confirms that Haiti is an endemic area for *A. cantonensis*. We observed a prevalence of parasite in Port-au-Prince suburbs similar to that observed 20 years ago by Raccurt and colleagues (Raccurt, Blaise, et Durette-Desset 2003). Moreover, we provided molecular proof of worm identification and highlighted that this parasite was also highly prevalent in Artibonite, therefore encompassing rural and urban areas.

Artibonite is considered as the breadbasket of Haiti, with many rice paddies and wetlands. We had hypothesised that prevalence would be potentially higher in this region because of its supposedly more favourable ecosystem. Indeed, higher prevalence was recorded in certain types of habitats, due to a higher availability of snail intermediate hosts (Companiononi et al. 2019; Estano, Bordado, et Paller 2021; S. I. Jarvi et al. 2017; Lim 1967; Tujan, Fontanilla, et Paller 2016). Rice fields was shown to be the primary source of infections for rats (Castillo et Paller 2018; Estano, Bordado, et Paller 2021; Tujan, Fontanilla, et Paller 2016). However, the prevalence observed in Artibonite did not differ significantly from the one observed in Port-au-Prince. Also, some studies have shown higher prevalence in adult rats compared with juveniles and in rats sampled during the winter/rainy season (Companiononi et al. 2019; Estano,

Bordado, et Paller 2021; S. I. Jarvi et al. 2017; Lim 1967; Tujan, Fontanilla, et Paller 2016). . We failed to correlate prevalence to age, sex, species of rodents and season of trapping. The unbalanced distribution of the two rat species (*R. rattus* trapped mostly in Artibonite and *R. norvegicus* mostly in Damien) and the low sample size might have hindered the detection of effects of species, age, season and landscape (urban vs. rural) if any.

In Jamaica, *R. rattus* was significantly more infected by *A. cantonensis* than *R. norvegicus* (Waugh et al. 2016). The unbalanced distribution of the two rat species (*R. rattus* trapped mostly in Artibonite and *R. norvegicus* mostly in Damien) and the low sample size might have hindered the detection of effects of species, age, season and landscape (urban vs. rural) if any. Infected rats and gastropods were previously described in the southern coast of the Dominican Republic by Vargas et al. (Vargas, Perez, et Malek 1992), leading to consider the island of Hispaniola as globally endemic for *A. cantonensis*, like most of the neighboring Caribbean islands (Cuba, Jamaica Puerto Rico, French Antilles) (Andersen et al. 1986; Companioni et al. 2019; Dard et al. 2017; 2020; Waugh et al. 2016). Of note, the overall prevalence of *A. cantonensis* in Haitian rats in our study (32.9%) is close to the one reported in the study of Waugh in Jamaica, 32.0%, n=437 (297 *R. rattus* and 140 *R. norvegicus*) (Waugh et al. 2016) where human eosinophilic meningitis is a public health concern but lower than that found by Vargas and colleagues in the Dominican Republic (100%, n=5, *R. norvegicus*) (Vargas, Perez, et Malek 1992).

Although we did not detect any differences in *A. cantonensis* prevalence between the two rat species, we observed infections or coinfections by other strongylids only in *R. rattus*. This may be explained by differences in food preferences and/or host susceptibility, (Ye et al. 2023), and the true impact of co-infections on *A. cantonensis* population dynamics remains to be explored.

Direct DNA amplification of parasite on lung DNA extract allowed highly sensitive detection of *A. cantonensis*. Such approach was previously used for retrospective rodent survey, using cryopreserved samples (Okano et al. 2014). We observed an unexpected four-fold higher prevalence than using the widely-used conventional macroscopical detection of adult worms in lung arteries and/or right ventricle. Delayed dissection of lungs and heart stored one year in ethanol could have led to miss morphologically altered adult worms, compared to dissection of fresh tissues. On the

other hand, DNA detection in lung tissues extract can detect parasite eggs, L1 larvae or residual cells shed from adult worms. Moreover, rats with positive PCR results could have been recently infected, with L3 larvae present in their bloodstream and passing through the pulmonary arteries on their way to the brain. Qvarnstrom and colleagues showed the higher sensitivity of quantitative PCR, *i.e* 100% versus 54% detection in 37 rats (Qvarnstrom, Bishop, et da Silva 2013). Similar comparative study using optimal preanalytical conditions should be conducted to compare performances of morphological examination versus conventional PCR performed on lung tissues.

Sequencing of COX1 gene of seven adult worms allowed us to identify a single haplotype of *A. cantonensis* in Haiti. Phylogenetic analysis revealed that the Haitian haplotype belonged to the clade II according Tian and colleagues (Tian et al. 2023). According to these authors, Clade II is the overwhelming gene type beyond Southeast and East Asia except for a small number of samples of Clade IV and Clade V in Hawaii and Rio de Janeiro, respectively. Moreover, Haitian haplotype belonged to the clade II-G, which is the most common type, accounting for almost half of the haplotypes of this clade described so far (figure 4). Recently, Gamiette and colleagues described a unique haplotype of *A. cantonensis* in Guadeloupe, French Antilles, which also belongs to clade II-G (Gamiette et al. 2023). Including our isolates and those described by Gamiette and colleagues clade II-G has now been described in nine locations worldwide, including the Pacific (*e.g.* Japan, French Polynesia) and the New World (Brazil, Guadeloupe, Haiti). Given that haplotype diversity of *A. cantonensis* was significantly higher in Southeast and East Asia, and that the New World showed higher diversity of the major clade II in contrast to the Pacific, Tian and speculated that rat lungworm was introduced from Southeast Asia rather than from the Pacific. (Cowie, Malik, et Morgan 2023; Tian et al. 2023). However, how clade II-G *A. cantonensis* spread to Caribbean remains to be determined.

To date, potential intermediate hosts for *A. cantonensis* have not been investigated in Haiti. Infection of *Subulina octona* was previously shown by Vargas and colleagues in the Dominican Republic and Andersen and colleagues in Puerto Rico while Waugh colleagues showed that of the 777 snails and slugs examined, 12.5% harboured third-stage larvae of *A. cantonensis* (*Pleurodonte* spp., *Potertia* spp., *Thelidomus aspera*, *Sagda* spp. and veronicellid slugs) in Jamaica. (Andersen et al. 1986; Vargas, Perez, et Malek 1992; Waugh et al. 2016). The African giant snail *Lissachatina fulica*, a species of terrestrial snail commonly found infected by the parasite worldwide has not

been described in Haiti nor in Jamaica, nor Dominican Republic. Thus, infected rats from cargo ships may be more important for the expansion of the geographic range of the parasite than introduced infected molluscs in Haiti and Jamaica. The situation may be different in the South Caribbean, where *L. fulica* was introduced and is now widespread in French Antilles (Dard et al. 2017; 2020; Gamiette et al. 2023). Field investigations remain to be done in Haiti to identify intermediate and paratenic hosts involved in the parasite cycle.

Conclusion

Our study provides molecular evidence of *A. cantonensis* in rodent samples from two different landscapes of Haiti. The presence of this parasite in Haiti since at least 20 years should alert health authorities and practitioners to the possible occurrence of neuroangiostrongyliasis. The risk for the population is not negligible. Firstly, because infections are sometimes due to accidental ingestion of contaminated intermediate hosts, and secondly, even though Haitians generally do not eat raw mollusks or crustaceans and raw vegetables are rarely consumed, the dietary habits of a people can evolve. Further investigations on the presence of the parasite in different hosts and the incidence of eosinophilic meningitis in humans in various landscapes over the country are needed to better understand the distribution and the impact of *A. cantonensis* in Haiti.

Conflict of interest

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgments

This work would not have been possible without the material and financial support of the Franche-Comté University (Chrysalide project), the French Embassy in Haiti (Anténor Firmin doctoral mobility program), the Observatoire des Sciences de l'Univers Terre Homme Environnement Temps Astronomie de Franche-Comté-Bourgogne (OSU-THETA, SRO project), and the Bourgogne-Franche-Comté Regional Council (grant Structuration de la Recherche 2023 – TRANSBIO, ARISAH project). We thank warmly thank the PEA^{2t} platform (Chrono-environment, University of Bourgogne Franche-Comté, UMR CNRS 6249, France), which manages and maintains the analytical equipment used in this study as well as the university library of the Université Franche-Comté, which helped us find some articles.

References

- Andersen, E., Dj Gubler, K. Sorensen, J. Beddard, et Lr Ash. 1986. « 1st Report of Angiostrongylus-Cantonensis in Puerto-Rico ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 35 (2): 319-22. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1986.35.319>.
- Anderson, Roy Clayton. 1978. « Keys to genera of the superfamily Metastrongyloidea ». *CIH Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates*. 5. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1573668924513317632>.
- Ash, L. R. 1968. « The Occurrence of Angiostrongylus Cantonensis in Frogs of New Caledonia with Observations on Paratenic Hosts of Metastrongyles ». *The Journal of Parasitology* 54 (3): 432-36.
- Barratt, Joel, Douglas Chan, Indy Sandaradura, Richard Malik, Derek Spielman, Rogan Lee, Deborah Marriott, John Harkness, John Ellis, et Damien Stark. 2016. « *Angiostrongylus cantonensis*: a review of its distribution, molecular biology and clinical significance as a human pathogen ». *Parasitology* 143 (9): 1087-1118. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000652>.
- Caldeira, R. L., O. S. Carvalho, Clfg Mendonca, C. Graeff-Teixeira, M. C. F. Silva, R. Ben, R. Maurer, W. S. Lima, et H. L. Lenzi. 2003. « Molecular differentiation of *Angiostrongylus costaricensis*, *A-cantonensis*, and *A-vasorum* by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism ». *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 98 (8): 1039-43. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000800011>.
- Castillo, Diane Shiela C., et Vachel Gay V. Paller. 2018. « Occurrence of *Angiostrongylus cantonensis* in rodents from the rice granary of the Philippines and associated risk factors for zoonotic transmission. » *Journal of parasitic diseases : official organ of the Indian Society for Parasitology* 42 (3): 350-56. <https://doi.org/10.1007/s12639-018-1005-z>.
- Chikweto, A., M. I. Bhaiyat, C. N. L. Macpherson, C. DeAllie, R. D. Pinckney, C. Richards, et R. N. Sharma. 2009. « Existence of *Angiostrongylus cantonensis* in rats (*Rattus norvegicus*) in Grenada, West Indies ». *Veterinary Parasitology* 162 (1-2): 160-62. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.02.020>.
- Companioni, Ariamys, Jennys Peraza, Zulema Menéndez, Aileen González, Ledy X. López, Ana Elisa Rodríguez, Jorge D. Cantillo, et Fidel A. Núñez. 2019. « Infección por *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) en

- Rattus rattus (Rodentia: Muridae) en una localidad de La Habana, Cuba ». *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 298-307.
- Cowie, Robert H. 2013. « Biology, systematics, life cycle, and distribution of *Angiostrongylus cantonensis*, the cause of rat lungworm disease. » *Hawai'i journal of medicine & public health : a journal of Asia Pacific Medicine & Public Health* 72 (6 Suppl 2): 6-9.
- Cowie, Robert H., Richard Malik, et Eric R. Morgan. 2023. « Comparative Biology of Parasitic Nematodes in the Genus *Angiostrongylus* and Related Genera. » *Advances in Parasitology* 121: 65-197. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2023.05.003>.
- Criscuolo, A., et SJBEB BMGE Gribaldo. s. d. « A new software for selection of phylogenetic informative regions from multiple sequence alignments ». *BMC Evol. Biol* 10: 1-21.
- Dard, Celine, Jean-Eudes Piloquet, Yvonne Qvarnstrom, LeAnne M. Fox, Helmi M'kada, Jean-Christophe Hebert, Didier Mattera, et Dorothee Harrois. 2017. « First Evidence of Angiostrongyliasis Caused by *Angiostrongylus cantonensis* in Guadeloupe, Lesser Antilles ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 96 (3): 692-97. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0792>.
- Dard, Celine, Eve Tessier, Duc Nguyen, Loic Epelboin, Dorothee Harrois, Christopher Swale, Andre Cabie, Katia de Meuron, Charline Miossec, et Nicole Desbois-Nogard. 2020. « First cases of *Angiostrongylus cantonensis* infection reported in Martinique, 2002-2017 ». *Parasite* 27 (mai): 31. <https://doi.org/10.1051/parasite/2020032>.
- Estano, Leonardo A., Anna Monica D. Bordado, et Vachel Gay V. Paller. 2021. « *Angiostrongylus cantonensis* infection of non-native rats in Mount Makiling Forest Reserve, the Philippines. » *Parasitology* 148 (2): 143-48. <https://doi.org/10.1017/S0031182020001511>.
- Galan-Puchades, Maria Teresa, Mercedes Gomez-Samblas, Antonio Osuna, Sandra Saez-Duran, Ruben Bueno-Mari, et Marius V. Fuentes. 2022. « Autochthonous *Angiostrongylus Cantonensis* Lungworms in Urban Rats, Valencia, Spain, 2021. » *Emerging Infectious Diseases* 28 (12): 2564-67. <https://doi.org/10.3201/eid2812.220418>.
- Gamiette, Gelixa, Severine Ferdinand, David Couvin, Celine Dard, et Antoine Talarmin. 2023. « The Recent Introduction of *Angiostrongylus Cantonensis* and

- Its Intermediate Host *Achatina Fulica* into Guadeloupe Detected by Phylogenetic Analyses. » *Parasites & Vectors* 16 (1): 276. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-05872-4>.
- Gasser, Robin B., Neil B. Chilton, Herv Hoste, et Ian Beveridge. 1993. « Rapid sequencing of rDNA from single worms and eggs of parasitic helminths. » *Nucleic acids research* 21 (10): 2525.
- Goncalves da Mota, Dan Jesse, Leyva Cecilia Vieira de Melo, Vera Lucia Pereira-Chiocola, Ricardo Gava, et Pedro Luiz Silva Pinto. 2020. « First record of natural infection by *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongyloidea) in *Belocaulus willibaldoi* and *Rattus norvegicus* in an urban area of Sao Paulo city, SP, Brazil ». *Heliyon* 6 (10): e05150. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05150>.
- Graeff-Teixeira, Carlos, Ana Cristina Aramburu da Silva, et Kentaro Yoshimura. 2009. « Update on Eosinophilic Meningoencephalitis and Its Clinical Relevance ». *Clinical Microbiology Reviews* 22 (2): 322-+. <https://doi.org/10.1128/CMR.00044-08>.
- Hardy, A. R., R. J. Quy, et L. W. Huson. 1983. « Estimation of age in the Norway rat (*Rattus norvegicus* Berkenhout) from the weight of the eyelens ». *Journal of Applied Ecology*, 97-102.
- Herbreteau, V., S. Jittapalapong, W. Rerkamnuaychoke, Y. Chaval, J. F. Cosson, et S. Morand. 2011. « Protocols for field and laboratory rodent studies. 2011 ». *CERoPath project*.
- Huelsenbeck, John P., et Fredrik Ronquist. 2001. « MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees ». *Bioinformatics* 17 (8): 754-55.
- IHSI, Mar. 2015. « Population totale de 18 ans et plus menages et densites estimees en 2015 ». *Institut Haitien de Statistique et D'Informatique*.
- Jarvi, Susan I., Stefano Quarta, Steven Jacquier, Kathleen Howe, Deniz Bicakci, Crystal Dasalla, Noelle Lovesy, Kirsten Snook, Robert McHugh, et Chris N. Niebuhr. 2017. « High prevalence of *Angiostrongylus cantonensis* (rat lungworm) on eastern Hawai'i Island: A closer look at life cycle traits and patterns of infection in wild rats (*Rattus* spp.) ». *Plos One* 12 (12): e0189458. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189458>.

- Jarvi, Susan, et Paul Prociv. 2021. « Angiostrongylus cantonensis and neuroangiostrongyliasis (rat lungworm disease): 2020. » *Parasitology* 148 (2): 129-32. <https://doi.org/10.1017/S003118202000236X>.
- Katoh, Kazutaka, et Daron M. Standley. 2013. « MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability ». *Molecular biology and evolution* 30 (4): 772-80.
- Kim, Jaynee R., Kenneth A. Hayes, Norine W. Yeung, et Robert H. Cowie. 2014. « Diverse Gastropod Hosts of Angiostrongylus cantonensis, the Rat Lungworm, Globally and with a Focus on the Hawaiian Islands ». *Plos One* 9 (5): e94969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094969>.
- Lemoine, Frédéric, Damien Correia, Vincent Lefort, Olivia Doppelt-Azeroual, Fabien Mareuil, Sarah Cohen-Boulakia, et Olivier Gascuel. 2019. « NGPhylogeny. fr: new generation phylogenetic services for non-specialists ». *Nucleic acids research* 47 (W1): W260-65.
- Lim, Bl. 1967. « Occurrence of Angiostrongylus Cantonensis in Rats Around Kuching Sarawak ». *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 61 (4): 429-. <https://doi.org/10.1080/00034983.1967.11686510>.
- Maldonado Junior, Arnaldo, Raquel O. Simoes, Ana Paula M. Oliveira, Esther M. Motta, Monica A. Fernandez, Zilene M. Pereira, Simone S. Monteiro, Eduardo J. Lopes Torres, et Silvana Carvalho Thiengo. 2010. « First report of Angiostrongylus cantonensis (Nematoda: Metastrongylidae) in Achatina fulica (Mollusca: Gastropoda) from Southeast and South Brazil ». *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 105 (7): 938-41. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762010000700019>.
- Moreira, V. L. C., E. G. Giese, F. T. V. Melo, R. O. Simoes, S. C. Thiengo, A. Maldonado, et J. N. Santos. 2013. « Endemic angiostrongyliasis in the Brazilian Amazon: Natural parasitism of Angiostrongylus cantonensis in Rattus rattus and R. norvegicus, and sympatric giant African land snails, Achatina fulica ». *Acta Tropica* 125 (1): 90-97. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.10.001>.
- Morris, P. 1972. « A Review of Mammalian Age Determination Methods ». *Mammal Review* 2 (3): 69-104. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.1972.tb00160.x>.
- Okano, Tsukasa, Atsushi Haga, Eriko Mizuno, Manabu Onuma, Yumiko Nakaya, et Takashi Nagamine. 2014. « Angiostrongylus cantonensis (Nematoda:

- Metastrongylidae) in the Ryukyu Islands Tree Rat (*Diplothrix legata*) ». *Journal of Wildlife Diseases* 50 (2): 322-25. <https://doi.org/10.7589/2013-03-050>.
- Paredes-Esquivel, Claudia, Pilar Foronda, Claire Panosian Dunavan, et Robert H. Cowie. 2023. « Neuroangiostrongyliasis: Rat Lungworm Invades Europe. » *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 108 (4): 857-58. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.22-0782>.
- Qvarnstrom, Yvonne, Henry S. Bishop, et Alexandre J. da Silva. 2013. « Detection of rat lungworm in intermediate, definitive, and paratenic hosts obtained from environmental sources. » *Hawai'i journal of medicine & public health : a journal of Asia Pacific Medicine & Public Health* 72 (6 Suppl 2): 63-69.
- Raccurt, C. P., J. Blaise, et M. C. Durette-Desset. 2003. « Presence of *Angiostrongylus cantonensis* in Haiti ». *Tropical Medicine & International Health* 8 (5): 423-26. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2003.01035.x>.
- Rodpai, Rutchanee, Pewpan M. Intapan, Tongjit Thanchomnang, Oranuch Sanpool, Lakkhana Sadaow, Sakhone Laymanivong, Win Papa Aung, Issarapong Phosuk, Porntip Laummaunwai, et Wanchai Maleewong. 2016. « *Angiostrongylus cantonensis* and *A. malaysiensis* Broadly Overlap in Thailand, Lao PDR, Cambodia and Myanmar: A Molecular Survey of Larvae in Land Snails ». *Plos One* 11 (8): e0161128. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161128>.
- Romstad, A., R. B. Gasser, P. Nansen, A. M. Polderman, et N. B. Chilton. 1998. « *Necator americanus* (Nematoda: Ancylostomatidae) from Africa and Malaysia have different ITS-2 rDNA sequences ». *International Journal for Parasitology* 28 (4): 611-15.
- Sikes, Robert S., William L. Gannon, Animal Care, et Use Committee of the American Society of Mammalogists. 2011. « Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research ». *Journal of mammalogy* 92 (1): 235-53.
- Tanikawa, Tsutomu. 1993. « An eye-lens weight curve for determining age in black rats, *Rattus rattus* ». *Journal of the Mammalogical Society of Japan* 18 (1): 49-51.
- Tian, Xia, Shen Chen, Lei Duan, Yingjun Qian, Hongmei Li, et Shan Lv. 2023. « The Global Spread Pattern of Rat Lungworm Based on Mitochondrial Genetics. » *Pathogens* 12 (6): 788. <https://doi.org/10.3390/pathogens12060788>.

- Tujan, Ma Angelica A., Ian Kendrick C. Fontanilla, et Vachel Gay V. Paller. 2016. « Vectors and Spatial Patterns of *Angiostrongylus cantonensis* in Selected Rice-Farming Villages of Munoz, Nueva Ecija, Philippines. » *Journal of parasitology research* 2016: 3085639-3085639. <https://doi.org/10.1155/2016/3085639>.
- Turck, Helena C., Mark T. Fox, et Robert H. Cowie. 2022. « Paratenic Hosts of *Angiostrongylus Cantonensis* and Their Relation to Human Neuroangiostrongyliasis Globally. » *One Health* 15 (décembre): 100426. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2022.100426>.
- Ubelaker, John E. 1986. « Systematics of species referred to the genus *Angiostrongylus* ». *The Journal of parasitology*, 237-44.
- Vargas, M., Jdg Perez, et Ea Malek. 1992. « 1st Record of *Angiostrongylus-Cantonensis* (chen, 1935) (nematoda, Metastrongylidae) in the Dominican-Republic ». *Tropical Medicine and Parasitology* 43 (4): 253-55.
- Wallace, Gd, et L. Rosen. 1965. « Studies on Eosinophilic Meningitis .1. Observations on the Geographic-Distribution of *Angiostrongylus-Cantonensis* in the Pacific Area and Its Prevalence in Wild Rats ». *American Journal of Epidemiology* 81 (1): 52-62. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a120497>.
- Wang, Q.-P., Z.-D. Wu, J. Wei, R. L. Owen, et Z.-R. Lun. 2012. « Human *Angiostrongylus cantonensis*: an update ». *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 31 (4): 389-95. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1328-5>.
- Waugh, C. A., J. F. Lindo, J. Lorenzo-Morales, et R. D. Robinson. 2016. « An epidemiological study of *A. cantonensis* in Jamaica subsequent to an outbreak of human cases of eosinophilic meningitis in 2000 ». *Parasitology* 143 (9): 1211-17. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000640>.
- Ye, Caixia, Lianhua Zhang, Lili Tang, Yongjun Duan, Ji Liu, et Hongli Zhou. 2023. « Host Genetic Backgrounds: The Key to Determining Parasite-Host Adaptation ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 13 (août): 1228206. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1228206>.

List of tables and figures

Table 1. Primers used in this study.

Table 2. Prevalence of *A. cantonensis* infection in Haitian rats.

Figure 1. Map of Haiti with the departments, study sites.

Figure 2. Light microscopy of adults of *A. cantonensis*.

Figure 3. Distribution of infected individuals in the different age classes for two-rats species.

Figure 4. Phylogenic relation in Clade II subgroups (COX1).

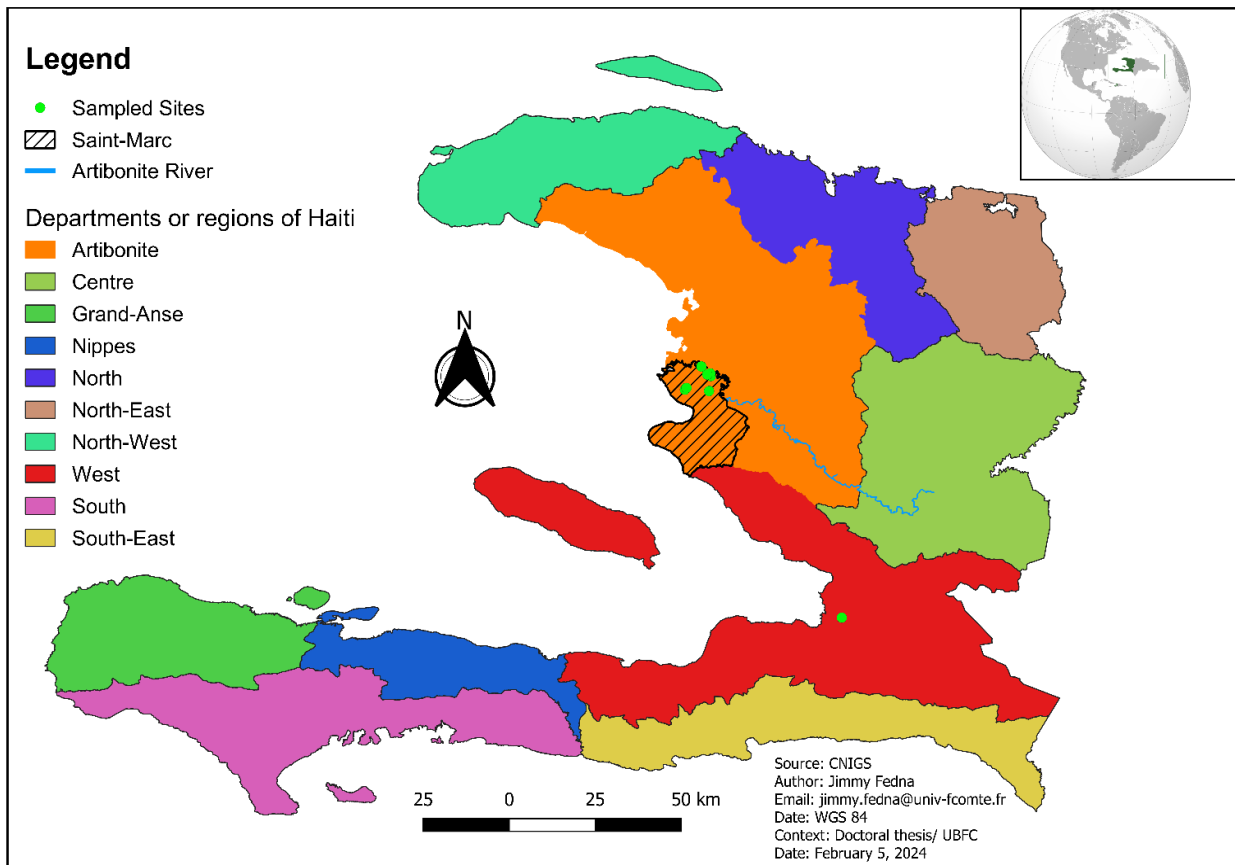


Fig. 1 Map of Haiti with the departments, study sites (Top right: Haiti medallion in the Caribbean basin. Image taken from Wikipedia). Some sites overlap and do not appear on the map.



Fig. 2 Light microscopy of adults of *A. cantonensis*

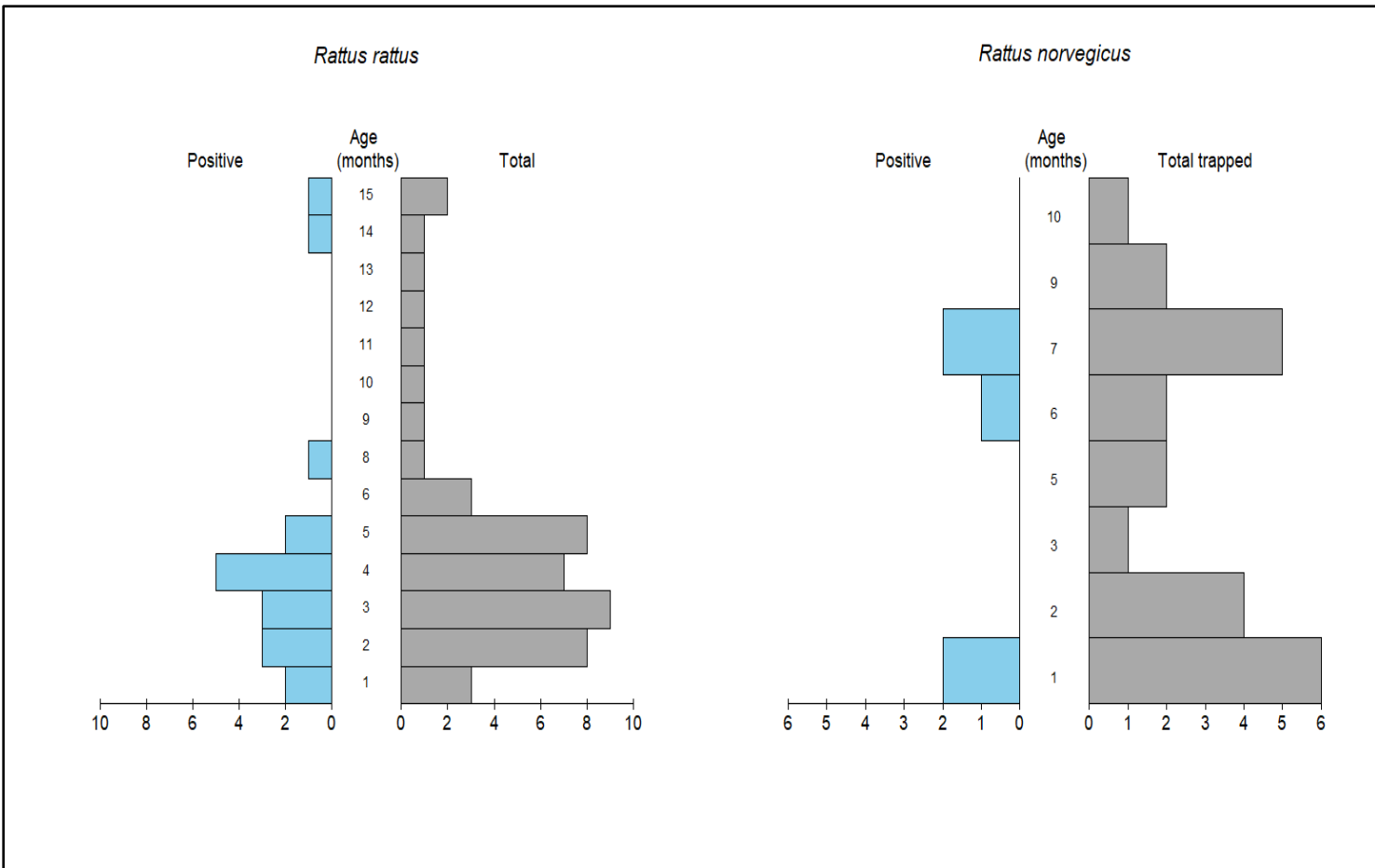


Fig.3 Distribution of infected individuals in the different age classes for the two-rat species (total number trapped in parenthesis). For *R. norvegicus*, 3 age classes are represented, ranging from 1 to 7 months. For *R. rattus*, 9 age classes are represented, ranging from 1 to 15 months. (No data on lens weights for one infected *R. norvegicus* male, nor for 4 infected *R. rattus* females). The figures in parentheses represent the number of individuals captured in the corresponding age class.

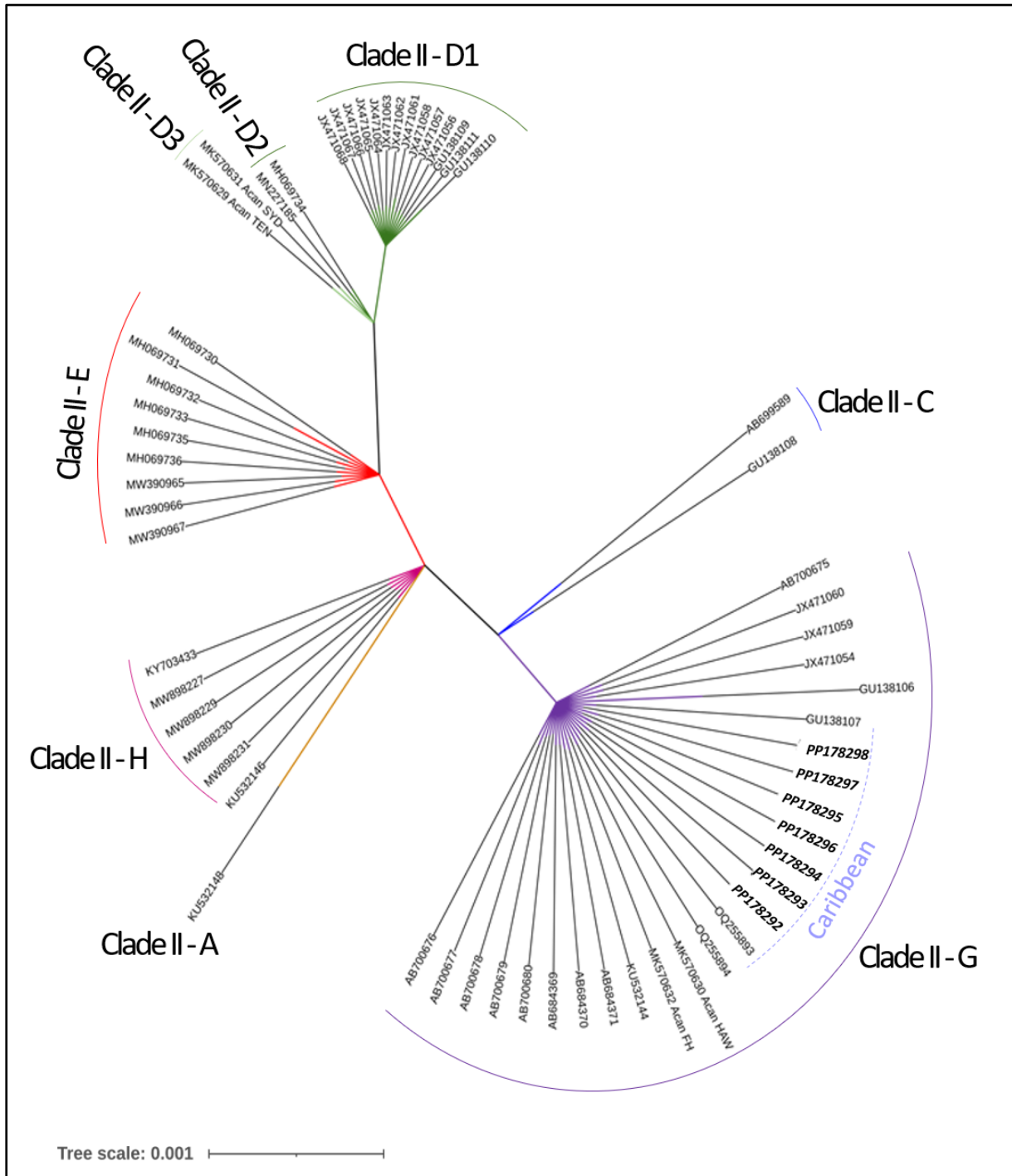


Fig.4 Phylogenetic relation in Clade II subgroups (cox1). Performed with NGPhylogeny.fr online tool, and iTOL visualisation software. Haitian sequences (accession numbers PP178292 to 98), belonging to Clade II-G, are labelled in bold italic.

Table 1 Primers used in this study

	Sequences	Target	Purpose	Ref.
Pan-strongylid PCR NC1 NC2 <i>Sequencing</i> NC internal	5'-ACGTCTGGTTCAGGGTTGTT-3' 5'-TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT-3' 5'-GTGCGTTTTGTGCGTTTAC-3'	nuclear ITS2 (nematodes)	Identification of <i>A. cantonensis</i> in rodents organs	[17,18] <i>This study</i>
Worm identification AngiCOI_forward AngiCOI_reverse	5'- TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT- 3' 5'- CGAGGATAACCATGTAAACCAGC- 3'	COX1 (<i>Angiostrongylus</i> spp.)	Taxonomic assessment of isolated worms	[15,37]
Rattus identification For-cytB-Rattus Rev-cytB-Rattus	5'-CTCCCATGAGGACAAATATC-3' 5'-ATGGGTGTTCTACTGGTTG-3'	cytB (rodents)	Confirmation of rodent species by RFLP	<i>This study</i>

Table 2 Prevalence of *A. cantonensis* infection in Haitian rats.* Rat with worm in heart but *A. cantonensis* DNA not detected in lungs

Species	Autopsied	Number of rats		
		Macroscopic detection of <i>A. cantonensis</i> worms then confirmed by PCR- sequencing	Molecular detection of <i>A. cantonensis</i> DNA by PCR-sequencing on tissues (lungs)	Infection by <i>A. cantonensis</i> (macroscopy + molecular detection in lungs)
		n Prevalence (%) [CI%]	n Prevalence (%) [CI%]	n Prevalence (%) [CI%]
<i>R. norvegicus</i>	23	1	6	6
<i>R. rattus</i>	47	4	16	17*
Total	70	5 (7.1%) [2% - 16%]	22 (31.4%) [21% - 44%]	23 (32.9%) [22% - 45%].

C.3 J. Fedna, R. Borne, D. Rieffel, G. Bornette, J.H. Henrys, F. Grenouillet, F. Raoul. 2024. **First report of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) in gastropods *Subulina octona* (Bruguère, 1789) (Mollusca: Gastropoda) and Veronicellidae from Haiti.** (En préparation)

Résumé :

Cette étude a été menée en Haïti pour détecter la présence du parasite *Angiostrongylus cantonensis* chez les gastéropodes. Initialement, l'échantillonnage des gastéropodes a été réalisé à partir de morceaux de moquettes humides sur les sites. En raison des résultats peu concluants de cette méthode, une approche visuelle a été adoptée. Les sites ont été explorés méticuleusement pendant une période déterminée, variant de 30 minutes à 1 heure. Différentes espèces de gastéropodes ont été identifiées sur la base de caractéristiques morphologiques et par biologie moléculaire. Une stratégie de lots a été utilisée pour détecter l'ADN du parasite dans les échantillons. Les résultats indiquent la présence d'*A. cantonensis* dans deux régions d'Haïti, chez deux espèces de gastéropodes, suggérant une endémicité du parasite dans ce pays. C'est le premier signalement de ce parasite chez les gastéropodes en Haïti. Cependant, des défis ont été rencontrés en termes d'efficacité de la PCR, probablement en raison de la dégradation de l'ADN au fil du temps.

Matériel/ Méthodes

Echantillonnage des gastéropodes.

En parallèle aux captures de rats, un protocole d'échantillonnage des gastéropodes a été mis en place. L'approche initiale consistait à utiliser des morceaux de moquette (30x20 cm) humide disposés sur les 8 sites (20 moquettes par sites) où les pièges à rats étaient également positionnés. Cependant, en raison de résultats peu concluants avec cette méthode (allant de 0 à 3 gastéropodes capturés), l'échantillonnage s'est orienté vers une approche à vue. Cette méthode implique une prospection visuelle méthodique des sites étudiés, avec une inspection minutieuse des surfaces humides, sous les feuilles, les rochers et la litière (Cucherat et Demuynck 2008). Chaque site a été exploré pendant une période déterminée, variant de 30 minutes à 1 heure. Toutes les précautions de sécurité ont été prises ; tous les participants étaient équipés de gants et de pinces.

Conservation, stockage et identification des espèces.

Les gastéropodes étaient collectés à l'aide de pinces et placés dans des sacs en

plastique de type ziplock, séparés en fonction de leur morphologie puis congelés à -20 °C, tout en enregistrant leur emplacement dans notre carnet de terrain. Une première identification morphologique a été réalisée en utilisant le livre de Delannoye R, et collègues (Delannoye et al. 2015). Les échantillons ont été expédiés en France au laboratoire Chrono-environnement pour analyses. Des exemplaires de chaque morphotype ont été photographiés à l'aide d'un microscope numérique Keyence, pour la capture d'images haute résolution. L'identification morphologique des spécimens sur la base des images a été réalisée par une équipe de malacologues cubains. Les tests PCR conventionnels ciblant le gène ribosomal 16S de l'ADN mitochondrial de 2 à 3 individus de chaque morphotype ont été réalisés pour une confirmation moléculaire. Il a déjà été démontré que ce gène peut discriminer les espèces de gastéropodes entre elles (Mitani et al. 2009).

Choix des sites et d'espèces pour les diagnostics.

En raison de contraintes logistiques nous avons sélectionné uniquement 3 sites parmi les 8 (Damien, Timonette et Village Noé) pour détecter la présence du parasite chez les gastéropodes. Cette sélection a été faite en prenant en compte l'hypothèse de la présence potentielle du parasite et les caractéristiques des habitats. Notre choix de sites s'est également basé sur la présence d'espèces de mollusques documentées hôte d'*A. cantonensis* dans d'autres études scientifiques (Article No. 1).

Ainsi, Damien a été sélectionné en raison de son historique positif en tant que site pour *A. cantonensis* chez le rat. Timonette a été choisi pour la composition et la configuration de son paysage. La matrice paysagère est composée de rizières, de zones humides, et sur le site, il y a un jardin avec des cocotiers, des manguiers, etc. Le site est séparé par un mur d'une usine de traitement de riz. À Timonette, il y a un canal d'irrigation où les habitants se baignent, font leur lessive et lavent toutes sortes de choses comme des assiettes, des cuillères, des chaudrons, etc. Le village Noé est un environnement sec avec une diversité d'espèces d'escargots différentes, et où les espèces sont répertoriées comme négatives pour le parasite dans d'autres études. Ce site peut nous aider à vérifier si la situation haïtienne est conforme à ces résultats antérieurs.

Au site de Damien, 3 espèces de gastéropodes ont été examinées : 2 escargots terrestres, *Hispaniolana dominicensis* et *S. octona*, ainsi qu'une limace, *Sarasinula plebeia*. Des études antérieures ont confirmé la présence du parasite chez *S. octona* et *S. plebeia* (Alicata 1962; del Risco Barrios et Diéguez Fernández 2004). Au site de Timonette, 2 espèces ont été étudiées : les limaces Veronicellidae et un escargot

aquatique, *Melanoides tuberculata*. Des données antérieures ont indiqué la présence du parasite chez *M. tuberculata* et chez certaines Veronicellidae (Voir Article No. 1). Parmi les sept espèces du Village Noé, aucune n'a été signalée comme positive dans la littérature. Nous avons choisi d'étudier l'espèce la plus abondante dans notre échantillon, *Coryda vigiensis*.

Stratégie pour constituer des lots

Pour détecter la présence du parasite chez les gastéropodes, les individus échantillonnés ont été regroupés en lots afin d'optimiser le temps et de minimiser le nombre d'extractions d'ADN nécessaires tout en maximisant la fiabilité des estimations de prévalence. Ce processus de tests groupés introduit en épidémiologie vise à fournir une estimation la moins biaisée possible du taux de prévalence de la maladie (Dorfman 1943; Hughes-Oliver 2006; El-Amine, Bish, et Bish 2018). Nous avons réalisé des simulations de tailles et de nombre de lots avec l'outil **EPITOOLS** (<https://epitools.ausvet.com.au/ppsimfixedone>) en faisant l'hypothèse que le test possède une sensibilité de détection de 90% et une spécificité de 99%, avec un niveau de confiance de 95% pour l'estimation. Un résultat de test positif se produit s'il y a au moins un échantillon infecté dans le lot ; sinon, le résultat du test est négatif. Ces simulations, basées sur 1000 itérations, ont utilisé un jeu de données théoriques initial comprenant 150 individus à analyser, avec une gamme de prévalences supposées allant de 1% à 50%. Le choix de la taille des lots de gastéropodes a été fait de manière à minimiser la largeur de l'intervalle de confiance (paramètre de mesure de la précision) tout en maximisant la proportion qui se situent dans l'intervalle de confiance de la véritable prévalence d'estimations (mesure de fiabilité/véracité). La figure 7 (de gauche) montre la largeur de l'intervalle de confiance de la prédiction en fonction de la prévalence dans la population. On observe sur cette figure, par exemple, que si l'on prend des lots de 30 individus (cercles en gris), l'intervalle de confiance est très grand, aboutissant à une estimation peu précise. La figure 7 (de droite) présente un autre paramètre important à considérer, qui est la proportion d'estimations valables. Ce paramètre est un indicateur de fiabilité et de véracité. Il indique l'intervalle de confiance qui contient la véritable prévalence. Plus il est grand, plus l'estimation est fiable. Dans notre exemple ici l'estimation capture plus de 90% de la véritable prévalence. Sur la figure 8 (de droite), à des prévalences de 5% et 15% (cercles noirs), on obtient une meilleure estimation pour toutes les tailles de lots.

Nous présentons ici un exemple des prédictions pour 100 individus de l'espèce *S.*

octona. La figure 8 (à gauche) montre que, pour le paramètre de la largeur de l'intervalle de confiance, le meilleur compromis est de faire des lots de 10 individus (cercle noir). Ceci est corroboré par la figure 8 (à droite), qui présente les proportions d'estimations valables. Avec des lots de 10 individus, on capture plus de 90% de la véritable prévalence dans la population (flèche jaune). Nous avons donc fait des lots de 10 individus pour *S. octona*, puis procédé de la même manière pour toutes les espèces de gastéropodes analysées. Le problème réside dans le fait que si tous les échantillons testés sont positifs pour le parasite, l'intervalle de confiance deviendra trop large pour englober la valeur de la prévalence, compromettant ainsi la précision de cette estimation.

Pour calculer ensuite les prévalences et intervalles de confiance sur nos échantillons, nous avons appliqué la fonction PoolPrev du package PoolTestR. Ce package permet de travailler avec des tests de présence/absence sur des échantillons groupés.

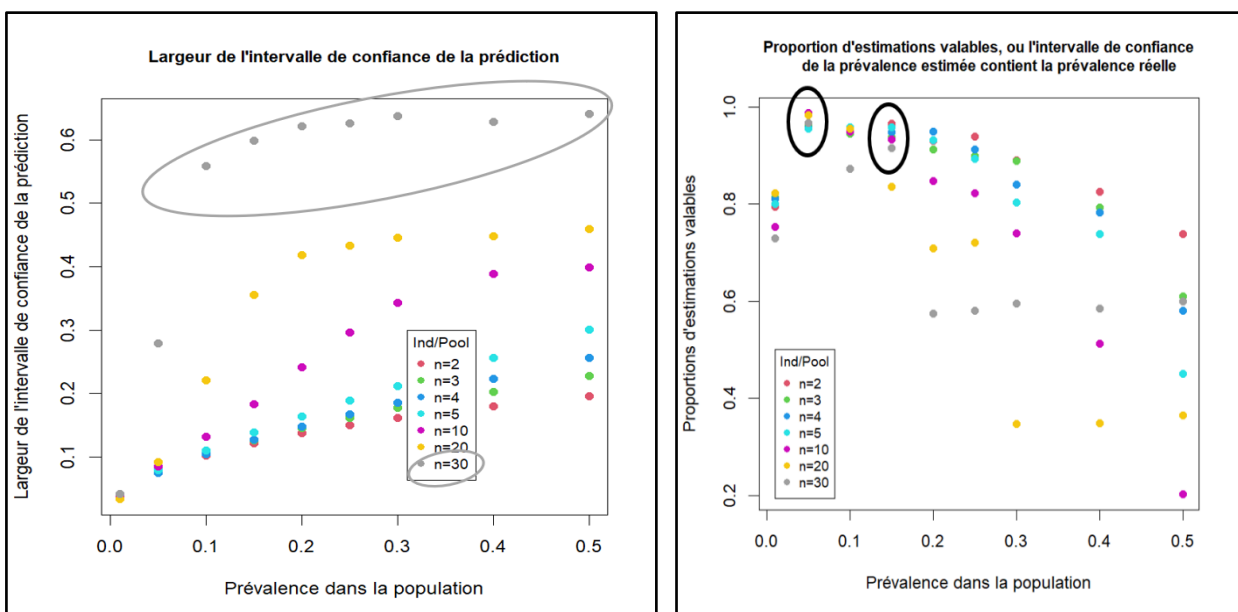


Fig. 7 La figure (de gauche) : largeur de l'intervalle de confiance de la prédiction en fonction de la prévalence dans la population, pour des tailles de lots variables. Si l'on prend des lots de 30 individus (cercles en gris), l'intervalle de confiance est trop grand. A droite : les proportions d'estimations valables. Prévalences 5% et 15% (cercles noirs) : meilleure estimation pour toutes les tailles de lots.

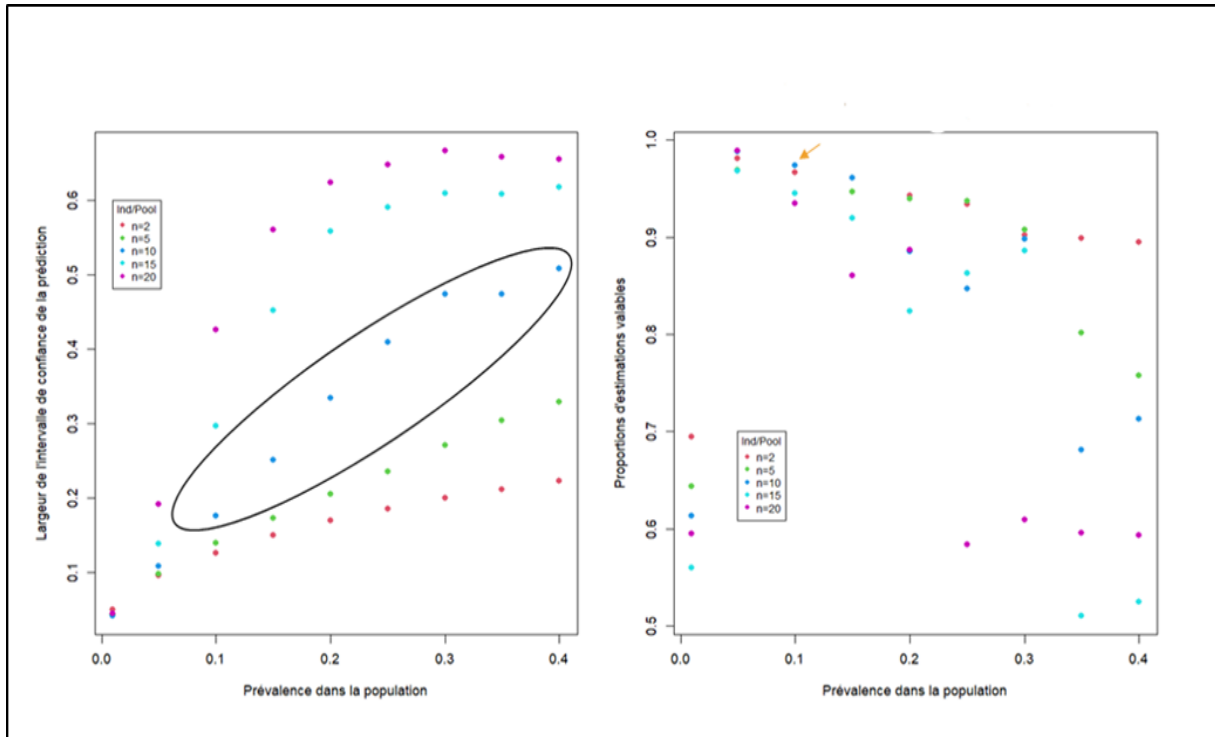


Fig. 8 Exemple pour 100 individus de *S. octona*. A gauche : pour le paramètre de la largeur de l'intervalle de confiance, le meilleur compromis est de faire des lots de 10 individus (cercle noir). A droite, les proportions d'estimations valables. Avec des lots de 10 individus, on capture plus de 90% de la véritable prévalence dans la population (flèche jaune).

Détection d'*A. cantonensis* chez les gastéropodes.

Sur chaque lot, la détection du ver a été réalisée en duplicata par qPCR Taqman, en ciblant la région AcanR3990 (Sears, Qvarnstrom, et Nutman 2021). Cette qPCR cible une région de microsatellites répétés dans le génome nucléaire du parasite, rendant cette PCR hautement sensible. La qPCR AcanR3990 a été validée sur un ADN génomique de ver *A. cantonensis* isolé d'un poumon de rat (voir l'article sur les rats). Cet ADN, d'une concentration de 2,31 ng/μl, a été dilué en série de 10 en 10 pour réaliser une gamme étalon allant de 100 pg à 1 fg d'ADN.

La composition du mélange réactionnel de 20 μl était la suivante :

- Matrice ADN : 1 à 5 μl
- Mix polymérase Accustart 2X : 10 μl
- Row low (50X): 0,4 μl
- Amorces AcanR3990 forward (10 μM): 1 μl
- Amorces AcanR3990 reverse (10 μM) : 1 μl
- Sonde AcanR3990 (10 μM) : 0,5 μl

- Eau distillée (qsp 20 µl) : 2,1 à 6,1 µl

La qPCR a été réalisée sur un thermocycleur AB7500 selon le programme suivant :

- 95°C pendant 2 min
- 40 cycles de :
 - 95°C pendant 20 s
 - 40°C pendant 1 min
 - 60°C pendant 30 s avec détection de fluorescence

Initialement, dans l'étude de Sears et al., la température était de 60°C pendant 20 s, mais le thermocycleur AB7500 ne tolère pas un temps inférieur pour cette étape.

Gamme étalon :

Une gamme étalon de 100pg à 1fg d'ADN de ver *A. cantonensis* a été réalisée à partir de l'ADN extrait d'un ver isolé d'un poumon de rat infecté. Cet ADN pur a donné une efficacité de PCR de 96%, jusqu'à 10fg d'ADN, validant ainsi la technique pour réaliser la détection du parasite dans les échantillons (Fig. 9).

Cependant la détection d'1 fg ADN n'est pas répétable car les 2 duplicats ne donnent pas les mêmes Ct. Aussi ce point a été retiré de la courbe étalon. Il pourrait s'agir d'une limitation technique de l'appareil pour cette très faible concentration.

Des tests de « spiking⁹ » pour contrôler les effets des inhibiteurs ont été réalisés sur un des standards d'ADN du ver adulte, en rajoutant 1 ou 5 µl d'ADN extrait d'escargot.

⁹ Couramment utilisée dans des techniques telles que la PCR et la qPCR l'ARN-seq (séquençage de l'ARN) et les expériences protéomiques pour garantir l'exactitude et la fiabilité des résultats. Cette technique consiste à l'ajout intentionnel d'une quantité connue d'une substance, souvent un acide nucléique ou une protéine, à un échantillon ou à un mélange réactionnel pour servir de référence ou de contrôle à diverses fins, telles que la quantification, la normalisation ou l'étalonnage. En ajoutant une quantité connue de la substance d'intérêt (spike) à l'échantillon, l'on peut déterminer avec précision la concentration ou mesurer l'efficacité d'un test ou d'une expérience particulière.

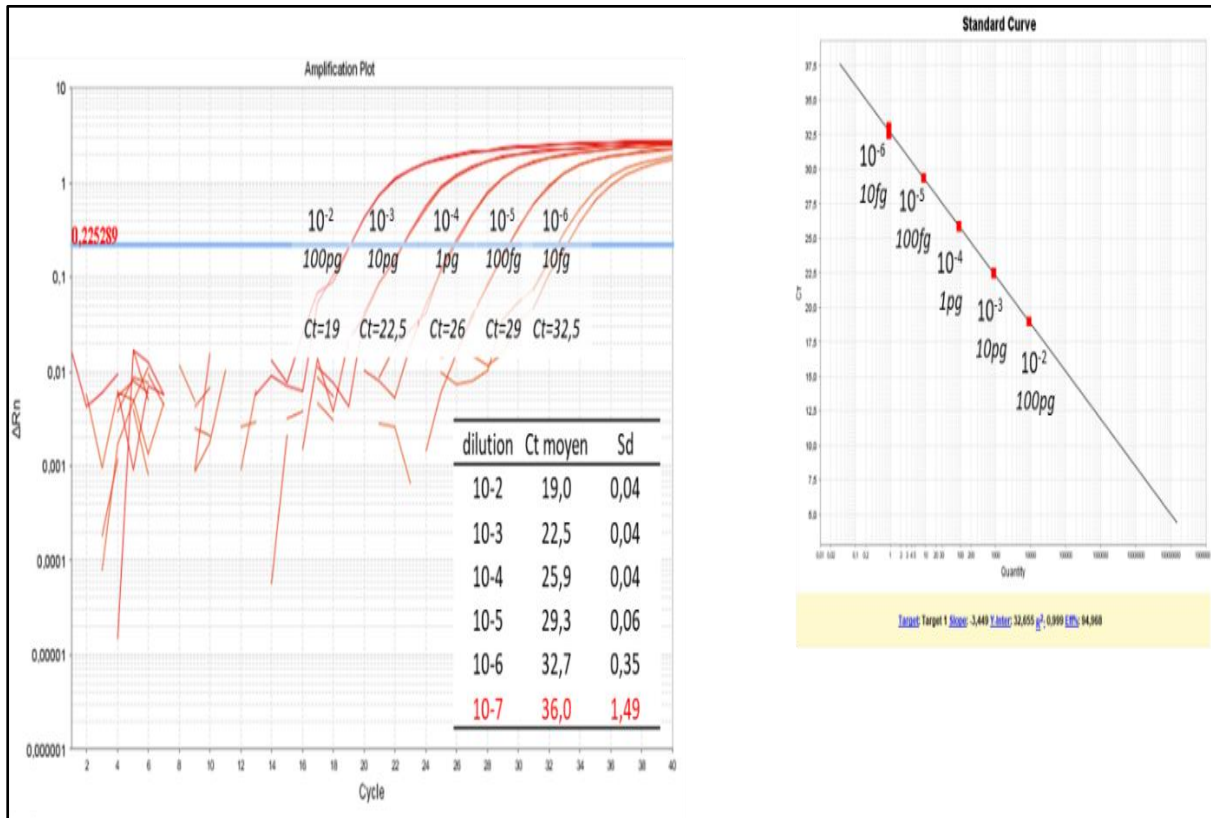


Fig.9 Gamme étalon de la qPCR AcanR3990 à partir d'ADNg d'*A. cantonensis*

Résultats

Identification des gastéropodes (morphologie et PCR-séquençage, sanger 16S)

Nous avons récolté 3631 gastéropodes sur les 8 sites (Tableau 5). L'identification morphologique suivie de tests PCR ont montré la présence de 14 espèces de gastéropodes (3 aquatiques et 11 terrestres) (Photos 4).

Peu de séquences mitochondriales 16S ont été identifiées pour ces espèces ou des espèces voisines. Les résultats de séquençage (Sanger) ont montré des chromatogrammes propres confirmant une séquence unique pour chaque lot de gastéropodes, cela indique bien qu'une seule espèce étaient identifiable dans chaque lot que nous avons préparé. Cependant, le signal Sanger était assez faible, et la PCR n'a pas fonctionné pour tous les échantillons de lots, suggérant la présence d'inhibiteurs de PCR, notamment pour les échantillons de *S. octona* (Tableau 6). Une espèce de limace de Timonette n'a pas pu être identifiée jusqu'à l'espèce. Les résultats Blast ont montré que cette espèce n'est pas *S. plebeia* trouvée à Damien mais fait partie de la famille des Veronicellidae.



Allopeas gracile (T. Hutton, 1834)



Autocopti (Urocoptola) grunneri
(Dunker, 1844)



Subulina octona (Bruguière, 1789)



Melanoides tuberculata (O.F.Müller, 1774)

Photos 4 Images prises de quelques escargots de nos échantillons

Tableau 5 Echantillonnage des gastéropodes

Sites N=8	Nombre de gastéropodes récoltés N= 3631	Mode de vie	Espèces (Nombre d'individus récoltés)
Belanger	547	Aquatique	<i>Tarebia granifera</i> (547)
Chatelain	500	Aquatique	<i>Melanoides tuberculata</i> (500)
Colminy	61	Terrestre	<i>Allopeas gracile</i> (61 ind.)
Damien	307	Terrestre	<i>Hispaniolana cf. dominicensis</i> (68) <i>Sarasinula plebeia</i> (7) <i>Bulimulus guadaloupensis</i> (2) <i>Subulina octona</i> (230)
Pothenot	480	Aquatique	<i>T. granifera</i> (480)
Poirier	31	Aquatique	<i>T. granifera</i> (20) <i>M. tuberculata</i> (10) <i>Planorbella duryi</i> (1)
Timonette	827	Aquatique Terrestre	<i>M. tuberculata</i> (42) <i>T. granifera</i> (750) Veronicellidae (35)
Village Noé	878	Terrestre	<i>Coryda cf. vigiensis</i> (673) <i>Macroceramus cf. lineatus</i> (39) <i>Autocoptis grunneri</i> (91) <i>Succinea ochracina</i> (2) <i>Haitipoma quaternatum</i> (73)

Tableau 6 Séquences recherchées à l'aide de BLAST. Une seule séquence est enregistrée et correspond à *S. plebeia*.

Espèces	Résultats PCR 16S mollusques
<i>Melanoides tuberculata</i>	Sanger n'a pas fonctionné
<i>Subulina octona</i>	Sanger n'a pas fonctionné
Veronicellidae (Damien)	Blast : <i>Sarasinula plebeia</i> (ID 100%)
Veronicellidae (Timonette)	Blast : le plus proche = <i>Veronicella cubensis</i> (ID 87%)
<i>Hispaniolana cf. dominicensis</i>	Blast : les plus proches = <i>Granodomus lima</i> (ID 80%) et <i>Hispaniolana angustata</i> (ID 80%)
<i>Coryda vigiensis</i>	Blast : le plus proche = <i>Helicopsis striata</i> (ID 80%)

Les stratégies de regroupement sont présentées dans le tableau 3 suite aux simulations pour effectuer les lots.

Au total, 41 lots de gastéropodes de 6 espèces différentes ont été analysés par qPCR

Tableau 7 Nombre de lots d'individus en fonction de la taille de l'échantillon initial.

Sites	Espèces	Nombre d'individus	Stratégies de lots
Damien	<i>Hispaniolana cf. dominicensis</i>	68	9 lots de 7 individus + 1 lot de 5 individus
Damien	<i>Sarasinula plebeia</i>	7	7 individus
Damien	<i>Subulina octona</i>	150	20 Tests individuels pour estimer la prévalence + 13 lots de 10 individus
Timonette	Limaces Veronicellidae	35	7 lots de 5 individus
Timonette	<i>Melanoides tuberculata</i>	52	4 lots de 10 individus + 1 lot de 12 individus
Village Noé	<i>Coryda vigiensis</i>	60	6 lots de 10 individus

Les lots de mollusques sont traités par qPCR en utilisant un volume de 5µl de matrice afin d'éviter de trop diluer les échantillons. Cependant l'analyse des courbes d'amplification est délicate car elles ne présentent pas le profil de la gamme étalon. En effet les courbes sont plus aplaties, laissant supposer une baisse de l'efficacité de la PCR, possiblement due à la présence d'inhibiteurs apportés par les tissus de mollusques (Adema 2021). Seulement 2 échantillons (1 lot de *S. octona* et 1 lot de limace Veronicellidae) présentent des courbes dépassant le seuil, et seulement pour un des deux réplicats techniques (Fig. 10).

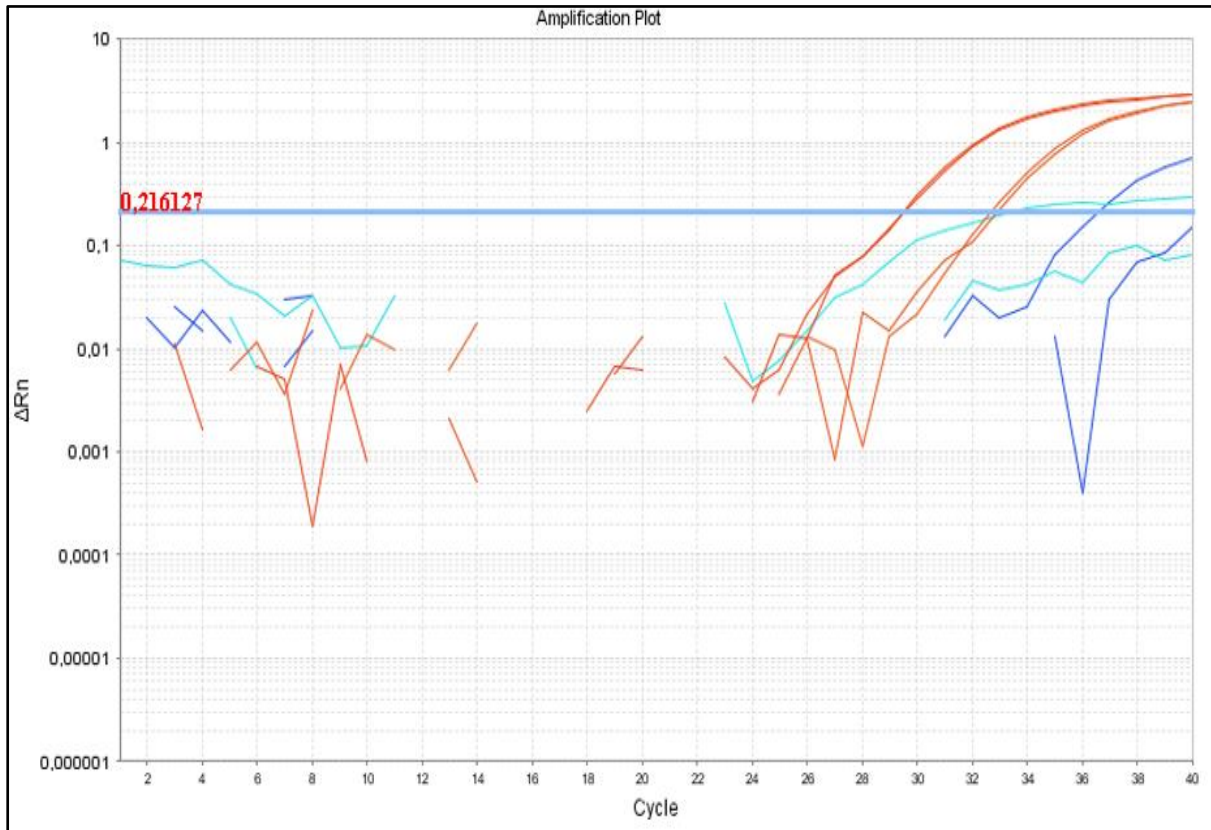


Fig. 10 Courbes d'amplification qPCR pour *A. cantonensis* chez les gastéropodes de l'étude. En rouge, un témoin positif (vers adultes *d'A. cantonensis* préalablement identifiés par PCR séquençage). Les deux réplicats qui dépassent le seuil de détection (ligne horizontale en bleu pâle) indiquent deux lots positifs : le lot de *S. octona* (bleu pâle, lot #8) et le lot de Veronicellidae (limace de Timonette, en bleu foncé). Un des deux réplicats de chaque lot dépasse le seuil de détection.

Pour l'espèce de limace, Veronicellidae de Timonette, l'estimation de probabilité maximale de prévalence est de 3,04 % avec un intervalle de confiance de 0,18% – 13%. Parmi les 7 lots de 5 individus examinés, l'un d'un était positif pour le parasite suggérant qu'au moins un individu était positif dans le lot. Pour *S. octona*, la prévalence estimée est de 0,69 % avec un intervalle de confiance allant de 0,04% à 3%. Au total, 33 lots (20 lots de 10 et 20 extractions individuels) ont été constitués et un lot de 20 individus était positif (Fig. 11).

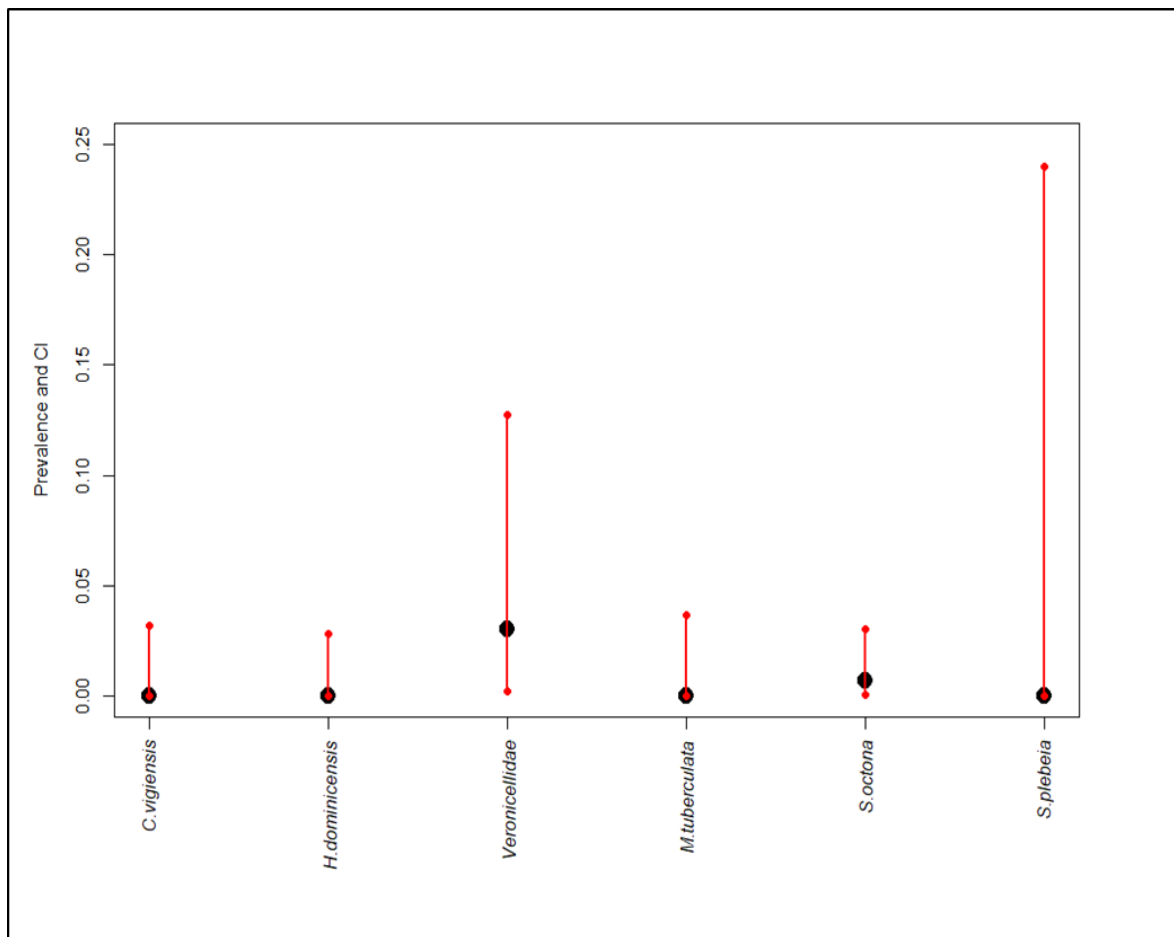


Fig. 11 Prévalence du parasite (*Maximum Likelihood Estimate*) (points noirs) chez les espèces de gastéropodes espèce et Intervalle de confiance (segments rouges).

Discussion

Les tests qPCR ont montré une gamme d'amplification de l'ADN génomique satisfaisante, sauf pour les réplicats, qui n'étaient pas reproductibles en raison d'une concentration trop faible. Des problèmes d'efficacité de la qPCR ont été observés, potentiellement non liés à des inhibiteurs de PCR provenant des coquilles des escargots comme on pourrait le penser, et les tests de « spiking » n'ont pas amélioré de manière significative les résultats. Ainsi, nous pensons qu'il n'y a pas de problème d'inhibiteurs. Nous émettons plutôt l'hypothèse qu'il n'y a pas assez de matière d'ADN du parasite dans nos échantillons. En effet, les conditions de conservation de ces spécimens pendant 2 ans dans l'alcool ont probablement détérioré la matrice d'ADN, malgré nos efforts de désorption de l'alcool. Nous pensons que le temps passé dans l'alcool a dû détériorer l'ADN, affectant ainsi les résultats et conduisant à des faux négatifs. L'utilisation d'échantillons frais dans le futur pourrait améliorer les étapes d'extraction d'ADN et de qPCR, favorisant ainsi la détection du parasite par cette

méthode. D'autre part des chercheurs ont démontré que la sensibilité et la spécificité des tests par lots dépendent à la fois du nombre d'échantillons infectés (individus) dans un lot et de la concentration de « biomarqueur » ciblé, dans notre cas l'ADN d'*A. cantonensis*, de chaque échantillon infecté. Ce dernier selon certains auteurs est influencé par le stade de l'infection (N. T. Nguyen et al. 2019).

L'utilisation de la technique de qPCR AcanR3990 a permis de détecter au minimum deux échantillons (lots) positifs correspondant à l'espèce *S. octona* collectée à Damien et une limace de la famille des Veronicellidae collectée sur le site de Timonette, concordant ainsi avec la présence du parasite détectée chez les rats de ces deux sites. Ces espèces semblent contribuer à maintenir le parasite dans l'environnement.

Nos résultats confirment la présence d'*A. cantonensis* en Haïti et ce dans deux régions du pays : un site urbain et un site rural. Il s'agit de la première identification de ce nématode pathogène chez les gastéropodes dans le pays. Sur l'île d'Hispaniola, c'est le deuxième signalement du parasite chez l'espèce *S. octona* (Vargas, Gomez Perez, et Malek 1992) et cette présente étude). Cette espèce a également été trouvée infectée par le parasite dans plusieurs endroits du monde, notamment à Cuba, au Brésil et à Hawaï (Voir Article No. 1).

Subulina octona se trouve dans la litière humide du sol dans les forêts tropicales et subtropicales, ainsi que dans des endroits ombragés tels que les jardins domestiques fleuris et les potagers (Boffi 1979; Araújo et Bessa 1993), ainsi que dans les pépinières et les fermes (Kim et al. 2014). Cette espèce peut se retrouver également dans des habitats ouverts (Alvarez et Willig 1993). *Subulina octona* est un détritivore qui se nourrit principalement de matériaux végétaux et de débris. Elle sert d'hôte intermédiaire pour le trématode *Postharmostomum gallinum*, responsable de l'infection chez les poulets domestiques (Juříčková 2006). Elle présente une large répartition géographique, principalement en raison de l'activité humaine (Durço et al. 2013). *Subulina octona* est caractérisée par une activité nocturne importante, similaire à celle observée chez les mollusques (de Almeida Bessa et de Barros Araújo 1995) tels que *Lissachatina fulica* et les rongeurs en général, favorisant ainsi les rencontres avec les rats. *Lissachatina fulica* une espèce souvent trouvée infectée par le parasite dans le monde n'a pas encore été trouvée en Haïti mais sur l'île il existe 19 espèces d'escargots qui sont des hôtes intermédiaires du parasite car naturellement trouvés infectés dans d'autres pays (Voir Article No. 1).

Les études sur le comportement des mollusques indiquent qu'ils préfèrent les endroits

humides et ombragés pour éviter la dessiccation, les utilisant également comme sites de repos, d'alimentation, de ponte, d'hibernation (Leahy 1981). Ce comportement expose les mollusques au contact des larves de stades L1 présentes dans les excréments des rats, car ces larves ont également une préférence pour ces milieux. Des études antérieures avaient trouvé des espèces de limaces appartenant à la famille des Veronicellidae comme *Laeviculis alte* (Asato et al. 2004) *Veronicella siamensis* (Crook, Fulton, et Supanwong 1968) et *V.cubensis* (Hollingsworth et al. 2007 ; Kim et al. 2014) naturellement infectés par *A. cantonensis* (Voir Article No.2). Kim et collègues dans leur étude sur la diversité des gastéropodes hôtes d'*A. cantonensis* ont souligné que des espèces herbivores comme *V. cubensis*, des espèces prédatrices comme *Euglandina rosea*, et des détritivores comme *S. octona*, ont toutes été testées positives, malgré leurs différences alimentaires. Les auteurs concluent ainsi : « Par conséquent, la diversité extrêmement large de gastéropodes dans lesquels *A. cantonensis* a été trouvé, indique que presque tout gastéropode terrestre ou d'eau douce peut avoir le potentiel de transporter et de transmettre le parasite, ce qui a de larges implications pour sa propagation continue ». (Kim et al. 2014).

Remerciements

Nous remercions l'équipe cubaine de malacologue pour l'identification morphologiques des espèces d'escargots :

A.A. Vazquez et A. Alba (UMR 5244 IHPE, Université de Perpignan, France) ;

J. Sanchez (Laboratorio de Malacología, CIDR, Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, Cuba)

L. Alvarez-Lajonchere (Museo de Historia Natural Felipe Poey, Universidad de La Habana, Cuba).

Intérêts concurrents

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont pas d'intérêts concurrents.

D. Discussion générale et Perspectives

Comparaison des diagnostics macroscopiques et moléculaires

Les rats pris individuellement ont été diagnostiqués pour la recherche et l'identification morphologique du parasite, puis des tissus de leur poumons ont été traités pour les analyses moléculaires. Plusieurs méthodes sont employées permettant de confirmer la présence du parasite dans des échantillons biologiques ; l'identification morphologique et des techniques moléculaires telles que la PCR, la qPCR et la LAMP (R. Chen et al. 2011 ; Qvarnstrom, Bishop, et da Silva 2013) . Dans notre étude sur les rats, des analyses moléculaires ont été réalisées à l'aide d'un test de PCR conventionnel grâce auquel nous avons mesuré une prévalence 4 fois supérieure à la seule recherche de vers adultes. Il est tout à fait possible que les poumons de rats, dans lesquels aucun ver adulte n'a été identifié, puissent renfermer des œufs et/ou des larves de stade L1, voire simplement de l'ADN laissé par des vers adultes qui auraient échappé à la détection lors de l'autopsie. La PCR ne permet pas de différencier les divers stades de vie du parasite, ce qui signifie qu'elle a produit un résultat positif pour tout échantillon contenant de l'ADN d'*A. cantonensis*, que ce soit des œufs, des fragments de vers, ou des cellules résiduelles excrétées par les vers adultes. Les résultats obtenus sur les rats soulignent l'importance de la confirmation moléculaire pour confirmer les infections à *A. cantonensis* car ces techniques offrent une meilleure sensibilité. L'écart observé entre l'identification des vers basée uniquement sur leurs caractéristiques morphologiques et la PCR a pu aussi être due au manque d'expérience de l'équipe. En effet, l'identification morphologique du parasite nécessite des parasitologues hautement qualifiés (Newton et al. 1998; Roberts et Janovy Jr 2000).

Nous avons calculé l'intervalle de confiance et fait une estimation de la prévalence d'*A. cantonensis* dans nos échantillons de gastéropodes, examinés à l'aide des stratégies d'échantillonnage groupées. Les estimations des limites de l'intervalle de confiance étaient souvent très larges. Il a été prouvé que la sensibilité et la spécificité des tests moléculaires dépendent du nombre d'échantillons infectés et de la concentration en ADN, influencés par le stade de l'infection (Williams et Moffitt 2001). Les problèmes de reproductibilité rencontrés et les tests de « spiking » qui n'ont pas amélioré nos résultats suggèrent des concentrations trop faibles d'ADN du parasite dans les lots. La

conservation des échantillons dans l'alcool pendant deux ans, suite à des problèmes dans la logistique d'acheminement des échantillons entre Haïti et la France, a dû entraîner une dégradation de l'ADN, conduisant à des faux négatifs. Ainsi, nous pensons pour de meilleurs résultats, les futures études devraient utiliser des échantillons frais.

Limites liées à l'échantillonnage

Les rats ont été capturés sur 7 des 8 sites échantillonnés. Les résultats des captures varient grandement en fonction des sites. Deux raisons peuvent expliquer ces résultats. Tout d'abord, les contraintes logistiques liées à la crise socio-politique dans le pays nous ont empêché de consacrer davantage de temps à certains sites. Deuxièmement, la présence ou l'absence de collaborateurs dévoués sur les sites a également joué un rôle. En effet, à Damien et à Timonette, nous avons bénéficié de la collaboration de personnes motivées qui se levaient tôt le matin pour vérifier les pièges. Des problèmes de fabrication sur certains pièges ont conduit à ce que certains rats capturés parviennent à s'échapper après avoir passé un trop long moment à se débattre dans le piège. Grâce à ces collaborateurs de terrain, les entrées de ces pièges défectueux ont été bloquées, empêchant ainsi aux rats de s'échapper.

Prévalence chez les hôtes.

Dans notre étude, seules deux espèces de rats (*R. norvegicus* et *R. rattus*) ont été détectées sur les sites échantillonnés et étaient infectées par le parasite. L'analyse moléculaire a validé l'identification de ces deux espèces et a corrigé une erreur d'attribution survenue lors de la première identification basée sur les caractéristiques morphologiques des rats, concernant 6 individus, notamment des juvéniles ou des individus à queue coupée. Il n'est pas étonnant que *R. norvegicus* soit la seule espèce trouvée à Damien, étant donné que cette espèce est abondante dans les villes. Cependant, nos résultats sont contraires à ceux de Raccurt et collègues (Raccurt, Blaise, et Durette-Desset 2003) qui ont capturé seulement 4 rats à Damien identifiés comme *R. norvegicus* parmi les 15 capturés sur ce site. Toutefois, ces chercheurs se sont uniquement appuyés sur les caractéristiques morphologiques des individus pour les classer en tant qu'espèces. Dans notre étude, *R. norvegicus* a également été échantillonné sur quatre sites en milieu rural tels que Belanger, Colminy, Poirier, et Timonette. Nous avons constaté que cette espèce était infectée dans deux des quatre

sites, à savoir Belanger et Timonette.

Notre étude a révélé une prévalence globale d'*A. cantonensis* chez les deux espèces de rats de 32,9 % [22 % - 45 %]. Aucune différence significative n'était démontrée entre les espèces, et l'analyse GLM indique qu'aucune des variables prédictives (âge, saison, sexe) n'influence de manière significative la prévalence du parasite dans les populations de rats étudiées. Malheureusement, nous n'avons pas pu analyser tous les facteurs explicatifs éventuels, notamment environnementaux comme l'abondance des populations et le régime alimentaire. De plus, les faibles effectifs de notre échantillon réduisent considérablement la capacité des tests à détecter des différences significatives.

Le taux de prévalence du parasite dans les populations de rats varie considérablement d'un pays à l'autre et d'une ville à l'autre, oscillant entre 3 % et 100 % (Qiao-Ping Wang et al. 2008). Cependant, peu d'études ont comparé statistiquement la prévalence entre les deux espèces. Par exemple, dans plusieurs villes de la Jamaïque Waugh et collègues (Waugh et al. 2016) ont observé une prévalence significativement plus élevée chez *R. rattus*, tout comme Rael et collègues (Rael et al. 2018) où la prévalence était plus élevée chez *R. norvegicus* capturés dans des quartiers à la Nouvelle-Orléans. Nos résultats sont similaires à ceux de Lindo et collègues (Lindo et al. 2002) qui ont constaté que les taux d'infection ne différaient pas de manière significative entre *R. rattus* et *R. norvegicus*.

Plusieurs études ne trouvent pas de corrélation statistique entre la prévalence du parasite et des variables telles que le sexe et l'âge des rats. Nos résultats ne montrent pas de différence significative de prévalence entre les mâles et les femelles. Cependant, des études antérieures suggèrent que les mâles, en raison de leur comportement plus actif et de leur tendance à se disperser davantage, peuvent être plus susceptibles d'être infectés. Nos résultats sont en accord avec ceux de Martin-Alonso et collègues (Martin-Alonso et al. 2011) qui ont observé des niveaux élevés d'infection par *A. cantonensis* chez *R. rattus*, sans différence significative entre les sexes ou les groupes d'âge. Simões et collègues (Simões et al. 2014) ont également constaté une prévalence plus élevée chez les rats plus âgés et les femelles, suggérant que ces dernières jouent un rôle plus important dans le maintien du parasite à l'échelle locale en raison de leur taux de prévalence et d'abondance d'infection plus élevés. Nos résultats sont cohérents avec d'autres études montrant des taux d'infection similaires entre mâles et femelles, mais une prévalence plus élevée chez les rats adultes, ce qui

pourrait être lié à une probabilité accrue de consommation d'hôtes infectés avec l'âge. Il est très probable que les rats adultes reflètent l'augmentation progressive au fil du temps de la probabilité qu'un rat individuel consomme un hôte intermédiaire infecté (Estano, Bordado, et Paller 2021).

La prévalence du parasite chez les rongeurs selon les saisons a été étudiée. Certaines recherches n'ont pas n'ont plus trouvé de variation saisonnière significative, tandis que d'autres ont observé une augmentation pendant la saison des pluies. Par exemple, Estano et collègues aux Philippines en échantillonnant des rats dans les sites résidentiels, agricoles et agroforestiers n'ont pas trouvé de différence de prévalence entre les saisons sèches et pluvieuses chez trois espèces de rats *Rattus tanezumi*, *R. norvegicus* et *R. exulans* suggérant que l'humidité constante maintient les parasites toute l'année (Estano, Bordado, et Paller 2021). En revanche, Simões et collègues ont noté une prévalence constante d'*A. cantonensis* mais une abondance plus élevée pendant la saison sèche dans une zone urbaine de Trindade, municipalité de São Gonçalo, au Brésil suggérant une augmentation des infections pendant la saison des pluies (Simoes et al. 2014). Les hormones de stress induites par la saison sèche pourraient expliquer ce taux de prévalence élevé durant cette saison selon les auteurs. Les individus stressés sont incapables de moduler l'infection parasitaire et présentent donc une charge parasitaire élevée. Néanmoins, les auteurs admettent qu'il n'existe aucune étude sur les changements saisonniers des glucocorticoïdes chez les mammifères tropicaux pour étayer cette hypothèse.

L'estimation de la prévalence chez les gastéropodes a révélé que deux espèces, une limace et l'escargot *S. octona*, semblent maintenir le parasite dans l'environnement. Nos résultats confirment la présence et l'endémicité de *A. cantonensis* en Haïti, dans deux régions du pays, marquant ainsi la première identification de ce nématode pathogène chez les gastéropodes dans ce pays. D'autres espèces de gastéropodes pourraient être impliquées en Haïti. Par exemple, *V. plebeia* de nos chantillons est positive dans des études antérieures et environ. De plus, bien que *A. fulica*, une espèce souvent infectée par le parasite dans le monde, n'ait pas encore été trouvée en Haïti, l'île compte 19 espèces d'escargots qui sont des hôtes intermédiaires du parasite car ils sont naturellement infectés dans d'autres pays (voir article no.2)

Répartition du parasite dans les différents sites

Quatre sites présentaient des rats infectés par le parasite : trois sites dans l'Artibonite (milieu rural) ; Chatelain, Timonette, Village Noé - et un site à Port-au-Prince, Damien (milieu urbain). Ces résultats indiquent que la distribution actuelle du parasite en Haïti s'étend au-delà de Port-au-Prince, rendant très plausible sa présence potentielle dans d'autres régions du pays.

Nous avons anticipé la présence d'*A. cantonensis* dans toutes les régions d'Haïti, principalement pendant les saisons des pluies, en particulier dans les zones humides telles que les rizières, et de manière moins fréquente dans les zones sèches où les cultures sont moins exigeantes en eau. Les précipitations sont cruciales pour la survie et la transmission des larves à leurs hôtes, car, d'une part, elles protègent les larves de la déshydratation, et d'autre part, elles favorisent la croissance de la végétation, ce qui accroît la disponibilité de nourriture pour les hôtes potentiels. Nous avons donc formulé l'hypothèse que les zones humides cultivées (telles que les rizières) ou non, peuvent contribuer à entretenir le cycle du parasite ce qui est également valable pour les zones urbaines. En effet, un milieu urbain, notamment dans les quartiers précaires transformés en décharges à ciel ouvert et la création de petits jardins potagers de subsistance, pourrait favoriser le maintien du parasite. Les déchets anthropiques alimentent les rats, augmentant leur abondance et facilitant ainsi les rencontres entre les rats et les gastéropodes. En revanche, les saisons sèches auraient peut-être un impact négatif sur la survie des larves, fermant ainsi le filtre de rencontre.

C'est la deuxième étude après celle de Raccurt et collègues qui identifie la présence du parasite chez les rats à Damien, érigeant ainsi ce site en un foyer persistant et endémique pour le parasite (Raccurt, Blaise, et Durette-Desset 2003) . Dans un rayon d'1 km autour du point de piégeage à Damien, aucune zone humide n'est présente (0%) (voir figure 6), mais plutôt des structures bâties (25%) constituées d'habitats humains, ce qui accroît la disponibilité de nourriture pour les rats grâce aux déchets urbains. Par ailleurs, le site de Damien sert de ferme expérimentale pour les étudiants en agronomie, abritant ainsi de nombreuses pépinières d'arbres fruitiers ainsi que des élevages de chèvres, de porcs et de lapins. Le sol reste constamment humide toute l'année en raison de l'arrosage continu des pépinières et de la présence d'arbres imposants pour fournir de l'ombre. Des recherches analysant les conditions environnementales locales, telles que la végétation, l'ombrage et le type de sol, démontrent que ces variables à une échelle locale jouent également un rôle important

crucial dans la persistance des parasites *H. contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Oesophagostomum columbianum* et *Trichuris* spp. (Berbigier et al. 1990 ; Larsen et Roepstorff 1999). Ces caractéristiques ont pu créer des conditions propices à une prolifération de rats et de gastéropodes, établissant potentiellement des conditions favorables à la réalisation du cycle du parasite.

Timonette est un jardin où l'on trouve principalement des cocotiers, des bananiers et d'autres plantes destinées à l'alimentation. Environ 80 % de la zone dans un rayon d'1 km est dédiée à des cultures. Le site est également proche d'une usine de transformation du riz, ce qui encourage les rats à se déplacer entre l'usine et le jardin. Ainsi, la disponibilité de nourriture est constante tout au long de l'année. La nourriture présente à profusion favorise potentiellement la prolifération des rats et des gastéropodes, facilitant ainsi les rencontres entre les parasites et leurs hôtes.

Le site de Chatelain est soumis aux débordements du fleuve de l'Artibonite, avec 89 % de sa surface occupée par des cultures. Il demeure humide tout au long de l'année, même pendant les saisons sèches, grâce à des canaux d'irrigation qui irriguent les cultures de riz. En revanche, le Village Noé est un site sec, où 44 % du sol est dépourvu de végétation. Les habitants de ce village, qui sont des survivants d'une inondation provenant d'un autre village, parcourent 5 à 6 kilomètres pour obtenir de l'eau. La zone est caractérisée par la prédominance de plantes xérophytes, aux feuilles transformées en épines, et les cultures représentent 52 % de l'occupation du sol. Colminy, une autre zone sèche où l'on trouve des cultures d'oignons et de piments est négatif dans notre étude. Les rats positifs pour le parasite ont été déjà trouvés dans de nombreux endroits tels que Tenerife, Hawaï et la Polynésie où il manque de rizières (voir article No2). Nos résultats suggèrent que les rizières et les zones humides en général sont des habitats cruciaux pour la survie des larves L1, mais uniquement à l'échelle locale.

Situation phylogénétique des échantillons haïtiens

Les analyses de phylogénie par Maximum-Likelihood et Smart Model Selection des vers adultes ont identifié un clade, II-G, regroupant des souches des Caraïbes (Guadeloupe), mais aussi de l'Amérique du Sud (Brésil), du Pacifique Sud, Océanie (Polynésie française), et dans le Pacifique (Hawaï Japon). Tien et collègues ont révélé six clades dans le monde, le clade II-G étant répandu dans les Caraïbes et en Amérique du Sud (Tian et al. 2023). Cowie et collègues collaborateurs (Cowie, Malik, et Morgan 2023) suggèrent l'origine d'*A. cantonensis* en Asie du Sud-Est. Une

similarité génétique entre les souches envahissantes des régions éloignées diffère de la diversité génétique des souches asiatiques. Červená et collègues ont conclu qu'il existe un phénotype envahissant avec une forte composante génétique (Červená et al. 2019). Selon certains chercheurs la propagation géographique rapide de ce parasite coïncide avec la mondialisation et a probablement été facilitée par le transport involontaire d'animaux hôtes infectés comme les rats dans des cargos et des avions (Cowie et al. 2022 ; Cowie, Malik, et Morgan 2023). L'origine précise de la souche haïtienne demeure incertaine dans l'état actuel des connaissances. Il serait trop spéculatif d'affirmer une origine brésilienne, japonaise ou guadeloupéenne pour nos souches. Pour avancer de telles hypothèses, il aurait été nécessaire de connaître l'étendue de la diversité d'*A. cantonensis* dans d'autres régions qui auraient pu être la population source (Červená et al. 2019) même s'il existe des échanges historiques entre ces pays et Haïti (Gusti-Klara Gaillard, historienne communications personnelles). Les échanges commerciaux avec le Japon remontent à 1926 avec des périodes de coupures (1928-1934 ; et 1938-1944) pour reprendre de 1945 à 1950. (Figure 12) (Gaillard-Pourchet 1991). Pour l'Amérique Centrale et les Antilles, les données remontent à 1966-1967 (Gaillard-Pourchet 1991). Nous supposons que le parasite est entré en Haïti à travers les échanges touristiques et commerciaux par bateaux avec les rats.

Valeur du commerce extérieur d'Haïti (51)
avec différents pays de 1916-17 à 1949-50
(en pourcentage)

PAYS	1916-17 à 1925-26	1926-27 à 1935-36	1936-37 à 1945-46	1946-47 à 1949-50
ETATS-UNIS	56,89	36,16	66,20	69,32
FRANCE	27,78	28,35	3,35	0,67
ANGLETERRE	4,99	9,27	9,60	5,30
ALLEMAGNE	---	4,21	1,45	0,27
BELGIQUE	---	4,42	2,91	7,12
ITALIE	---	3,65	0,77	4,22
COLOMBIE	---	---	1,34	0,19
ARGENTINE	---	---	0,69	0,06
MEXIQUE	---	---	2,12	0,47
JAPON	---	2,52	1,45	0,01

A partir de 1952, le commerce franco-haïtien connaîtra un regain d'intensité, limité par les positions acquises par la Belgique et l'Italie dans les échanges extérieurs d'Haïti. Mais les Etats-Unis demeureront le premier partenaire commercial. Les statistiques suivantes de l'année 1966-67 illustrent cette tendance (52).

Fig. 12 Echanges commerciaux entre Haïti quelques pays dont le Japon (Source (Gaillard-Pourchet 1991). Photo prise et envoyée par l'auteure (Avec l'aimable autorisation de l'auteure).

Cas humains

Aucun cas humain n'a encore été détecté de manière irréfutable sur l'île contrairement à d'autres pays des Caraïbes où des cas humains ont été détectés (Aguilar, Morera, et Pascual 1981; Barrow, StRose, et Lindo 1996; Dard et al. 2017 ; 2020). Cependant, d'une manière générale le mode de contamination repose, selon Cowie et collègues , sur des suppositions ((Cowie, Malik, et Morgan 2023). A la Martinique, Dard et al avancent l'hypothèse que le mode de transmission chez les nourrissons était lié à de mauvaises conditions de vie avec une consommation probablement accidentelle d'escargots ou de limaces contaminés en jouant dehors. Tandis que pour les adultes,

la contamination était plutôt liée à une déficience intellectuelle associée à des comportements alimentaires à risque (Dard et al. 2017). En Guadeloupe une PCR en temps réel spécifique à *A. cantonensis* a été réalisée sur le LCR d'un nourrisson de 8 mois qui présentait une histoire de fièvre fluctuante depuis 5 jours, d'anorexie, de vomissements, d'irritabilité et de diarrhée s'est révélée positive et le patient a donc été diagnostiqué avec une angiostrongylose du système nerveux central (SNC) (Dard et al. 2017). Dans cette étude, l'enquête environnementale sur la présence d'*A. cantonensis* dans la population locale de mollusques a montré que 11 des 34 *A. fulica* analysés (32,4 %) se sont révélés positifs à la présence d'*A. cantonensis* par PCR en temps réel. Les auteurs ont émis l'hypothèse selon laquelle l'enfant étant trop jeune pour manger du poisson ou des mollusques crus, une transmission larvaire à la maison soit directement par léchage de mollusques infectés, soit indirectement par transmission manuelle après contact avec des mollusques dans le jardin était la plus probable.

En Haïti, les diagnostics de détection des méningites à éosinophiles parasites n'existent pas. Les diagnostics sont dirigés pour l'instant uniquement vers la recherche des bactéries méningocoques. Pourtant, le risque pour la population locale n'est probablement pas négligeable. Les enfants, les personnes en déficiences mentales sont donc les plus à risques. Les infections peuvent être dues à une ingestion accidentelle d'hôtes intermédiaires contaminés, ou de larves via la consommation d'eau en contenant (Pascual, Bouli, et Aguiar 1981). L'eau potable contaminée peut être une source potentielle d'infection par *A. cantonensis* pour les humains (Wallace et Rosen 1969). Une étude a mis en évidence que des stades infectieux d'*A. cantonensis* étaient libérés dans l'eau à partir d'*A. fulica* et *S. octona* abimés ou non et ont survécu dans l'eau jusqu'à 72 heures (Cheng et Alicata 1964). Des réservoirs pour collecter l'eau de pluie sont érigés à divers endroits du pays, et cette eau est utilisée à diverses fins (cuisine, lavage). Au cours de quelques discussions avec des résidents, aucun cas d'escargot noyé dans ces réservoirs en recherchant l'humidité offerte par les parois de ces derniers n'a encore été signalé. Cependant, il existe un risque que cela se produise (Howe et al. 2019). D'autre part, même si les Haïtiens ne mangent généralement pas de mollusques ou de crustacés crus, et si les légumes crus sont rarement consommés, les habitudes alimentaires d'un peuple peuvent évoluer. Des témoignages affirment que certains Haïtiens qui ont vécu à l'étranger ou y vivent encore, en vacances en Haïti ont l'habitude de ramasser des escargots à mains nues

avant de les cuisiner. À Kenscoff une commune dans les hauteurs dans en périphérie de Port -au Prince existe une ferme d'élevage d'escargot qui sont vendus congelés dans les supermarchés de la capitale.

Perspectives

Ce travail constitue la première étude en Haïti portant sur *A. cantonensis* concernant à la fois hôtes définitifs et intermédiaires. De manière préliminaire, nos résultats suggèrent que l'endémicité d'*A. cantonensis* en Haïti serait principalement attribuable à deux catégories de mollusques, le gastéropode *S. octona* et les limaces de la famille des Veronicellidae et les deux espèces de rats *R. rattus* et *R. norvegicus*.

Notre recherche a mis en évidence la présence du parasite au sein des populations de rongeurs et de gastéropodes et soulignent l'importance de comprendre la dynamique entre ces hôtes et le parasite pour maintenir le cycle de transmission. Cependant, localement, la manière dont les rats contractent l'infection demeure inconnue. Des études sur le régime alimentaire des rats sont nécessaires afin de déterminer quelles espèces de gastéropodes contribuent davantage au maintien du cycle du parasite à l'échelle locale. Une seule étude a cherché à établir un lien entre la prévalence d'*A. cantonensis* chez *R. rattus* et son régime alimentaire au Japon, sur l'île de Yoron, une région comprenant des champs de canne à sucre et de petites forêts (Noda et al. 1987). Dans cette zone, où une faible prévalence a été observée chez cette espèce, les auteurs suggèrent que les plantes constituent la principale source de nourriture pour *R. rattus*, ce qui expliquerait cette faible prévalence. Les études futures devraient cibler diverses échelles spatiales locales en échantillonnant d'autres zones du pays, permettant ainsi de comprendre les facteurs biotiques (prédation des rats sur les gastéropodes), et abiotiques (température, humidité) qui influent sur la prévalence du parasite.

Les diagnostics moléculaires par PCR ont révélé une prévalence plus élevée que les diagnostics macroscopiques basés sur l'identification morphologique des vers adultes. La taille de notre échantillon de rats était très limitée, et cela a joué sur la précision de nos estimations, sur la puissance et la robustesse des tests statistiques empêchant une interprétation solide des facteurs de variation. L'insécurité qui a régné en Haïti lors des campagnes de d'échantillonnage et jusqu'au moment où l'on écrit ces phrases nous a empêché d'augmenter la taille de l'échantillon et de répliquer les échantillonnages à d'autres saisons et sites. Il est important d'investiguer d'autres

régions du pays pour y établir la prévalence d'*A. cantonensis* chez les rats et les gastéropodes, afin de mieux documenter la distribution spatiale de ce parasite ainsi que la communauté d'hôtes intermédiaires et paraténiques qui contribuent au maintien de la transmission.

Il est également impératif d'informer la population sur les risques potentiels liés à la consommation d'hôtes intermédiaires contaminés et de promouvoir des pratiques alimentaires sécuritaires. Parallèlement, il est essentiel d'intégrer dans les hôpitaux et centres de santé du pays les méthodes de diagnostics moléculaires visant à détecter les cas de méningites à éosinophiles causés par des parasites.

Les autorités de santé en Haïti doivent prendre en compte le potentiel risque pour la santé humaine lié à l'évolution des habitudes alimentaires et à la possibilité d'une ingestion accidentelle d'hôtes intermédiaires infectés. Les prochaines étapes de recherche devraient se concentrer sur une approche multidisciplinaire, intégrant la parasitologie, l'écologie du paysage et l'épidémiologie afin de mieux appréhender la prévalence, la distribution et les risques associés à *A. cantonensis* en Haïti.

E. Références bibliographiques

Adamo, Shelley A., et D. Hughes. 2012. « The strings of the puppet master: how parasites change host behavior ». *Host manipulation by parasites* 36: 51.

Adema, Coen M. 2021. « Sticky Problems: Extraction of Nucleic Acids from Molluscs ». *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 376 (1825): 20200162. <https://doi.org/10.1098/rstb.2020.0162>.

Aguiar, Ph, P. Morera, et J. Pascual. 1981. « 1st Record of *Angiostrongylus cantonensis* in Cuba ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 30 (5): 963-65. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1981.30.963>.

Al Hammoud, Roukaya, Stacy L. Nayes, James R. Murphy, Gloria P. Heresi, Ian J. Butler, et Norma Perez. 2017. « *Angiostrongylus cantonensis* Meningitis and Myelitis, Texas, USA ». *Emerging Infectious Diseases* 23 (6): 1037-38. <https://doi.org/10.3201/eid2306.161683>.

Alicata, Je. 1962. « Observations on occurrence of rat lungworm, *Angiostrongylus cantonensis* in New Caledonia and Fiji ». *Journal of Parasitology* 48 (4): 595-. <https://doi.org/10.2307/3274918>.

Almeida Bessa, Elisaheth C. de, et José L. de Barros Araújo. 1995. " Oviposição, tamanho de ovos e medida do comprimento da concha em diferentes fases do desenvolvimento de *Subulina octona* (Bruguière, 1789) (Pulmonata, Subulinidae) em condições de laboratório"

Alvarez, Javier, et Michael R. Willig. 1993. « Effects of treefall gaps on the density of land snails in the Luquillo Experimental Forest of Puerto Rico ». *Biotropica*, 100-110.

Andersen, E., Dj Gubler, K. Sorensen, J. Beddard, et Lr Ash. 1986. « 1st Report of *Angiostrongylus cantonensis* in Puerto-Rico ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 35 (2): 319-22. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1986.35.319>.

Anderson, Roy Clayton. 1978. « Keys to genera of the superfamily Metastrongyloidea ». *CIH Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates*. 5. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1573668924513317632>.

Anderson, Roy Clayton, Alain Gabriel Chabaud, et Sheila Willmott. 2009. *Keys to the nematode parasites of vertebrates: archival volume*. Cabi.

Andrade, Gabriel Costa de, Joao Rafael de Oliveira Dias, Andre Maia, Liliane de Almeida Kanecadan, Nilva Simeren Bueno Moraes, Rubens Belfort Junior, Jade Marie Edenvirg Lasiste, et Miguel N. Burnier. 2018. « Intravitreal *Angiostrongylus cantonensis*: first case report in South America ». *Arquivos Brasileiros De Oftalmologia* 81 (1): 63-65. <https://doi.org/10.5935/0004-2749.20180014>.

Anglade, Georges, Université Laval (Québec) Centre de recherches caraïbes, et Université Laval (Québec) Groupe d'études et de recherches critiques d'espace. 1982. *Atlas critique d'Haïti*. ERCE & CRC Montréal.

Ansdell, Vernon, Kenton J. Kramer, Jourdan K. McMillan, William L. Gosnell, Gerald S. Murphy, B. C. Meyer, Elizabeth U. Blalock, Johnnie Yates, Louis Lteif, et Olivia A. Smith. 2021. « Guidelines for the diagnosis and treatment of neuroangiostrongyliasis: updated recommendations ». *Parasitology* 148 (2): 227-33.

Ansdell, Vernon, et Yupaporn Wattanagoon. 2018. « *Angiostrongylus cantonensis* in Travelers: Clinical Manifestations, Diagnosis, and Treatment ». *Current Opinion in Infectious Diseases* 31 (5): 399-408. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000481>.

Appleton, C. C., et E. Gouws. 1996. « The Distribution of Common Intestinal Nematodes along an Altitudinal Transect in KwaZulu-Natal, South Africa ». *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 90 (2): 181-88. <https://doi.org/10.1080/00034983.1996.11813042>.

Araújo, José Luiz de B., et Elizabeth Cristina de A. Bessa. 1993. « Moluscos de importância econômica no Brasil: II Subulinidae, *Subulina octona* (Bruguière)(Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora) ». *Revista Brasileira de Zoologia* 10: 489-97.

Archer, Colleen E., Christopher C. Appleton, Samson Mukaratirwa, Jennifer Lamb, et M. Corrie Schoeman. 2017. « Endo-parasites of public-health importance recovered from rodents in the Durban metropolitan area, South Africa ». *Southern African Journal of Infectious Diseases* 32 (2): 57-66. <https://doi.org/10.1080/23120053.2016.1262579>.

Asato, R., K. Taira, M. Nakamura, J. Kudaka, K. Itokazu, et M. Kawanaka. 2004. « Changing epidemiology of *Angiostrongyliasis cantonensis* in Okinawa Prefecture,

Japan ». *Japanese Journal of Infectious Diseases* 57 (4): 184-86.

Ash, L. R. 1968. « The Occurrence of *Angiostrongylus cantonensis* in Frogs of New Caledonia with Observations on Paratenic Hosts of Metastrongyles ». *The Journal of Parasitology* 54 (3): 432-36.

Baermann, G. 1917. « A simple method for the detection of *Ankylostomum* (nematode) larvae in soil tests. » *A simple method for the detection of Ankylostomum (nematode) larvae in soil tests.*, 41-47.

Barratt, Joel, Douglas Chan, Indy Sandaradura, Richard Malik, Derek Spielman, Rogan Lee, Deborah Marriott, John Harkness, John Ellis, et Damien Stark. 2016. « *Angiostrongylus cantonensis*: a review of its distribution, molecular biology and clinical significance as a human pathogen ». *Parasitology* 143 (9): 1087-1118. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000652>.

Barrow, K. O., A. StRose, et J. F. Lindo. 1996. « Eosinophilic meningitis - Is *Angiostrongylus cantonensis* endemic in Jamaica? » *West Indian Medical Journal* 45 (2): 70-71.

Berbigier, P., L. Gruner, M. Mambrini, et S. A. Sophie. 1990. « Faecal Water Content and Egg Survival of Goat Gastro-Intestinal Strongyles under Dry Tropical Conditions in Guadeloupe ». *Parasitology Research* 76 (5): 379-85. <https://doi.org/10.1007/BF00933544>.

Bitters, Matthew E., Jacqui Meyers, Julian Resasco, Stephen D. Sarre, Kika T. Tuff, et Kendi F. Davies. 2022. « Experimental Habitat Fragmentation Disrupts Host–Parasite Interaction over Decades via Life-cycle Bottlenecks ». *Ecology* 103 (9): e3758. <https://doi.org/10.1002/ecy.3758>.

Boffi, Alexandre Valente. 1979. *Moluscos brasileiros de interesse médico e econômico*. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

Bonnell, Tyler R., Ria R. Ghai, Tony L. Goldberg, Raja Sengupta, et Colin A. Chapman. 2016. « Spatial patterns of persistence for environmentally transmitted parasites: Effects of regional climate and local landscape ». *Ecological Modelling* 338: 78-89.

Bowden, Donald K. 1981. « Eosinophilic meningitis in the New Hebrides: two

outbreaks and two deaths. » *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 30 (5): 1141-43.

Bowman, D. D., R. C. Lynn, M. L. Eberhard, et J. R. Georgi. 2003. « *Georgis' Parasitology for Veterinarians*, 8th edn, St ». *Louis, MO.: Saunders Elsevier*.

Brouat, Carine, Mamadou Kane, M. Diouf, Khalilou Ba, R. Sall-Dramé, et Jean-Marc Duplantier. 2007. « Host ecology and variation in helminth community structure in *Mastomys* rodents from Senegal ». *Parasitology* 134 (3): 437-50.

Burt, William Henry. 1943. « Territoriality and home range concepts as applied to mammals ». *Journal of mammalogy* 24 (3): 346-52.

Caldeira, R. L., O. S. Carvalho, Clfg Mendonca, C. Graeff-Teixeira, M. C. F. Silva, R. Ben, R. Maurer, W. S. Lima, et H. L. Lenzi. 2003. « Molecular differentiation of *Angiostrongylus costaricensis*, *A-cantonensis*, and *A-vasorum* by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism ». *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 98 (8): 1039-43. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000800011>.

Castillo, Diane Shiela C., et Vachel Gay V. Paller. 2018. « Occurrence of *Angiostrongylus cantonensis* in rodents from the rice granary of the Philippines and associated risk factors for zoonotic transmission. » *Journal of parasitic diseases : official organ of the Indian Society for Parasitology* 42 (3): 350-56. <https://doi.org/10.1007/s12639-018-1005-z>.

Červená, Barbora, David Modrý, Barbora Fecková, Kristýna Hrazdilová, Pilar Foronda, Aron Martin Alonso, Rogan Lee, et al. 2019. « Low Diversity of *Angiostrongylus Cantonensis* Complete Mitochondrial DNA Sequences from Australia, Hawaii, French Polynesia and the Canary Islands Revealed Using Whole Genome next-Generation Sequencing ». *Parasites & Vectors* 12 (1): 241. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3491-y>.

Chabaud, Alain G. 1955. « Essai d'interprétation phylétique des cycles évolutifs chez les nématodes parasites de vertébrés. Conclusions taxonomiques ». *Annales de Parasitologie humaine et comparee* 30 (1-2): 83-126.

Chen, Daixiong, Yun Zhang, Haoxian Shen, Yongfang Wei, Di Huang, Qiming Tan,

Xianqi Lan, et al. 2011. « Epidemiological survey of *Angiostrongylus cantonensis* in the west-central region of Guangdong Province, China ». *Parasitology Research* 109 (2): 305-14. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2255-1>.

Chen, H.-T. 1935. « Un nouveau nématode pulmonaire, *Pulmonema cantonensis*, ng, n. sp. » *Annales de Parasitologie humaine et comparée* 13 (4): 312-17.

Chen, Rui, QunBo Tong, Yi Zhang, Di Lou, QingMing Kong, Shan Lv, MingMing Zhuo, LiYong Wen, et ShaoHong Lu. 2011. « Loop-mediated isothermal amplification : rapid detection of *Angiostrongylus cantonensis* infection in *Pomacea canaliculata* ». *Parasites & Vectors* 4 (octobre) : 204. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-204>.

Cheng, Tc, et Je Alicata. 1964. « Possible Role of Water in Transmission of *Angiostrongylus Cantonensis* (Nematoda - Metastrongylidae) ». *Journal of Parasitology* 50 (3S) : 39

Chikweto, A., M. I. Bhaiyat, C. N. L. Macpherson, C. DeAllie, R. D. Pinckney, C. Richards, et R. N. Sharma. 2009. « Existence of *Angiostrongylus cantonensis* in rats (*Rattus norvegicus*) in Grenada, West Indies ». *Veterinary Parasitology* 162 (1-2): 160-62. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.02.020>.

Chotmongkol, Verajit, et Kittisak Sawanyawisuth. 2002. « Clinical manifestations and outcome of patients with severe eosinophilic meningoencephalitis presumably caused by *Angiostrongylus cantonensis*. » *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 45: 30-61.

Combes, Claude. 2001. *Parasitism: the ecology and evolution of intimate interactions*. University of Chicago Press.

Companiononi, Ariamys, Jennys Peraza, Zulema Menéndez, Aileen González, Ledy X. López, Ana Elisa Rodríguez, Jorge D. Cantillo, et Fidel A. Núñez. 2019. « Infección por *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) en *Rattus rattus* (Rodentia: Muridae) en una localidad de La Habana, Cuba ». *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 298-307.

Cowie, Robert H. 2013a. « Biology, systematics, life cycle, and distribution of *Angiostrongylus cantonensis*, the cause of rat lungworm disease ». *Hawai'i Journal of*

Medicine & Public Health 72 (6 Suppl 2): 6.

———. 2013b. « Biology, systematics, life cycle, and distribution of *Angiostrongylus cantonensis*, the cause of rat lungworm disease. » *Hawai'i journal of medicine & public health : a journal of Asia Pacific Medicine & Public Health* 72 (6 Suppl 2): 6-9.

Cowie, Robert H., Vernon Ansdell, Claire Panosian Dunavan, et Randi L. Rollins. 2022. « Neuroangiostrongyliasis: Global Spread of an Emerging Tropical Disease. » *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 107 (6): 1166-72. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.22-0360>.

Cowie, Robert H., Richard Malik, et Eric R. Morgan. 2023a. « Comparative biology of parasitic nematodes in the genus *Angiostrongylus* and related genera. » *Advances in Parasitology* 121: 65-197.

———. 2023b. « Comparative Biology of Parasitic Nematodes in the Genus *Angiostrongylus* and Related Genera. » *Advances in Parasitology* 121: 65-197. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2023.05.003>.

Criscuolo, A., et SJBEB BMGE Gribaldo. s. d. « A new software for selection of phylogenetic informative regions from multiple sequence alignments ». *BMC Evol. Biol* 10: 1-21.

Crook, Jr, Se Fulton, et K. Supanwong. 1968. « Ecological Studies on Intermediate and Definitive Hosts of *Angiostrongylus Cantonensis* (chen 1935) in Thailand ». *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 62 (1): 27-+. <https://doi.org/10.1080/00034983.1968.11686526>.

Cross, J. H. 2004. *Itinerant Angiostrongylus (Parastrongylus) cantonensis*. Édité par S. MasComa.

Cucherat, Xavier, et Sylvain Demuynck. 2008. « Les plans d'échantillonnage et les techniques de prélèvements des mollusques continentaux ». *MalaCo* 5: 244-53.

Dard, Celine, Jean-Eudes Piloquet, Yvonne Qvarnstrom, LeAnne M. Fox, Helmi M'kada, Jean-Christophe Hebert, Didier Mattera, et Dorothee Harrois. 2017. « First Evidence of Angiostrongyliasis Caused by *Angiostrongylus cantonensis* in

Guadeloupe, Lesser Antilles ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 96 (3): 692-97. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0792>.

Dard, Celine, Eve Tessier, Duc Nguyen, Loic Epelboin, Dorothee Harrois, Christopher Swale, Andre Cabie, Katia de Meuron, Charline Miossec, et Nicole Desbois-Nogard. 2020. « First cases of *Angiostrongylus cantonensis* infection reported in Martinique, 2002-2017 ». *Parasite* 27 (mai): 31. <https://doi.org/10.1051/parasite/2020032>.

Davis, David E., John T. Emlen, et Allen W. Stokes. 1948. « Studies on home range in the brown rat ». *Journal of Mammalogy* 29 (3): 207-25.

Defo, Antoine L., Noemie Lachaume, Emma Cuadro-Alvarez, Chimene Maniassom, Elise Martin, Falucar Njuieyon, Fanny Henaff, et al. 2018. « *Angiostrongylus Cantonensis* Infection of Central Nervous System, Guiana Shield ». *Emerging Infectious Diseases* 24 (6): 1153-56. <https://doi.org/10.3201/eid2406.180168>.

Delannoye, Régis, L. Charles, J. P. Pointier, et D. Massemin. 2015. « Mollusques continentaux de la Martinique/Non-marine molluscs of Martinique, Lesser Antilles ». *Muséum national d'Histoire naturelle (Paris)*. <https://sciencepress.mnhn.fr/en/collections/inventaires-biodiversite/mollusques-continentaux-de-la-martinique>.

Dobson, A. P. 1988. « The Population Biology of Parasite-Induced Changes in Host Behavior ». *The Quarterly Review of Biology* 63 (2): 139-65. <https://doi.org/10.1086/415837>.

Dobson, Andy, Kevin D. Lafferty, Armand M. Kuris, Ryan F. Hechinger, et Walter Jetz. 2008. « Homage to Linnaeus: How Many Parasites? How Many Hosts? » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (supplement_1): 11482-89. <https://doi.org/10.1073/pnas.0803232105>.

Dorfman, Robert. 1943. « The detection of defective members of large populations ». *The Annals of mathematical statistics* 14 (4): 436-40.

Dorta-Contreras, Alberto J., Barbara Padilla-Docal, Juan M. Moreira, Luigi Martini Robles, Jenny Muzzio Aroca, Fernando Alarcón, et Raisa Bu-Coifui-Fanego. 2011. « Neuroimmunological findings of *Angiostrongylus cantonensis* meningitis in

Ecuadorian patients ». *Arquivos de Neuro-psiquiatria* 69: 466-69.

Durço, Evelyn, Fabíola Matos, Vinícius Pilate, Luana Cortez, Elisabeth de Almeida Bessa, et Lidiane Silva. 2013. « Estudo comportamental comparado entre *Subulina octona* (Brugüière, 1789) e *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835)(Mollusca: Subulinidae) ». *Revista Brasileira de Zoociências* 15 (1, 2, 3). <https://periodicoshomolog.ufjf.br/index.php/zoociencias/article/view/24565>.

Eamsobhana, Praphathip. 2013. « Angiostrongyliasis in Thailand: epidemiology and laboratory investigations. » *Hawai'i journal of medicine & public health : a journal of Asia Pacific Medicine & Public Health* 72 (6 Suppl 2): 28-32.

Eamsobhana, Praphathip, Adisak Yoolek, et Nibhon Kreethapon. 2003. « Blinded multi-laboratory evaluation of an in-house dot-blot ELISA kit for diagnosis of human parastrongyliasis. » *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* 34 (1): 1-6.

El-Amine, Hadi, Ebru K. Bish, et Douglas R. Bish. 2018. « Robust Postdonation Blood Screening Under Prevalence Rate Uncertainty ». *Operations Research* 66 (1): 1-17. <https://doi.org/10.1287/opre.2017.1658>.

Epelboin, Loïc, Renaud Blondé, Abdourahim Chamouine, Alexandra Chrisment, Laure Diancourt, Nicolas Villemant, Agnès Atale, Claire Cadix, Valerie Caro, et Denis Malvy. 2016. « *Angiostrongylus cantonensis* infection on Mayotte Island, Indian Ocean, 2007-2012 ». *PLoS Neglected Tropical Diseases* 10 (5): e0004635.

Estano, Leonardo A., Anna Monica D. Bordado, et Vachel Gay V. Paller. 2021. « *Angiostrongylus cantonensis* infection of non-native rats in Mount Makiling Forest Reserve, the Philippines. » *Parasitology* 148 (2): 143-48. <https://doi.org/10.1017/S0031182020001511>.

Fang, Wenzhen, Jiayu Wang, Jiang Liu, Changmao Xu, Weifeng Cai, et Damin Luo. 2012. « PCR assay for the cell-free copro-DNA detection of *Angiostrongylus cantonensis* in rat faeces ». *Veterinary Parasitology* 183 (3-4): 299-304.

Federspiel, Frederik, Sofie Skovmand, et Sigurdur Skarphedinsson. 2020. « Eosinophilic meningitis due to *Angiostrongylus cantonensis* in Europe ».

Flerlage, Tim, Yvonne Qvarnstrom, John Noh, John P. Devincenzo, Arshia Madni, Bindiya Bagga, et Nicholas D. Hysmith. 2017. « Angiostrongylus cantonensis Eosinophilic Meningitis in an Infant, Tennessee, USA ». *Emerging Infectious Diseases* 23 (10): 1756-58. <https://doi.org/10.3201/eid2310.170978>.

Fontanilla, Ian K. C., et Christopher M. Wade. 2008. « The small subunit (SSU) ribosomal (r) RNA gene as a genetic marker for identifying infective 3rd juvenile stage Angiostrongylus cantonensis ». *Acta Tropica* 105 (2): 181-86. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.10.007>.

Foronda, Pilar, Mercedes López-González, Jordi Miquel, Jordi Torres, Matías Segovia, Néstor Abreu-Acosta, Juan Carlos Casanova, Basilio Valladares, Santiago Mas-Coma, et María Dolores BARGUES. 2010. « Finding of Parastrongylus cantonensis (chen, 1935) in Rattus rattus in tenerife, Canary Islands (Spain) ». *Acta Tropica* 114 (2): 123-27.

Foster, Catherine E., Erin G. Nicholson, Angela C. Chun, Maya Gharfeh, Sara Anvari, Filiz O. Seeborg, Michael A. Lopez, et al. 2016. « Angiostrongylus cantonensis Infection: A Cause of Fever of Unknown Origin in Pediatric Patients ». *Clinical Infectious Diseases* 63 (11): 1475-78. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw606>.

Frainer, André, Brendan G. McKie, Per-Arne Amundsen, Rune Knudsen, et Kevin D. Lafferty. 2018. « Parasitism and the biodiversity-functioning relationship ». *Trends in Ecology & Evolution* 33 (4): 260-68.

Froeschke, Götz, et Sonja Matthee. 2014. « Landscape Characteristics Influence Helminth Infestations in a Peri-Domestic Rodent - Implications for Possible Zoonotic Disease ». *Parasites & Vectors* 7 (1): 393. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-393>.

Gaillard-Pourchet, Gusti-Klara. 1991. « Les ressorts des intérêts français en Haïti dans l'entre-deux-guerres (1918-1941) ». PhD Thesis, Paris 8. <https://www.theses.fr/1991PA080710>.

Galán-Puchades, María Teresa, Mercedes Gómez-Samblás, Antonio Osuna, Sandra Sáez-Durán, Rubén Bueno-Marí, et Màrius V. Fuentes. 2022. « Autochthonous

Angiostrongylus cantonensis lungworms in urban rats, Valencia, Spain, 2021 ». *Emerging Infectious Diseases* 28 (12): 2564.

Galan-Puchades, Maria Teresa, Mercedes Gomez-Samblas, Antonio Osuna, Sandra Saez-Duran, Ruben Bueno-Mari, et Marius V. Fuentes. 2022. « Autochthonous Angiostrongylus Cantonensis Lungworms in Urban Rats, Valencia, Spain, 2021. » *Emerging Infectious Diseases* 28 (12): 2564-67. <https://doi.org/10.3201/eid2812.220418>.

———. 2023. « Update on the First Finding of the Rat Lungworm, Angiostrongylus Cantonensis, in Rattus Spp. in Continental Europe, Valencia, Spain, 2022. » *Pathogens* 12 (4): 567. <https://doi.org/10.3390/pathogens12040567>.

Gamiette, Gelixa, Severine Ferdinand, David Couvin, Celine Dard, et Antoine Talarmin. 2023. « The Recent Introduction of Angiostrongylus Cantonensis and Its Intermediate Host Achatina Fulica into Guadeloupe Detected by Phylogenetic Analyses. » *Parasites & Vectors* 16 (1): 276. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-05872-4>.

Gandon, Sylvain, et Peter A. Van Zandt. 1998. « Local adaptation and host–parasite interactions ». *Trends in Ecology & Evolution* 13 (6): 214-16.

Gasser, Robin B., Neil B. Chilton, Herv Hoste, et Ian Beveridge. 1993. « Rapid sequencing of rDNA from single worms and eggs of parasitic helminths. » *Nucleic acids research* 21 (10): 2525.

Goncalves da Mota, Dan Jesse, Leyva Cecilia Vieira de Melo, Vera Lucia Pereira-Chiocola, Ricardo Gava, et Pedro Luiz Silva Pinto. 2020. « First record of natural infection by Angiostrongylus cantonensis (Nematoda: Metastrongyloidea) in Belocaulus willibaldoi and Rattus norvegicus in an urban area of Sao Paulo city, SP, Brazil ». *Heliyon* 6 (10): e05150. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05150>.

Gonzalvez, Moises, et Rocio Ruiz de Ybanez. 2022. « What Do We Know about Angiostrongylus Cantonensis in Spain? Current Knowledge and Future Perspectives in a Globalized World ». *Transboundary and Emerging Diseases* 69: 3115-20. <https://doi.org/10.1111/tbed.14393>.

Graeff-Teixeira, C., et P. Morera. 1995. « Método de digestão de moluscos em ácido clorídrico para isolamento de larvas de metastrongilídeos ». *Biociências* 3 (1): 85-89.

Graeff-Teixeira, Carlos, Ana Cristina Aramburu da Silva, et Kentaro Yoshimura. 2009. « Update on Eosinophilic Meningoencephalitis and Its Clinical Relevance ». *Clinical Microbiology Reviews* 22 (2): 322-+. <https://doi.org/10.1128/CMR.00044-08>.

Graeff-Teixeira, Carlos, Kittisak Sawanyawisuth, Shan Lv, William Sears, Zhaily González Rodríguez, Hilda Hernández Álvarez, Pedro Casanova Arias, Leticia Karolini Walger Schultz, Alicia Rojas, et John Jacob. 2023. « Neuroangiostrongyliasis: Updated Provisional Guidelines for Diagnosis and Case Definitions ». *Pathogens* 12 (4): 624.

Graham, A. J., F. M. Danson, P. Giraudoux, et P. S. Craig. 2004. « Ecological epidemiology: landscape metrics and human alveolar echinococcosis ». *Acta tropica* 91 (3): 267-78.

Hardy, A. R., R. J. Quy, et L. W. Huson. 1983a. « Estimation of age in the Norway rat (*Rattus norvegicus* Berkenhout) from the weight of the eyelens ». *Journal of Applied Ecology*, 97-102.

———. 1983b. « Estimation of age in the Norway rat (*Rattus norvegicus* Berkenhout) from the weight of the eyelens ». *Journal of Applied Ecology*, 97-102.

Herawati, Nur'Aini. 2020. « Prevalence of Infection of Endoparasites and Its Intensity in Small Mammals' Liver Captured from Irrigated Rice Crop Area and Villages ». In *5th Universitas Ahmad Dahlan Public Health Conference (UPHEC 2019)*, 141-47. Atlantis Press. <https://www.atlantis-press.com/proceedings/uphec-19/125937143>.

Herbreteau, V., S. Jittapalapong, W. Rerkamnuaychoke, Y. Chaval, J. F. Cosson, et S. Morand. 2011. « Protocols for field and laboratory rodent studies. 2011 ». *CERoPath project*.

Herbreteau, Vincent, Sathaporn Jittapalapong, Worawut Rerkamnuaychoke, Yannick Chaval, Jean-François Cosson, et Serge Morand. 2011. *Protocols for field and laboratory rodent studies*. Kasetsart University. <https://hal.ird.fr/ird-00714514/>.

Hokan, May, Elke Zimmermann, Ute Radespiel, Bertrand Andriatsitohaina, Solofonirina Rasoloharijaona, et Christina Strube. 2018. « Are Sleeping Site Ecology

and Season Linked to Intestinal Helminth Prevalence and Diversity in Two Sympatric, Nocturnal and Arboreal Primate Hosts (*Lepilemur Edwardsi* and *Avahi Occidentalis*)? » *BMC Ecology* 18 (1): 22. <https://doi.org/10.1186/s12898-018-0178-8>.

Hollingsworth, Robert G., Rachel Kaneta, Fames F. Sullivan, Henry S. Bishop, Yvonne Qvarnstrom, Alexandre J. da Silva, et David G. Robinson. 2007. « Distribution of *Parmarion cf. martensi* (Pulmonata : Helicarionidae), a new semi-slug pest on Hawai'i Island, and its potential as a vector for human angiostrongyliasis ». *Pacific Science* 61 (4): 457-67. [https://doi.org/10.2984/1534-6188\(2007\)61\[457:DOPCMP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2984/1534-6188(2007)61[457:DOPCMP]2.0.CO;2).

Howe, Kathleen, Lisa Kaluna, Alicia Lozano, Bruce Torres Fischer, Yaeko Tagami, Robert McHugh, et Susan Jarvi. 2019. « Water transmission potential of *Angiostrongylus cantonensis*: Larval viability and effectiveness of rainwater catchment sediment filters ». *Plos One* 14 (4): e0209813. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209813>.

Hu, Qiu-An, Yi Zhang, Yun-Hai Guo, Shan Lv, Shang Xia, He-Xiang Liu, Yuan Fang, et al. 2018. « Small-Scale Spatial Analysis of Intermediate and Definitive Hosts of *Angiostrongylus Cantonensis* ». *Infectious Diseases of Poverty* 7 (1): 100. <https://doi.org/10.1186/s40249-018-0482-8>.

Hudson, P. J., I. M. Cattadori, B. Boag, et Andrew P. Dobson. 2006. « Climate disruption and parasite–host dynamics: patterns and processes associated with warming and the frequency of extreme climatic events ». *Journal of Helminthology* 80 (2): 175-82.

Hudson, Peter J., Andrew P. Dobson, et Kevin D. Lafferty. 2006. « Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? » *Trends in ecology & evolution* 21 (7): 381-85.

Huelsenbeck, John P., et Fredrik Ronquist. 2001. « MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees ». *Bioinformatics* 17 (8): 754-55.

Hughes-Oliver, Jacqueline M. 2006. « Pooling Experiments for Blood Screening and Drug Discovery ». In *Screening*, édité par Angela Dean et Susan Lewis, 48-68. New York, NY: Springer New York. https://doi.org/10.1007/0-387-28014-6_3.

Hugot, Jean-Pierre, Pierre Baujard, et Serge Morand. 2001. « Biodiversity in helminths and nematodes as a field of study: an overview ». *Nematology* 3 (3): 199-208.

Hurd, Hilary. 1990. « Physiological and behavioural interactions between parasites and invertebrate hosts ». *Advances in parasitology* 29: 271-318.

IHSI, Mar. 2015. « Population totale de 18 ans et plus menages et densites estimees en 2015 ». *Institut Haitien de Statistique et D'Informatique*.

Jackson, Laura E., Elizabeth D. Hilborn, et James C. Thomas. 2006. « Towards landscape design guidelines for reducing Lyme disease risk ». *International journal of epidemiology* 35 (2): 315-22.

Jarvi, Susan I., Kirsten Nakayama, Praphathip Eamsobhana, Lisa Kaluna, Laura Shepherd, et Yaeko Tagami. 2023a. « Immunodiagnostic Detection of *Angiostrongylus Cantonensis* Exposure on Hawaii Island Using Isogeographic 31-kDa Antigen. » *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 109 (2): 335-42. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.22-0643>.

———. 2023b. « Immunodiagnostic Detection of *Angiostrongylus cantonensis* Exposure on Hawaii Island Using Isogeographic 31-kDa Antigen. » *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 109 (2): 335-42. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.22-0643>.

Jarvi, Susan I., Stefano Quarta, Steven Jacquier, Kathleen Howe, Deniz Bicakci, Crystal Dasalla, Noelle Lovesy, Kirsten Snook, Robert McHugh, et Chris N. Niebuhr. 2017. « High prevalence of *Angiostrongylus cantonensis* (rat lungworm) on eastern Hawai'i Island: A closer look at life cycle traits and patterns of infection in wild rats (*Rattus* spp.) ». *Plos One* 12 (12): e0189458. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189458>.

Jarvi, Susan, et Paul Prociv. 2021. « *Angiostrongylus cantonensis* and neuroangiostrongyliasis (rat lungworm disease): 2020. » *Parasitology* 148 (2): 129-32. <https://doi.org/10.1017/S003118202000236X>.

Jiang, Jianlin, Kerri A. Alderisio, Ajaib Singh, et Lihua Xiao. 2005. « Development of Procedures for Direct Extraction of *Cryptosporidium* DNA from Water Concentrates and for Relief of PCR Inhibitors ». *Applied and Environmental Microbiology* 71 (3): 1135-41. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.3.1135-1141.2005>.

Jones, Kate E., Nikkita G. Patel, Marc A. Levy, Adam Storeygard, Deborah Balk, John L. Gittleman, et Peter Daszak. 2008. « Global trends in emerging infectious diseases ». *Nature* 451 (7181): 990-93.

Juříčková, Lucie. 2006. « *Subulina octona* (Bruguière, 1798)—a new greenhouse species for the Czech Republic (Mollusca: Gastropoda: Subulinidae) ». *Malacologica Bohemoslovaca* 5: 1-2.

Katoh, Kazutaka, et Daron M. Standley. 2013. « MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability ». *Molecular biology and evolution* 30 (4): 772-80.

Kenyon, F., N. D. Sargison, P. J. Skuce, et F. Jackson. 2009. « Sheep helminth parasitic disease in south eastern Scotland arising as a possible consequence of climate change ». *Veterinary parasitology* 163 (4): 293-97.

Kiene, Frederik, Bertrand Andriatsitohaina, Malcolm S. Ramsay, Romule Rakotondravony, Christina Strube, et Ute Radespiel. 2021. « Habitat Fragmentation and Vegetation Structure Impact Gastrointestinal Parasites of Small Mammalian Hosts in Madagascar ». *Ecology and Evolution* 11 (11): 6766-88. <https://doi.org/10.1002/ece3.7526>.

Kim, Jaynee R., Kenneth A. Hayes, Norine W. Yeung, et Robert H. Cowie. 2014. « Diverse Gastropod Hosts of *Angiostrongylus cantonensis*, the Rat Lungworm, Globally and with a Focus on the Hawaiian Islands ». *Plos One* 9 (5): e94969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094969>.

Kim, Jaynee R., Tamara M. Wong, Patrick A. Curry, Norine W. Yeung, Kenneth A. Hayes, et Robert H. Cowie. 2019. « Modelling the distribution in Hawaii of *Angiostrongylus cantonensis* (rat lungworm) in its gastropod hosts ». *Parasitology* 146 (1): 42-49.

Kjellander, P., A. J. M. Hewison, O. Liberg, J.-M. Angibault, E. Bideau, et B. Cargnelutti. 2004. « Experimental evidence for density-dependence of home-range size in roe deer (*Capreolus capreolus* L.): a comparison of two long-term studies ». *Oecologia* 139 (3): 478-85. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1529-z>

Kutz, S.J, E.P Hoberg, L Polley, et E.J Jenkins. 2005. « Global Warming Is Changing the Dynamics of Arctic Host–Parasite Systems ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272 (1581): 2571-76. <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3285>.

Lafferty, Kevin D., et Jenny C. Shaw. 2013. « Comparing mechanisms of host manipulation across host and parasite taxa ». *Journal of Experimental Biology* 216 (1): 56-66.

Langford, Gabriel J., et John Janovy. 2016. « Ecological Factors Responsible for the Geographic Distribution of *Rhabdias Joaquinensis*: Where Do Lungworms Infect Anurans in Nature? » *Parasitology Research* 115 (3): 1305-13. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4867-3>.

Larsen, M. N., et A. Roepstorff. 1999. « Seasonal variation in development and survival of *Ascaris suum* and *Trichuris suis* eggs on pastures ». *Parasitology* 119 (2): 209-20.

Leahy, W. M. 1981. « Aspectos adaptativos de *Bradybaena similares* Ferrussac, 1821 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata) submetido ao jejum e desecacao ». In . <https://www.semanticscholar.org/paper/Aspectos-adaptativos-de-Bradybaena-similares-1821-e-Leahy/f9f0a0dc8cc08688fb9702abaf02e98f403ac606>.

Lemoine, Frédéric, Damien Correia, Vincent Lefort, Olivia Doppelt-Azeroual, Fabien Mareuil, Sarah Cohen-Boulakia, et Olivier Gascuel. 2019. « NGPhylogeny. fr: new generation phylogenetic services for non-specialists ». *Nucleic acids research* 47 (W1): W260-65.

Lim, Bl. 1967. « Occurrence of *Angiostrongylus Cantonensis* in Rats Around Kuching Sarawak ». *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 61 (4): 429-. <https://doi.org/10.1080/00034983.1967.11686510>.

Lima, Ana Rosa Melo Correa, Solange Dornelas Mesquita, Silvana Sobreira Santos, Eduardo Raniere Pessoa de Aquino, Luana da Rocha Samico Rosa, Fábio Souza Duarte, Alessandra Oliveira Teixeira, Zenize Rocha da Silva Costa, et Maria Lúcia Brito Ferreira. 2009. « Alicate disease: neuroinfestation by *Angiostrongylus cantonensis* in Recife, Pernambuco, Brazil ». *Arquivos de Neuro-psiquiatria* 67: 1093-96.

Lindo, J. F., C. Waugh, J. Hall, C. Cunningham-Myrie, D. Ashley, M. L. Eberhard, J. J. Sullivan, et al. 2002. « Enzootic *Angiostrongylus cantonensis* in rats and snails after

an outbreak of human eosinophilic meningitis, Jamaica ». *Emerging Infectious Diseases* 8 (3): 324-26. <https://doi.org/10.3201/eid0803.010316>.

Liu, Chun-Yan, Hui-Qun Song, Ren-Li Zhang, Mu-Xin Chen, Min-Jun Xu, Lin Ai, Xiao-Guang Chen, et al. 2011. « Specific detection of *Angiostrongylus cantonensis* in the snail *Achatina fulica* using a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay ». *Molecular and Cellular Probes* 25 (4): 164-67. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2011.04.002>.

Luo, Wei-Ting, Ching-Hao Hsu, Roy Chen-Chih Wu, et Hsin-Pai Chen. 2023. « Molecular Diagnosis of Severe *Angiostrongylus Cantonensis*-Induced Eosinophilic Meningitis: A Case Report Emphasizing the Need for Accurate Detection Methods. » *The American Journal of Case Reports* 24 (décembre): e941925. <https://doi.org/10.12659/AJCR.941925>.

Luong, Lien T., Daniel A. Grear, et Peter J. Hudson. 2014. « Manipulation of host-resource dynamics impacts transmission of trophic parasites ». *International Journal for Parasitology* 44 (10): 737-42.

Lv, Shan, Yi Zhang, He-Xiang Liu, Ling Hu, Kun Yang, Peter Steinmann, Zhao Chen, Li-Ying Wang, Juerg Utzinger, et Xiao-Nong Zhou. 2009. « Invasive Snails and an Emerging Infectious Disease: Results from the First National Survey on *Angiostrongylus cantonensis* in China ». *Plos Neglected Tropical Diseases* 3 (2): e368. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000368>.

Lv, Shan, Xiao-Nong Zhou, et Jason R. Andrews. 2017. « Eosinophilic Meningitis Caused by *Angiostrongylus Cantonensis* ». *ACS Chemical Neuroscience* 8 (9): 1815-16. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.7b00233>.

Mace, G. M., P. H. Harvey, et T. H. Clutton Brock. 1983. « Vertebrate home range size and energetic requirements. In 'The ecology of animal movement'. (Eds IR Swingland, PJ Greenwood) pp. 32–53 ». Clarendon Press: Oxford, UK.

Mackerras, Mj, et Df Sandars. 1954. « Life-History of the Rat Lung-Worm and Its Migration Through the Brain of Its Host ». *Nature* 173 (4411): 956-57. <https://doi.org/10.1038/173956a0>.

Maldonado Junior, Arnaldo, Raquel O. Simoes, Ana Paula M. Oliveira, Esther M.

Motta, Monica A. Fernandez, Zilene M. Pereira, Simone S. Monteiro, Eduardo J. Lopes Torres, et Silvana Carvalho Thiengo. 2010. « First report of *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) in *Achatina fulica* (Mollusca: Gastropoda) from Southeast and South Brazil ». *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 105 (7): 938-41. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762010000700019>.

Maleewong, W., P. Sombatsawat, P. M. Intapan, C. Wongkham, et V. Chotmongkol. 2001. « Immunoblot evaluation of the specificity of the 29-kDa antigen from young adult female worms *Angiostrongylus cantonensis* for immunodiagnosis of human angiostrongyliasis ». *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology* 19 (4): 267-73.

Marcogliese, D. J. 2002. « Food webs and the transmission of parasites to marine fish ». *Parasitology* 124 (7): 83-99.

Martin-Alonso, Aaron, Pilar Foronda, Maria Antonieta Quispe-Ricalde, Carlos Feliu, et Basilio Valladares. 2011. « Seroprevalence of *Angiostrongylus cantonensis* in Wild Rodents from the Canary Islands ». *Plos One* 6 (11): e27747. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027747>.

Martins, Yuri C., Herbert B. Tanowitz, et Kevin R. Kazacos. 2015. « Central nervous system manifestations of *Angiostrongylus cantonensis* infection ». *Acta Tropica* 141 (janvier): 46-53. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.10.002>.

Mas-Coma, S., M. A. Valero, et M. D. Bargues. 2008. « Effects of climate change on animal and zoonotic helminthiasis ». *Rev Sci Tech* 27 (2): 443-57.

Mbaye, P. S., B. Wade, et F. Klotz. 2003. « *Ascaris* et ascaridiose ». *Encycl Méd Chir*.

McBride, Angela, Tran Thi Hong Chau, Nguyen Thi Thu Hong, Nguyen Thi Hoang Mai, Nguyen To Anh, Tran Tan Thanh, Tran Thi Hue Van, Le Thi Xuan, Tran Phu Manh Sieu, et Le Hong Thai. 2017. « *Angiostrongylus cantonensis* is an important cause of eosinophilic meningitis in Southern Vietnam ». *Clinical infectious diseases* 64 (12): 1784-87.

McGinnis, Stephanie, et Billie L. Kerans. 2013. « Land Use and Host Community Characteristics as Predictors of Disease Risk ». *Landscape Ecology* 28 (1): 29-44. <https://doi.org/10.1007/s10980-012-9810-8>.

Mitani, Tomoaki, Atsushi Akane, Takuma Tokiyasu, Sumitaka Yoshimura, Yutaka Okii, et Manabu Yoshida. 2009. « Identification of animal species using the partial sequences in the mitochondrial 16S rRNA gene ». *Legal medicine* 11: S449-50.

Molnár, Péter K., Andrew P. Dobson, et Susan J. Kutz. 2013. « Gimme Shelter – the Relative Sensitivity of Parasitic Nematodes with Direct and Indirect Life Cycles to Climate Change ». *Global Change Biology* 19 (11): 3291-3305. <https://doi.org/10.1111/gcb.12303>.

Moné, Hélène, Gabriel Mouahid, et Serge Morand. 1999. « The distribution of *Schistosoma bovis* Sonsino, 1876 in relation to intermediate host mollusc–parasite relationships ». *Advances in parasitology* 44: 99-138.

Monte, Taina C. C., Rosana Gentile, Juberlan Garcia, Ester Mota, Jeannie N. Santos, et Arnaldo Maldonado Junior. 2014. « Brazilian *Angiostrongylus cantonensis* haplotypes, ac8 and ac9, have two different biological and morphological profiles ». *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 109 (8): 1057-63. <https://doi.org/10.1590/0074-0276130378>.

Morand, Serge, et Claire Lajaunie. 2021. « Outbreaks of vector-borne and zoonotic diseases are associated with changes in forest cover and oil palm expansion at global scale ». *Frontiers in veterinary science* 8: 230.

Moreira, V. L. C., E. G. Giese, F. T. V. Melo, R. O. Simoes, S. C. Thiengo, A. Maldonado, et J. N. Santos. 2013. « Endemic angiostrongyliasis in the Brazilian Amazon: Natural parasitism of *Angiostrongylus cantonensis* in *Rattus rattus* and *R. norvegicus*, and sympatric giant African land snails, *Achatina fulica* ». *Acta Tropica* 125 (1): 90-97. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.10.001>.

Morera, Pedro. 1973. « Life history and redescription of *Angiostrongylus costa-ricensis* Morera and Céspedes, 1971. ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 22 (5): 613-21.

Mørk, Torill, Rolf A. Ims, et Siw T. Killengreen. 2019. « Rodent population cycle as a determinant of gastrointestinal nematode abundance in a low-arctic population of the red fox ». *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 9: 36-41.

Morley, Neil J. 2022. « Vertebrates as uninfected disseminators of helminth eggs and

larvae ». *Advances in Parasitology* 115: 45-170.

Morris, P. 1972. « A Review of Mammalian Age Determination Methods ». *Mammal Review* 2 (3): 69-104. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.1972.tb00160.x>.

Murphy, Gerald S., et Stuart Johnson. 2013. « Clinical aspects of eosinophilic meningitis and meningoencephalitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*, the rat lungworm ». *Hawai'i Journal of Medicine & Public Health* 72 (6 Suppl 2): 35.

Murray, Kris A., et Peter Daszak. 2013. « Human ecology in pathogenic landscapes: two hypotheses on how land use change drives viral emergence ». *Current opinion in virology* 3 (1): 79-83.

New, D., Md Little, et J. Cross. 1995. « *Angiostrongylus-Cantonensis* Infection from Eating Raw Snails ». *New England Journal of Medicine* 332 (16): 1105-6. <https://doi.org/10.1056/NEJM199504203321619>.

Newton, L. A., N. B. Chilton, I. Beveridge, Herve Hoste, P. Nansen, et R. B. Gasser. 1998. « Genetic markers for strongylid nematodes of livestock defined by PCR-based restriction analysis of spacer rDNA ». *Acta Tropica* 69 (1): 1-15.

Nguyen, Ngoc T., Hrayr Aprahamian, Ebru K. Bish, et Douglas R. Bish. 2019. « A Methodology for Deriving the Sensitivity of Pooled Testing, Based on Viral Load Progression and Pooling Dilution ». *Journal of Translational Medicine* 17 (1): 252. <https://doi.org/10.1186/s12967-019-1992-2>.

Nguyen, Yann, Benjamin Rossi, Nicolas Argy, Catherine Baker, Beatrice Nickel, Hanspeter Marti, Virginie Zarrouk, Sandrine Houze, Bruno Fantin, et Agnes Lefort. 2017. « Autochthonous case of eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*, France, 2016 ». *Emerging Infectious Diseases* 23 (6): 1045.

Nicolas, M., J. M. Perez, et B. Carne. 2006. « Diagnostic des parasitoses intestinales au CHU de la Guadeloupe: évolution de 1991 à 2003 ». *Bulletin de la Société de pathologie exotique* 99 (4): 254-57.

Noda, S., R. Uchikawa, S. Matayoshi, Y. Watanabe, et A. Sato. 1987. « Observations on the transmission of *Angiostrongylus cantonensis* from snail to rodent ». *Journal of Helminthology* 61 (3): 241-46. <https://doi.org/10.1017/S0022149X00010099>.

Okano, Tsukasa, Atsushi Haga, Eriko Mizuno, Manabu Onuma, Yumiko Nakaya, et Takashi Nagamine. 2014. « *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Metastrongylidae) in the Ryukyu Islands Tree Rat (*Diplothrix legata*) ». *Journal of Wildlife Diseases* 50 (2): 322-25. <https://doi.org/10.7589/2013-03-050>.

Page, L. Kristen, Robert K. Swihart, et Kevin R. Kazacos. 2001. « Changes in Transmission of *Baylisascaris Procyonis* to Intermediate Hosts as a Function of Spatial Scale ». *Oikos* 93 (2): 213-20. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2001.930205.x>.

Paredes-Esquivel, Claudia, Pilar Foronda, Claire Panosian Dunavan, et Robert H. Cowie. 2023. « Neuroangiostrongyliasis: Rat Lungworm Invades Europe. » *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 108 (4): 857-58. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.22-0782>.

Paredes-Esquivel, Claudia, Jessica Sola, Sofia Delgado-Serra, Miguel Puig Riera, Nieves Negre, Miguel Angel Miranda, et Jose A. Jurado-Rivera. 2019. « *Angiostrongylus cantonensis* in North African hedgehogs as vertebrate hosts, Mallorca, Spain, October 2018 ». *Eurosurveillance* 24 (33): 2-6. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.33.1900489>.

Pascual, J. E., Roberto Planas Bouli, et Hector Aguiar. 1981. « Eosinophilic meningoencephalitis in Cuba, caused by *Angiostrongylus cantonensis*. » *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 30 (5): 960-62.

Poulin, R., B. R. Krasnov, et S. Morand. 2006. « Micromammals and macroparasites ». *From Evolutionary Ecology to Management*.

Poulin, Robert. 2007. *Evolutionary Ecology of Parasites: Second Edition*. Princeton University Press. <https://doi.org/10.1515/9781400840809>.

Poulin, Robert, et Serge Morand. 2000. « The Diversity of Parasites ». *The Quarterly Review of Biology* 75 (3): 277-93. <https://doi.org/10.1086/393500>.

———. 2005. *Parasite biodiversity*. Smithsonian Institution. [https://books.google.com/books?hl=fr&lr=&id=z8JvDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR7&dq=Poulin+R,+Morand+S+\(2004\)+Parasite+Biodiversity.+Smithsonian,+Washington,+D.C.&ots=hXQrXlkrTG&sig=rL8hEEEmCWbJ4a8H-024LTrQWYHE](https://books.google.com/books?hl=fr&lr=&id=z8JvDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR7&dq=Poulin+R,+Morand+S+(2004)+Parasite+Biodiversity.+Smithsonian,+Washington,+D.C.&ots=hXQrXlkrTG&sig=rL8hEEEmCWbJ4a8H-024LTrQWYHE).

Prociv, Paul. 2019. « Need for Critical Rethinking in Clinical Approaches to Neuroangiostrongyliasis ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 101 (4): 951-951. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0546a>.

Punyagupta, S., P. Juttijudata, et T. Bunnag. 1975. « Eosinophilic Meningitis in Thailand - Clinical Studies of 484 Typical Cases Probably Caused by *Angiostrongylus Cantonensis* ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 24 (6): 921-31. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1975.24.921>.

Qvarnstrom, Yvonne, Ana Cristina Aramburu da Silva, John L. Teem, Robert Hollingsworth, Henry Bishop, Carlos Graeff-Teixeira, et Alexandre J. da Silva. 2010. « Improved Molecular Detection of *Angiostrongylus cantonensis* in Mollusks and Other Environmental Samples with a Species-Specific Internal Transcribed Spacer 1-Based TaqMan Assay ». *Applied and Environmental Microbiology* 76 (15): 5287-89. <https://doi.org/10.1128/AEM.00546-10>.

Qvarnstrom, Yvonne, Henry S. Bishop, et Alexandre J. da Silva. 2013. « Detection of rat lungworm in intermediate, definitive, and paratenic hosts obtained from environmental sources. » *Hawai'i journal of medicine & public health : a journal of Asia Pacific Medicine & Public Health* 72 (6 Suppl 2): 63-69.

Qvarnstrom, Yvonne, James J. Sullivan, Henry S. Bishop, Robert Hollingsworth, et Alexandre J. da Silva. 2007. « PCR-based detection of *Angiostrongylus cantonensis* in tissue and mucus secretions from molluscan hosts ». *Applied and Environmental Microbiology* 73 (5): 1415-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01968-06>.

Raccurt, C. P., J. Blaise, et M. C. Durette-Desset. 2003. « Presence of *Angiostrongylus cantonensis* in Haiti ». *Tropical Medicine & International Health* 8 (5): 423-26. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2003.01035.x>.

Raccurt, Christian P., Jacques Blaise, et Marie-Claude Durette-Desset. 2003. « Présence d' *Angiostrongylus Cantonensis* En Haïti ». *Tropical Medicine & International Health* 8 (5): 423-26. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2003.01035.x>

Rael, Rosalyn C., Anna C. Peterson, Bruno Gheresi-Chavez, Claudia Riegel, Amy E.

Lesen, et Michael J. Blum. 2018. « Rat Lungworm Infection in Rodents across Post-Katrina New Orleans, Louisiana, USA ». *Emerging Infectious Diseases* 24 (12): 2176-83. <https://doi.org/10.3201/eid2412.180056>.

Risco Barrios, Ubaldo del, et Lorenzo Diéguez Fernández. 2004. « Presencia y distribución de hospederos intermediarios de *angiostrongylus cantonensis* en camaguey. Prevalencia e importancia epidemiológica para su control ». *Revista Archivo Médico de Camagüey* 8 (1): 1-13.

Roberts, Larry S., et John Janovy Jr. 2000. « Gerald D. Schmidt e Larry S. Roberts' foundations of parasitology ». In *Gerald D. Schmidt e Larry S. Roberts' foundations of parasitology*, xviii-670. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-934887>.

Rodpai, Rutchanee, Pewpan M. Intapan, Tongjit Thanchomnang, Oranuch Sanpool, Lakkhana Sadaow, Sakhone Laymanivong, Win Papa Aung, Issarapong Phosuk, Porntip Laummaunwai, et Wanchai Maleewong. 2016. « *Angiostrongylus cantonensis* and *A. malaysiensis* Broadly Overlap in Thailand, Lao PDR, Cambodia and Myanmar: A Molecular Survey of Larvae in Land Snails ». *Plos One* 11 (8): e0161128. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161128>.

Romstad, A., R. B. Gasser, P. Nansen, A. M. Polderman, et N. B. Chilton. 1998. « *Necator americanus* (Nematoda: Ancylostomatidae) from Africa and Malaysia have different ITS-2 rDNA sequences ». *International Journal for Parasitology* 28 (4): 611-15.

Safi, Kamran, Barbara König, et Gerald Kerth. 2007. « Sex differences in population genetics, home range size and habitat use of the parti-colored bat (*Vespertilio murinus*, Linnaeus 1758) in Switzerland and their consequences for conservation ». *Biological Conservation* 137 (1): 28-36.

Sakanari, J A, et J H McKerrow. 1989. « Anisakiasis ». *Clinical Microbiology Reviews* 2 (3): 278-84. <https://doi.org/10.1128/CMR.2.3.278>.

Sawanyawisuth, Kittisak. 2010. « Drug target in eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*. » *Infectious Disorders Drug Targets* 10 (5): 322-28.

Schmutzhard, E., P. Boongird, et A. Vejjajiva. 1988. « Eosinophilic Meningitis and Radiculomyelitis in Thailand, Caused by Cns Invasion of *Gnathostoma-Spinigerum*

and *Angiostrongylus-Cantonensis* ». *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 51 (1): 80-87. <https://doi.org/10.1136/jnnp.51.1.80>.

Sears, William J., Yvonne Qvarnstrom, Eric Dahlstrom, Kirsten Snook, Lisa Kaluna, Vojtech Balaz, Barbora Feckova, et al. 2020. « AcanR3990 qPCR: a novel, highly sensitive, bioinformatically-informed assay to detect *Angiostrongylus cantonensis* infections. » *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, novembre. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1791>.

Sears, William J., Yvonne Qvarnstrom, et Thomas B. Nutman. 2021. « RPAcan3990: An Ultrasensitive Recombinase Polymerase Assay To Detect *Angiostrongylus Cantonensis* DNA ». *Journal of Clinical Microbiology* 59 (9): e01185-21. <https://doi.org/10.1128/JCM.01185-21>.

Sikes, Robert S., Animal Care, et Use Committee of the American Society of Mammalogists. 2016. « 2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education ». *Journal of mammalogy* 97 (3): 663-88.

Sikes, Robert S., William L. Gannon, Animal Care, et Use Committee of the American Society of Mammalogists. 2011. « Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research ». *Journal of mammalogy* 92 (1): 235-53.

Simoës, Raquel O., Arnaldo Maldonado Junior, Natalie Olifiers, Juberlan S. Garcia, Ana Valeria F. A. Bertolino, et Jose L. Luque. 2014. « A longitudinal study of *Angiostrongylus cantonensis* in an urban population of *Rattus norvegicus* in Brazil: the influences of seasonality and host features on the pattern of infection ». *Parasites & Vectors* 7 (mars). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-100>.

Sinawat, Suthasinee, Thawinee Trisakul, Stephanie Choi, Michael Morley, Supat Sinawat, et Yosanan Yospaiboon. 2019. « Ocular *Angiostrongyliasis* in Thailand: A Retrospective Analysis over Two Decades ». *Clinical Ophthalmology* Volume 13 (juin): 1027-31. <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S204380>.

Sloan, Sean, Patrick Meyfroidt, Thomas K. Rudel, Frans Bongers, et Robin Chazdon. 2019. « The forest transformation: Planted tree cover and regional dynamics of tree

gains and losses ». *Global Environmental Change* 59: 101988.

Stearns, Stephen C., et Dieter Ebert. 2001. « Evolution in Health and Disease: Work in Progress ». *The Quarterly Review of Biology* 76 (4): 417-32. <https://doi.org/10.1086/420539>.

Tanikawa, Tsutomu. 1993a. « An eye-lens weight curve for determining age in black rats, *Rattus rattus* ». *Journal of the Mammalogical Society of Japan* 18 (1): 49-51.

———. 1993b. « An eye-lens weight curve for determining age in black rats, *Rattus rattus* ». *Journal of the Mammalogical Society of Japan* 18 (1): 49-51.

Théodat, Jean-Marie. 1998. « Haïti-Quisqueya: une double insularité ». *Mappemonde* 51 (3): 7-11.

Tian, Xia, Shen Chen, Lei Duan, Yingjun Qian, Hongmei Li, et Shan Lv. 2023. « The Global Spread Pattern of Rat Lungworm Based on Mitochondrial Genetics. » *Pathogens* 12 (6): 788. <https://doi.org/10.3390/pathogens12060788>.

Tiwari, Uma Sharan, Ankita Aishwarya, Shashi Gandhi, et Priya Sisodia. 2019. « *Angiostrongylus cantonensis* in anterior chamber ». *Indian Journal of Ophthalmology* 67 (1): 158-60. https://doi.org/10.4103/ijo.IJO_843_18.

TO, Contract No HHS A29020050035I. 2010. « Registries for Evaluating Patient Outcomes: A User's Guide Second Edition ». https://www.researchgate.net/profile/Richard-Gliklich/publication/256913032_Gliklich_RE_Dreyer_NA_ed_Registries_for_Evaluating_Patient_Outcomes_A_User's_Guide_2nd_edPrepared_by_Outcome

Todaka, Takafumi, Yusuke Oshiro, et Takashi Shinzato. 2020. « A case of human angiostrongyliasis manifesting as eosinophilic meningitis in Okinawa, Japan ». *Parasitology International* 77 (août): 102124. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102124>.

Tsai, H. C., Y. C. Liu, C. M. Kunin, P. H. Lai, S. S. J. Lee, Y. S. Chen, S. R. Wann, et al. 2003. « Eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis* associated with eating raw snails: Correlation of brain magnetic resonance imaging scans with clinical findings ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 68 (3): 281-85.

<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2003.68.281>.

Tujan, Ma Angelica A., Ian Kendrich C. Fontanilla, et Vachel Gay V. Paller. 2016. « Vectors and Spatial Patterns of *Angiostrongylus cantonensis* in Selected Rice-Farming Villages of Munoz, Nueva Ecija, Philippines. » *Journal of parasitology research* 2016: 3085639-3085639. <https://doi.org/10.1155/2016/3085639>.

Turck, Helena C., Mark T. Fox, et Robert H. Cowie. 2022. « Paratenic Hosts of *Angiostrongylus Cantonensis* and Their Relation to Human Neuroangiostrongyliasis Globally. » *One Health* 15 (décembre): 100426. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2022.100426>.

Ubelaker, John E. 1986. « Systematics of species referred to the genus *Angiostrongylus* ». *The Journal of parasitology*, 237-44.

Valente, Romina, Maria del Rosario Robles, Graciela T. Navone, et Julia I. Diaz. 2018. « *Angiostrongylus* spp. in the Americas: geographical and chronological distribution of definitive hosts versus disease reports ». *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 113 (3): 143-52. <https://doi.org/10.1590/0074-02760170226>.

Valtonen, E. T., David J. Marcogliese, et Markku Julkunen. 2010. « Vertebrate Diets Derived from Trophically Transmitted Fish Parasites in the Bothnian Bay ». *Oecologia* 162 (1): 139-52. <https://doi.org/10.1007/s00442-009-1451-5>.

Vargas, M., J. D. Gomez Perez, et E. A. Malek. 1992. « First Record of *Angiostrongylus Cantonensis* (Chen, 1935) (Nematoda: Metastrongylidae) in the Dominican Republic ». *Tropical Medicine and Parasitology: Official Organ of Deutsche Tropenmedizinische Gesellschaft and of Deutsche Gesellschaft Fur Technische Zusammenarbeit (GTZ)* 43 (4): 253-55.

Vargas, M., Jdg Perez, et Ea Malek. 1992. « 1st Record of *Angiostrongylus-Cantonensis* (chen, 1935) (nematoda, Metastrongylidae) in the Dominican-Republic ». *Tropical Medicine and Parasitology* 43 (4): 253-55.

Wallace, Gd, et L. Rosen. 1965. « Studies on Eosinophilic Meningitis .1. Observations on the Geographic-Distribution of *Angiostrongylus-Cantonensis* in the Pacific Area and Its Prevalence in Wild Rats ». *American Journal of Epidemiology* 81 (1): 52-62.

<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a120497>.

———. 1969. « Studies on Eosinophilic Meningitis .v. Molluscan Hosts of *Angiostrongylus Cantonensis* on Pacific Islands ». *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 18 (2): 206-. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1969.18.206>.

Waller, P. J., L. Rudby-Martin, B. L. Ljungström, et A. Rydzik. 2004. « The epidemiology of abomasal nematodes of sheep in Sweden, with particular reference to over-winter survival strategies ». *Veterinary parasitology* 122 (3): 207-20.

Wang, Jing, Haiyu Qi, Zongli Diao, Xiaoyan Zheng, Xiaoli Li, Suxia Ma, Aiping Ji, et Chenghong Yin. 2010. « An outbreak of angiostrongyliasis cantonensis in Beijing ». *Journal of Parasitology* 96 (2): 377-81.

Wang, Min, et Shan Lv. 2014. « [Substitution saturation analysis of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit 1 (COX1) gene of *Angiostrongylus cantonensis*]. » *Zhongguo ji sheng chong xue yu ji sheng chong bing za zhi = Chinese journal of parasitology & parasitic diseases* 32 (3): 205-9.

Wang, Qiao-Ping, De-Hua Lai, Xing-Quan Zhu, Xiao-Guang Chen, et Zhao-Rong Lun. 2008. « Human angiostrongyliasis ». *Lancet Infectious Diseases* 8 (10): 621-30. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70229-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70229-9).

Wang, Q.-P., Z.-D. Wu, J. Wei, R. L. Owen, et Z.-R. Lun. 2012. « Human *Angiostrongylus cantonensis*: an update ». *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 31 (4): 389-95. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1328-5>.

Waugh, C. A., J. F. Lindo, J. Lorenzo-Morales, et R. D. Robinson. 2016. « An epidemiological study of *A. cantonensis* in Jamaica subsequent to an outbreak of human cases of eosinophilic meningitis in 2000 ». *Parasitology* 143 (9): 1211-17. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000640>.

WHO, Geneva. 1979. « Parasitic zoonoses. Report of a WHO Expert Committee with the participation of FAO, Geneva, 14-20 November 1978 ».

Williams, Christopher J., et Christine M. Moffitt. 2001. « A Critique of Methods of Sampling and Reporting Pathogens in Populations of Fish ». *Journal of Aquatic Animal Health* 13 (4): 300-309. <https://doi.org/10.1577/1548->

8667(2001)013<0300:ACOMOS>2.0.CO;2.

Woolhouse, Mark EJ, et Sonya Gowtage-Sequeria. 2005. « Host range and emerging and reemerging pathogens ». *Emerging infectious diseases* 11 (12): 1842.

Yang, Leeyounjera, Chirapha Darasavath, Ko Chang, Vilayvanh Vilay, Amphonesavanh Sengduangphachanh, Aphaphone Adsamouth, Manivanh Vongsouvath, Valy Keolouangkhot, et Matthew T. Robinson. 2021. « Cluster of angiostrongyliasis cases following consumption of raw monitor lizard in the Lao People's Democratic Republic and review of the literature ». *Tropical Medicine and Infectious Disease* 6 (3): 107.

Ye, Caixia, Lianhua Zhang, Lili Tang, Yongjun Duan, Ji Liu, et Hongli Zhou. 2023. « Host Genetic Backgrounds: The Key to Determining Parasite-Host Adaptation ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 13 (août): 1228206. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1228206>.

York, Emily M., James P. Creecy, Wayne D. Lord, et William Caire. 2015. « Geographic range expansion for rat lungworm in North America ». *Emerging infectious diseases* 21 (7): 1234.

Zhao, Y., T. Li, et Y. Guo. 2023. « Progress of researches on techniques for detection of *Angiostrongylus cantonensis* in intermediate host snails ». *Chinese Journal of Schistosomiasis Control* 35 (3): 313-16. <https://doi.org/10.16250/j.32.1374.2022260>.

F. Annexes Photos



Conception et réalisation des pièges



Déploiement des pièges. Pièges appâtés avec « Chico » et salami.





Anesthésie des rats et dissection au laboratoire de terrain.



Collecte de gastéropodes



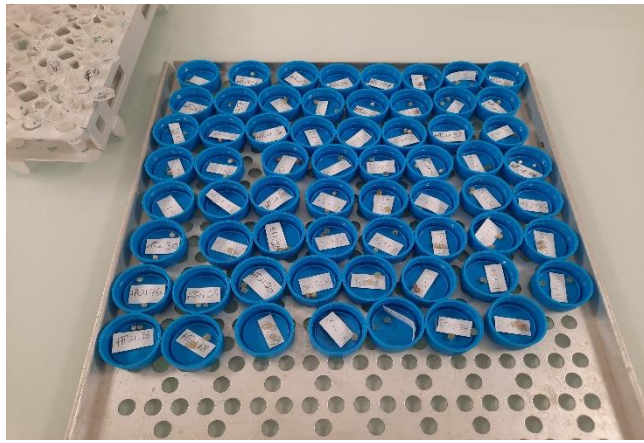


Rencontres avec les résidents pour expliquer notre projet. Et découpage des morceaux de moquettes par un résident.



On lève le camp !
(le labo). Au revoir et merci !





Diagnosics des organes à Chrono-environnement. Séchage des cristallins. Extraction ADN.

